

Mekanisme Molekuler Immunomodulasi oleh Huangqi (*Astragali Radix*) Menggunakan Sistem Farmakologi Jejaring (Molecular Mechanisms of Network Pharmacology-Based Immunomodulation of Huangqi (*Astragali Radix*))

RAYMOND RUBIANTO TJANDRAWINATA^{1*}, ANINDINI WINDA AMALIA², HARTATI TUNA²,
VIEDYA NOVALINDA SAIDI², SANTI TAN³

¹Fakultas Bioteknologi, Universitas Katolik Indonesia Atma Jaya, Jakarta Selatan, DKI Jakarta,
12930, Indonesia

²D4 Pengobatan Tradisional Tiongkok/Fakultas Kesehatan Institut Ilmu Kesehatan Bhakti Wiyata,
Kediri, Jawa Timur, 64114, Indonesia

³Dexa Laboratories of Biomolecular Sciences, Dexa Group, Tangerang Selatan, Banten, 15220,
Indonesia

Diterima 27 Juli 2022, Disetujui 26 Oktober 2022

Abstrak: *Astragali Radix* (*Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. var. *mongholicus* (Bge.) Hsiao, juga dikenal sebagai Huangqi) telah digunakan untuk meningkatkan stamina dan sistem kekebalan selama ribuan tahun, tetapi komponen bioaktif dan mekanismenya yang tidak jelas sangat membatasi aplikasi klinisnya. Dalam penelitian ini, untuk pertama kalinya, farmakologi jejaring digunakan untuk menginvestigasi mekanisme molekuler Huangqi beserta komponen bioaktifnya yang berperan penting pada peningkatan sistem imun. Sejumlah 1.430 protein target terkait imunomodulasi dikumpulkan dari basis data genom manusia, dengan 171 protein target terkait Huangqi dikumpulkan dari 20 komponen bioaktifnya, menghasilkan 60 protein target yang beririsan. Selanjutnya, analisis pengayaan untuk jejaring target umum dan jejaring interaksi protein-protein (PPI) dilakukan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa Huangqi memengaruhi modulasi limfosit (sel B dan sel T), sel pembunuh alami, makrofag, sitokin, imunoglobulin, dan transduksi sinyal imun. Dalam batas tertentu, penelitian ini mengungkapkan komponen bioaktif potensial dan mekanisme farmakologis Huangqi pada imunomodulasi, dan memberikan arah untuk pengembangan obat baru untuk pengobatan defisiensi sistem kekebalan tubuh.

Kata kunci: *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. var. *mongholicus* (Bge.) Hsiao, farmakologi jejaring, Huangqi, imunomodulasi

Abstract: *Astragali Radix* (*Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. var. *mongholicus* (Bge.) Hsiao, also known as Huangqi) has been used to improve stamina and immunity for thousands of years. However, the bioactive components and their mechanisms are still unclear, limiting its clinical application. In this research, for the first time, network pharmacology was used to investigate the molecular mechanisms of Huangqi and its bioactive components that play an important role in improving the immune system. An amount of 1,430 immunomodulation-related target proteins was collected from the human genome database, with 171 target proteins from 20 bioactive components, and resulted in 60 intersection target proteins. Subsequently, the networks of common target and protein-protein interaction (PPI) were analyzed. The results showed that Huangqi influenced the modulations of lymphocytes (B cells and T cells), natural killer cells, macrophages, cytokines, immunoglobulins, and immune signal transduction. To a certain limit, this study revealed the potential bioactive components and pharmacological mechanisms of Huangqi in immunomodulation. It was able to direct novel drug development for treating immune system deficiency.

Keywords: *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. var. *mongholicus* (Bge.) Hsiao, Huangqi, immunomodulation, network pharmacology

*Penulis korespondensi
e-mail: raytjan@yahoo.com

PENDAHULUAN

RESPON imun merupakan mekanisme pertahanan diri penting yang dapat melindungi tubuh dari berbagai infeksi patogen. Respon imun meliputi imunitas bawaan dan adaptif. Respon imun bawaan terjadi segera ketika agen infeksi menginfeksi tubuh secara eksternal, sedangkan respon imun adaptif menyebabkan pembentukan memori imunologi yang memungkinkan respon yang lebih cepat dan lebih efektif pada paparan patogen yang sama berikutnya^(1,2). Abnormalitas atau disfungsi sistem imun dapat menyebabkan respon imun yang tidak terduga dalam kasus hipersensitivitas atau autoimunitas, serta defisiensi imun. Selain itu, malnutrisi atau penuaan kekebalan menghasilkan respon kekebalan yang tidak efektif. Imunitas mungkin terganggu oleh patogen tertentu, seperti virus SARS-CoV-2, virus HIV, atau pada pasien yang menderita immunosupresi pada stadium lanjut dari beberapa penyakit kronis^(1,3).

Salah satu herba yang diketahui memberikan aktivitas farmakologis imunomodulasi adalah Huangqi (nama botani: *Astragalus Radix*; nama latin: *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. var. *mongholicus* (Bge.) Hsiao atau *A. membranaceus* (Fisch.) Bge.). Huangqi (Gambar 1) pertama kali ditulis dalam Klasik Materia Medica Qin atau Dinasti Han karya Shennong (221 SM-220 M)⁽⁴⁾. Sebagai salah satu ramuan obat Cina yang paling terkenal, Huangqi memiliki aktivitas terapeutik yang beragam, termasuk: efek anti-kanker, anti-virus dan imunomodulator⁽⁵⁾. Dalam praktik klinik Pengobatan Tradisional Tiongkok (PTT), Huangqi adalah salah satu herba penting dan umum digunakan untuk memperkuat *Qi*, zat yang membentuk tubuh manusia dan mempertahankan aktivitas kehidupan manusia, dan untuk mempromosikan *Yang*, kekuatan pendorong metabolisme dan fisiologis fungsi tubuh manusia⁽⁶⁾. Fungsi-fungsi tersebut dianggap sebagai aplikasi dari aktivitas imunoregulasi herba ini⁽⁷⁾. Huangqi juga merupakan tonik yang terkenal yang dapat digunakan oleh orang usia lanjut yang merasa lemah, pasien yang menderita penyakit kronis dengan peradangan tingkat rendah, dan orang-orang yang stres kerjanya memengaruhi kesehatan mereka secara negatif⁽⁸⁾.



(A)

(B)

Gambar 1. Huangqi (A) tanaman dan bunga⁽²⁷⁾ (B) irisan akar⁽²⁸⁾.

Polisakarida yang terkandung dalam Huangqi tidak hanya meningkatkan fungsi organ dan sel kekebalan tetapi juga merangsang pelepasan sitokin, memengaruhi jejaring sistem saraf-endokrin-kekebalan, serta mempromosikan ekspresi gen-gen terkait. Huangqi dapat meningkatkan fungsi kekebalan tubuh dengan meningkatkan berat organ kekebalan tubuh. Telah dilaporkan bahwa pemberian Huangqi (220 mg/kg) dalam pakan secara signifikan dapat meningkatkan bobot relatif organ imun, serta jumlah *Lactobacillus* dan *Bacillus cereus* dalam mikrobiota usus⁽⁹⁾. Selanjutnya, Huangqi dapat meningkatkan bobot timus dan limpa, serta jumlah makrofag peritoneum⁽¹⁰⁾, dan meningkatkan fungsi makrofag. Selain itu, ada penelitian yang menunjukkan bahwa Huangqi dapat digunakan sebagai imunomodulator vaksin. Pada dosis 5, 10, dan 20 mg/kg, Huangqi secara nyata dapat meningkatkan titer antibodi spesifik virus penyakit mulut dan kuku (FMDV) dengan cara yang bergantung pada dosis dan meningkatkan regulasi ekspresi mRNA interferon (IFN)- γ dan IL-6. Hal ini menunjukkan bahwa polisakarida yang terkandung dalam Huangqi dapat melindungi terhadap FMDV⁽¹¹⁾. Selain polisakarida, efek imunomodulator Huangqi juga terkait erat dengan komponen lainnya seperti saponin dan flavonoid⁽¹²⁾. Singkatnya, Huangqi dapat digunakan sebagai imunopotensiator yang dapat memengaruhi sistem kekebalan non-spesifik dan spesifik.

Dengan demikian banyak bukti yang menunjukkan bahwa Huangqi memiliki ruang penelitian yang luas sebagai pengobatan ajuvan penyakit terkait sistem imun, yang dapat menjadi titik terobosan untuk meningkatkan nilai aplikasi herba yang sangat berguna secara terapeutik ini. Namun, walaupun ada banyak data yang menunjukkan penggunaan Huangqi sebagai imunomodulator, sampai saat ini belum ada penelitian yang menggambarkan bagaimana mekanisme kerja Huangqi secara molekuler dan komponen bioaktif apa saja yang memainkan peran penting dalam memodulasi sistem imun. Penelitian ini menggunakan pendekatan farmakologi jejaring^(13,14) untuk mengungkapkan secara komprehensif bagaimana mekanisme kerja Huangqi terhadap ekspresi gen-gen imunomodulasi beserta komponen bioaktifnya.

BAHAN DAN METODE

BAHAN. Komponen Huangqi (*A. membranaceus* (Fisch.) Bge.) dari *Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Database and Analysis Platform* (TCMSP, <https://old.tcmsp-e.com/tcmsp.php>); protein target terkait Huangqi dari basis data *Similarity Ensemble Approach* (SEA, <https://sea.bkslab.org/>) dan *SwissTargetPrediction platform*

(<http://www.swisstargetprediction.ch/>); dan protein target terkait imunomodulasi dari basis data *Online Mendelian Inheritance in Man* (OMIM, <https://omim.org/>), *GeneCards* (<https://www.genecards.org/>), dan *National Centre for Biotechnology Information Gene* (NCBI *Gene*, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/>)

Alat. Studi mekanisme molekuler Huangqi untuk imunomodulasi dengan pendekatan farmakologi jejaring menggunakan perangkat keras berupa laptop dengan spesifikasi model sistem: Dell dengan *processor Intel(R) Core(TM) i5-10210U CPU @ 1.60GHz 2.11 GHz*; *Random Acces Memory* (RAM) 8 *gigabyte*, *Windows 10*; perangkat lunak yang digunakan adalah *Cytoscape v3.9.1* (<https://cytoscape.org/>), dan basis data yang digunakan meliputi PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>), Uniprot (<https://www.uniprot.org/>), STRING (<https://www.string-db.org/>), Enrichr (<https://amp.pharm.mssm.edu/Enrichr/>), dan *Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes* (KEGG) *PATHWAY* (<https://www.genome.jp/kegg/pathway.html>)⁽¹⁵⁾.

METODE. Pengumpulan dan Penapisan Komponen Bioaktif Huangqi. Komponen Huangqi (*A. membranaceus* (Fisch.) Bge.) diperoleh dari basis data TCMSP dengan menggunakan kata kunci “Huangqi”. Komponen yang memiliki *oral bioavailability* (OB) $\geq 30\%$ dan *drug-likeness* (DL) $\geq 0,18$ dipilih sebagai komponen bioaktif⁽¹⁶⁻¹⁸⁾.

Pengumpulan dan Penapisan Protein Target Terkait Huangqi. Protein target yang terkait dengan komponen bioaktif Huangqi dikumpulkan dari basis data SEA dan *SwissTargetPrediction* dengan memasukkan *canonical SMILES* yang diperoleh dari PubChem untuk masing-masing komponen bioaktif⁽¹⁹⁾. Pengumpulan protein target terbatas pada *Homo sapiens* (manusia) dan *Tanimoto Coefficient* (TC) $\geq 0,5$ ⁽²⁰⁾. Protein target yang dikumpulkan dari kedua basis data digabungkan dan dihapus apabila ada duplikat^(16,17). Kemudian nama protein target distandarisasi sesuai basis data *Uniprot*.

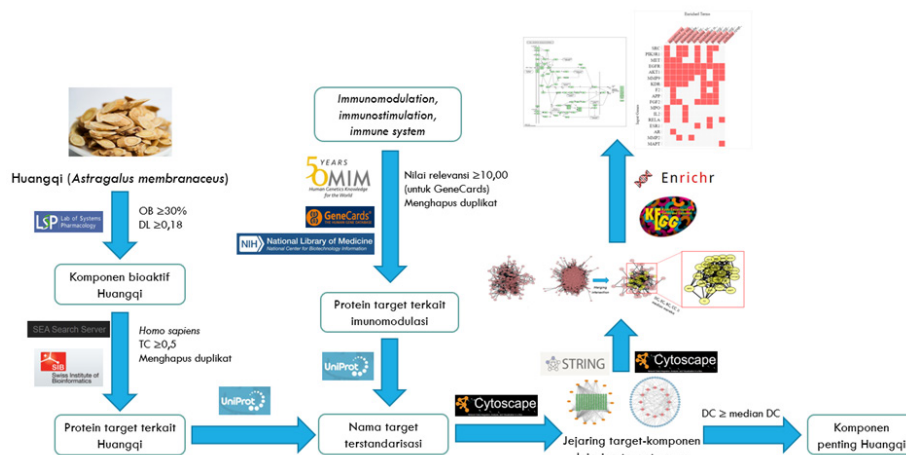
Pengumpulan dan Penapisan Protein Target Terkait Imunomodulasi. Protein target yang terkait dengan aktivitas imunomodulasi diperoleh dengan memasukkan kata kunci “*immunomodulation*”, “*immunostimulation*”, dan “*immune system*” pada basis data OMIM, *GeneCards*, dan NCBI *Gene*^(16,21). Hasil yang diperoleh dari *GeneCards* dibatasi pada target yang memiliki nilai relevansi $\geq 10,00$ ⁽¹⁷⁾. Protein target yang dikumpulkan dari ketiga basis data digabungkan dan dihapus apabila ada duplikat. Kemudian nama protein target distandarisasi sesuai basis data *Uniprot*.

Pembuatan Jejaring Target-Komponen dan Jejaring Target-Umum. Komponen bioaktif dan protein target terkait Huangqi yang dikumpulkan, dibuat menjadi jejaring target-komponen dengan menggunakan *Cytoscape v3.9.1*. Protein target dan komponen bioaktif Huangqi direpresentasikan sebagai “*node*” dan interaksi antara dua protein direpresentasikan sebagai “*edge*”⁽¹⁹⁾. Irisan dari protein target terkait Huangqi dan protein target terkait imunomodulasi dibuat menjadi jejaring target-umum dengan menggunakan *Cytoscape v3.9.1*. Jejaring target-umum yang dihasilkan dapat dianalisis untuk menentukan protein-protein penting dengan menggunakan *CytoNCA*, sebuah *plug-in* dari *Cytoscape* dengan kriteria ‘*degree centrality* (DC) lebih besar atau sama dengan nilai mediannya’. Semakin banyak protein penting yang menjadi target dari suatu komponen, maka komponen tersebut dapat ditetapkan sebagai komponen penting⁽²¹⁾.

Pembuatan Jejaring Interaksi Protein-Protein (PPI Network). Protein target terkait Huangqi dan protein target terkait imunomodulasi masing-masing dibuat menjadi jejaring interaksi protein-protein (*PPI network*) dengan menggunakan basis data STRING. Organisme *Homo sapiens* (manusia) dan *medium confidence* 0,4 ditetapkan sebagai limitasi⁽¹⁸⁾. *PPI network* dari basis data STRING diunduh dalam format *tab-separated value* (TSV) dan divisualisasikan ke dalam *Cytoscape v3.9.1*^(16,17). Kedua *PPI network* digabungkan (*merge*) dalam *Cytoscape* untuk diperoleh irisannya (*intersection*). Kemudian, hasil irisan *PPI network* tersebut dianalisis dengan menggunakan *CytoNCA* untuk memperoleh protein-protein inti (*core protein*). Protein target akan dieliminasi apabila tidak memenuhi kriteria ‘*degree centrality* (DC), *eigenvector centrality* (EC), *betweenness centrality* (BC), dan *closeness centrality* (CC) lebih besar atau sama dengan nilai median mereka masing-masing’. Protein target yang tidak tereliminasi dapat ditetapkan sebagai protein-protein inti⁽²¹⁾.

Analisis Pengayaan. Protein-protein inti terkait Huangqi dan imunomodulasi dianalisis lebih lanjut untuk diperoleh informasi proses biologi, fungsi molekuler, komponen seluler, dan jalur sinyal terkait protein-protein target tersebut dengan menggunakan basis data *Enrichr* dan KEGG *PATHWAY* dengan nilai $P \leq 0,05$ ^(17,18,21,22).

Diagram Desain Uji. Diagram desain uji penelitian ini diringkaskan pada Gambar 2.



Gambar 2. Diagram desain uji.

HASIL DAN PEMBAHASAN

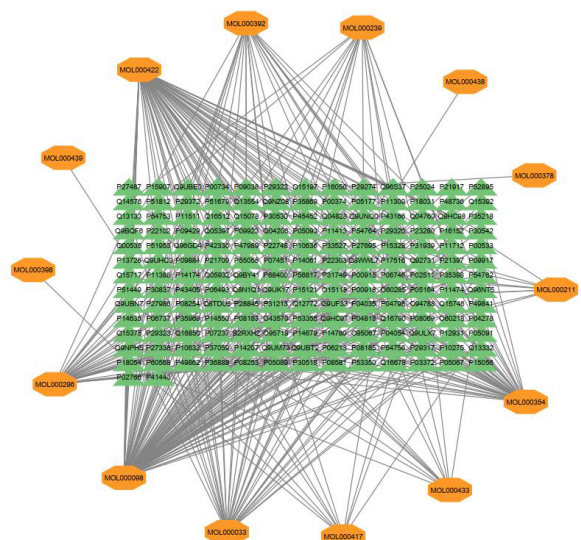
Komponen Bioaktif Huangqi. Sebanyak 87 komponen Huangqi dikumpulkan dari basis data TCMSP, seperti yang ditunjukkan dalam Tabel Suplemen S1. Setelah dilakukan penapisan dengan kriteria $OB \geq 30\%$ dan $DL \geq 0,18$, ada 20 komponen yang dipilih sebagai komponen bioaktif Huangqi, seperti yang ditunjukkan dalam Tabel Suplemen S2.

Protein Target Terkait Huangqi. Dari 20 komponen bioaktif Huangqi, telah berhasil dikumpulkan 346 protein target terkait Huangqi dari dua basis data, yaitu SEA dan *SwissTargetPrediction*. Setelah menghapus duplikat, maka diperoleh 171 protein target, seperti yang ditunjukkan dalam Tabel Suplemen S3a dan S3b.

Protein Target Terkait Imunomodulasi. Dari tiga basis data genom manusia yang digunakan, yaitu OMIM, NCBI *Gene*, dan *GeneCards*, telah berhasil dikumpulkan protein target terkait imunomodulasi masing-masing sebanyak 25, 454, dan 1.182 dengan memasukkan tiga kata kunci, “*immunomodulation*”, “*immunostimulation*”, dan “*immune system*”. Setelah menghapus duplikat, maka diperoleh 1.430 protein target, seperti yang ditunjukkan dalam Tabel Suplemen S4.

Jejaring Target-komponen dan Jejaring Target umum. Dua puluh komponen bioaktif Huangqi dan 171 protein target terkait Huangqi dibuat menjadi jejaring target-komponen dengan menggunakan *Cytoscape* v3.9.1 (lihat Gambar 3). Pada gambar terlihat bahwa dari 20 komponen bioaktif, 14 di antaranya terkait dengan 171 protein target.

Dari 171 protein target terkait Huangqi dan 1.430 protein target terkait imunomodulasi, diperoleh 60 protein target yang menjadi irisan (lihat Tabel Suplemen S5a dan S5b, dan Gambar 4). Pada visual jejaring target-umum terlihat bahwa ada 12 komponen bioaktif Huangqi yang memiliki protein target terkait imunomodulasi. Pada jejaring tersebut terlihat *node*



Gambar 3. Jejaring target-komponen; terdapat 185 nodes dan 344 edges, di mana warna jingga untuk komponen bioaktif Huangqi dan warna hijau untuk protein target terkait Huangqi.

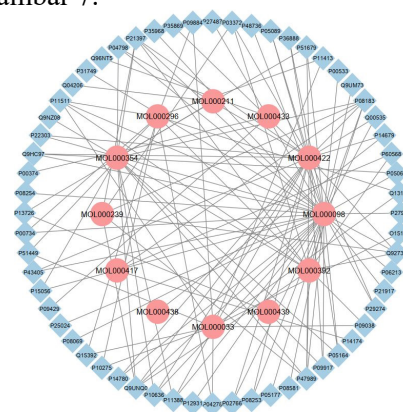
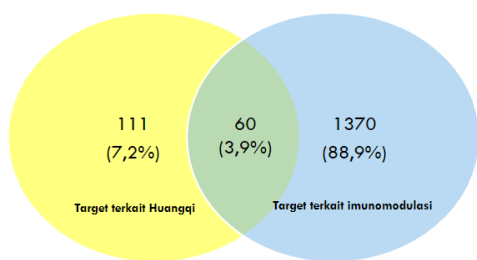
dengan ID MOL000098 (kuersetin) dan MOL000422 (kaempferol) terhubung dengan paling banyak *node*. Selanjutnya, jejaring target-umum dianalisis dengan kriteria ‘*degree centrality* (DC) ≥ 8 ’, menghasilkan dua komponen bioaktif yang ditetapkan sebagai komponen penting, yaitu kuersetin dan kaempferol (lihat Gambar 5).

Jejaring Interaksi Protein-protein (PPI Network). Jejaring interaksi protein-protein target terkait Huangqi dan imunomodulasi dibuat dengan menggunakan basis data STRING dan divisualisasikan dalam *Cytoscape* v3.9.1. Kedua jejaring interaksi protein-protein target digabungkan dan diambil irisannya, menghasilkan 59 protein target terkait Huangqi dan imunomodulasi yang saling berinteraksi. Setelah dianalisis dengan menggunakan *CytoNCA*, sebuah *plugin* dari *Cytoscape* dengan kriteria ‘*degree centrality*

(DC) ≥ 8 , *eigenvector centrality* (EC) $\geq 0,086717136$, *betweenness centrality* (BC) $\geq 14,307937$, dan *closeness centrality* (CC) $\geq 0,47933885$, maka diperoleh 22 protein target inti, seperti yang ditunjukkan pada Tabel Suplemen S6a dan S6b, dan Gambar 6.

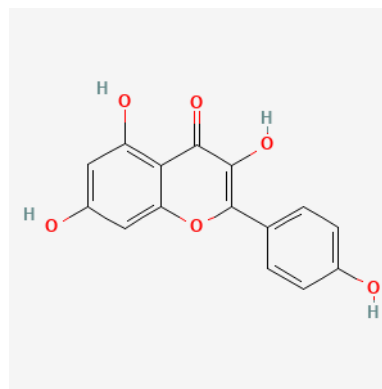
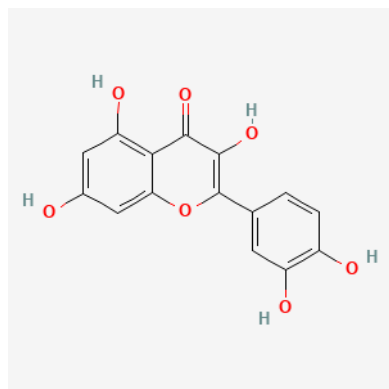
Analisis Pengayaan. Protein target inti sebanyak 22 yang diperoleh dari analisis *CytoNCA*, dianalisis lebih lanjut dengan menggunakan Enrichr untuk melihat proses biologi, fungsi molekuler, komponen

seluler, dan jalur sinyal terkait Huangqi dan imunomodulasi. Hasil analisis pengayaan dengan Enrichr menunjukkan ada 783 proses biologi, 95 fungsi molekuler, 24 komponen seluler, dan 122 jalur sinyal KEGG, seperti yang ditunjukkan masing-masing pada tabel suplemen S7, S8, S9, dan S10. Sepuluh teratas proses biologi, fungsi molekuler, komponen seluler, dan jalur sinyal berdasarkan nilai P, beserta protein target yang terlibat, dapat dilihat masing-masing pada Gambar 7.



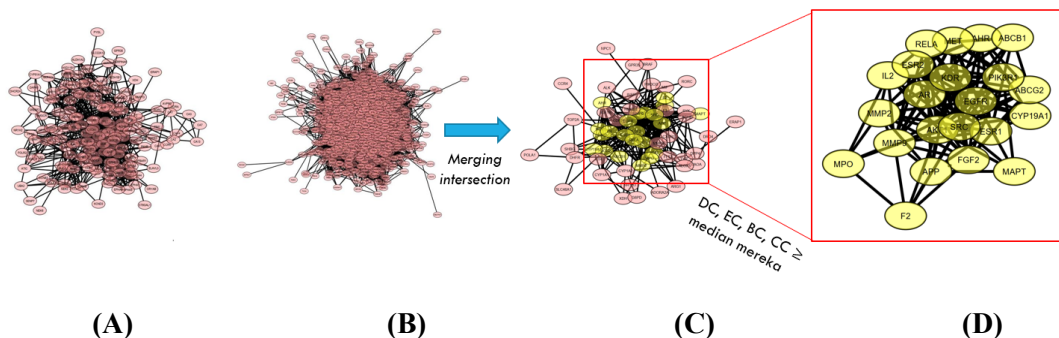
(A) (B)

Gambar 4. Jejaring target umum (A) Diagram Venn 60 protein target terkait Huangqi dan imunomodulasi (B) Visual jejaring target umum; terdapat 72 nodes dan 122 edges, di mana warna biru untuk protein target terkait Huangqi dan warna merah muda untuk komponen bioaktif Huangqi.



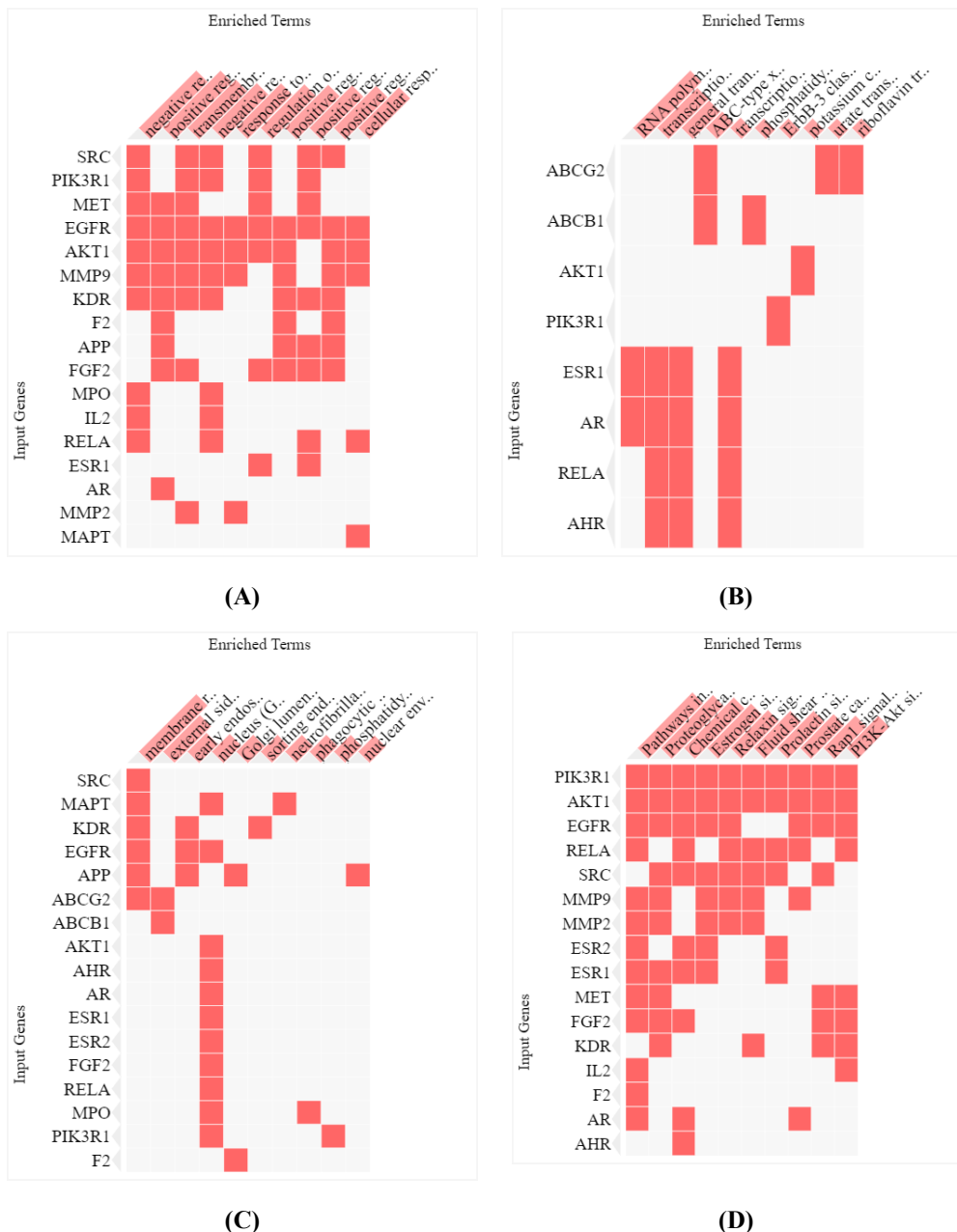
(A) (B)

Gambar 5. Struktur 2D senyawa (sumber: PubChem) (A) Kuersetin (B) Kaempferol.



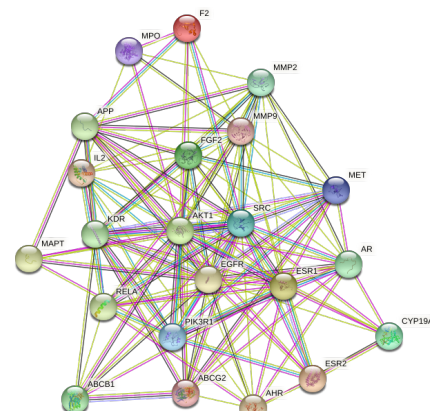
(A) (B) (C) (D)

Gambar 6. Jejaring interaksi protein-protein (A) Jejaring interaksi protein-protein target terkait Huangqi; 165 nodes dan 943 edges (B) Jejaring interaksi protein-protein target terkait imunomodulasi; 1.415 nodes dan 60.090 edges (C) Jejaring interaksi protein-protein irisan; 59 nodes dan 299 edges (D) Jejaring interaksi protein-protein target inti; 22 nodes dan 128 edges.



Gambar 7. Sepuluh teratas proses biologi, fungsi molekuler, komponen seluler, dan jalur sinyal KEGG (berdasarkan nilai P) beserta protein target terkait (A) Proses biologi (B) Fungsi molekuler (C) Komponen seluler (D) Jalur sinyal KEGG.

Studi farmakologi jejaring ini telah berhasil mengidentifikasi dua komponen bioaktif Huangqi (*A. membranaceus* (Fisch.) Bge.), yaitu kuersetin dan kaempferol yang berperan penting dalam aktivitas imunomodulasi. Studi ini juga mengungkapkan 22 protein target yang menjadi target kunci, di mana protein-protein tersebut saling berinteraksi (lihat Gambar 8). Huangqi yang mengandung multikomponen bekerja pada multitarget melalui berbagai mekanisme aksi. Melalui studi farmakologi jejaring ini, mekanisme aksi Huangqi dapat dijabarkan pada tingkat molekuler secara lebih komprehensif dari hulu ke hilir dalam jalur sinyal.



Gambar 8. Jejaring interaksi 22 protein inti dari basis data STRING.

Berdasarkan analisis pengayaan melalui *Enrichr* dan KEGG *PATHWAY*, terlihat bahwa Huangqi terlibat dalam banyak proses biologi dan jalur sinyal terkait modulasi sistem imun, seperti yang ditunjukkan dalam Tabel 1 dan 2. Mekanisme aksi Huangqi dalam memodulasi sistem imun dapat dikelompokkan menjadi dua klasifikasi besar berdasarkan apa yang dipengaruhi, yaitu sel dan molekul imun. Sel imun yang dipengaruhi regulasinya oleh Huangqi, antara lain limfosit (sel B dan sel T), sel pembunuh alami (*natural killer cells/NK cells*), dan makrofag. Menurut hasil analisis dalam studi ini, Huangqi dapat memengaruhi regulasi proliferasi (GO:0030888), diferensiasi (GO:0045579), dan aktivasi (GO:0050864) sel B melalui efeknya pada protein target AHR dan IL2. Huangqi juga berperan dalam memengaruhi regulasi proliferasi (GO:0046006), diferensiasi (GO:0045580), dan migrasi (GO:2000404) sel T melalui protein target APP dan IL2. Regulasi diferensiasi yang dipengaruhi bukan

hanya untuk sel T, tetapi juga untuk sel T pembantu 1 & 2 (T *helper/Th1* & Th2) (KEGG:04658) dan sel Th17 (KEGG:04659). Protein target penting Huangqi, seperti AKT1, PI3KR1, IL2, dan RELA terlibat dalam jalur sinyal reseptor sel B (KEGG:04662) dan sel T (KEGG:04660), seperti yang ditunjukkan pada Gambar 9 dan 10. Secara teoretis, Huangqi berperan dalam memodulasi sistem imun, baik sistem imun bawaan maupun adaptif. Dalam sistem imun bawaan, protein target Huangqi terlibat dalam regulasi respon imun bawaan (GO:0045087), aktivasi sel pembunuh alami (GO:0030101), aktivasi (GO:0042116) dan diferensiasi (GO:0030225) makrofag.

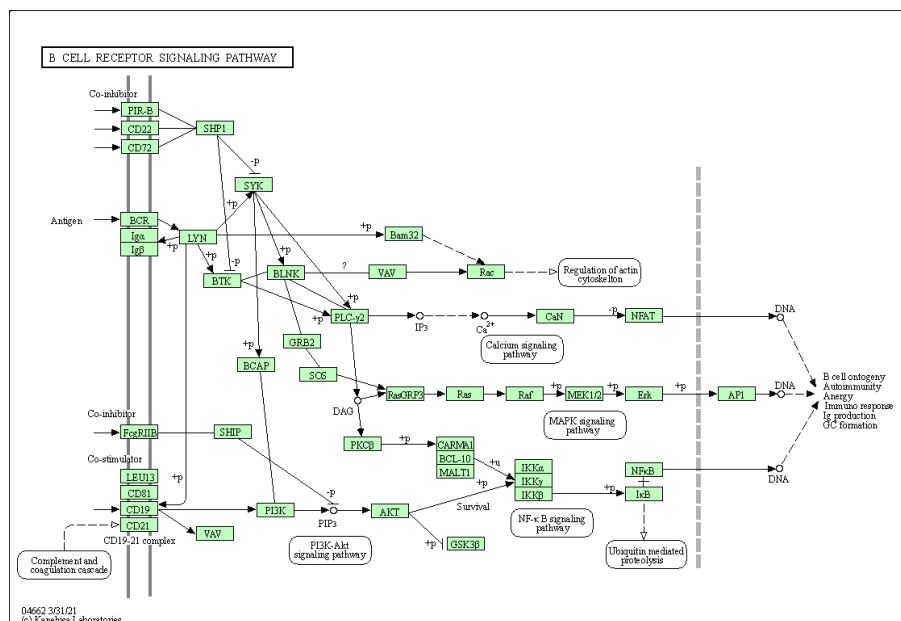
Mekanisme kerja Huangqi terhadap molekul imun dapat dikategorikan ke dalam tiga subklasifikasi, yaitu sitokin, imunoglobulin, dan transduksi sinyal imun. Di bawah kondisi fisiologi normal, Huangqi dapat meningkatkan produksi sitokin dan imunitas⁽²³⁾.

Tabel 1. Proses biologi dan jalur sinyal Huangqi yang memengaruhi sel imun berdasarkan analisis *Enrichr* dan KEGG.

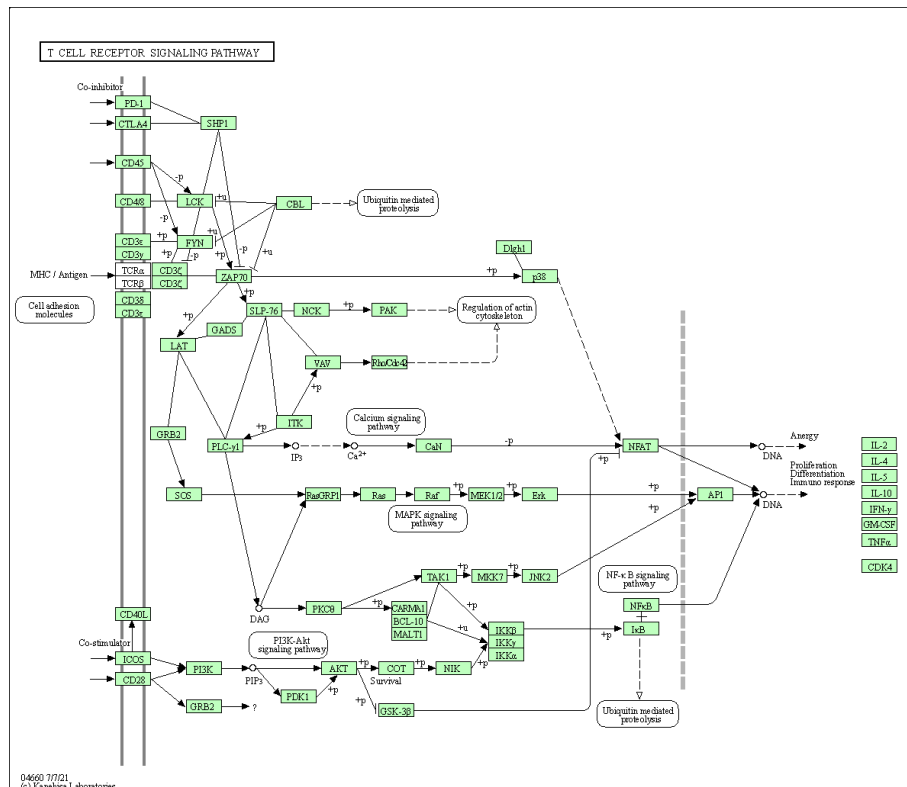
Sel Imun	Istilah	Gen
Sel B (limfosit B)	Regulasi proliferasi sel B (GO:0030888)	AHR, IL2
	Regulasi positif diferensiasi sel B (GO:0045579)	IL2
	Regulasi aktivasi sel B (GO:0050864)	AHR
	Jalur sinyal reseptor sel B (KEGG:04662)	AKT1, PI3KR1, RELA
Sel T (limfosit T)	Homeostasis sel T (GO:0043029)	AKT1
	Jalur sinyal reseptor sel T (GO:0050852)	PIK3R1, RELA
	Regulasi negatif dari imunitas yang dimediasi sel T (GO:0002710)	AHR
	Regulasi migrasi sel T (GO:2000404)	APP
	Regulasi diferensiasi sel T regulator (GO:0045589)	IL2
	Regulasi proliferasi sel T teraktivasi (GO:0046006)	IL2
	Regulasi jalur sinyal reseptor sel T (GO:0050856)	RELA
	Regulasi diferensiasi sel T (GO:0045580)	IL2
	Jalur sinyal reseptor sel T (KEGG:04660)	AKT1, PI3KR1, IL2, RELA
	Diferensiasi sel Th17 (KEGG:04659)	AHR, IL2, RELA
Diferensiasi sel Th1 dan Th2 (KEGG:04658)	IL2, RELA	
Limfosit	Regulasi respons imun adaptif (GO:0002819)	AHR
	Regulasi negatif migrasi limfosit (GO:2000402)	AKT1
	Regulasi positif migrasi limfosit (GO:2000403)	APP
	Regulasi proliferasi limfosit (GO:0050670)	AHR
Sel pembunuh alami dan makrofag	Respons imun bawaan (GO:0045087)	APP, SRC, RELA
	Respons imun bawaan mengaktifkan jalur sinyal reseptor permukaan sel (GO:0002220)	SRC, RELA
	Pembentukan perangkap ekstraseluler neutrofil (KEGG:04613)	SRC, AKT1, PI3KR1, MPO, RELA
	Aktivasi sel pembunuh alami (GO:0030101)	IL2
	Aktivasi makrofag (GO:0042116)	APP, MAPT
	Diferensiasi makrofag (GO:0030225)	MMP9

Tabel 2. Proses biologi dan jalur sinyal Huangqi yang memengaruhi molekul imun berdasarkan analisis Enrich dan KEGG.

Molekul Imun	Istilah	Gen
Sitokin	Jalur sinyal yang dimediasi sitokin (GO:0019221)	SRC, MMP2, AKT1, PIK3R1, MMP9, FGF2, IL2, RELA
	Respons seluler terhadap stimulus sitokin (GO:0071345)	MMP2, AKT1, PIK3R1, MMP9, FGF2, IL2, RELA
	Respons terhadap sitokin (GO:0034097)	APP, SRC, RELA
	Regulasi positif produksi sitokin (GO:0001819)	APP, IL2, RELA
	Respons seluler terhadap interleukin-6 (GO:0071354)	SRC, RELA
	Jalur sinyal yang dimediasi interleukin-6 (GO:0070102)	SRC
	Respons seluler terhadap interleukin-18 (GO:0071351)	AKT1
	Jalur sinyal yang dimediasi interleukin-18 (GO:0035655)	AKT1
	Respons seluler terhadap interleukin-2 (GO:0071352)	IL2
	Jalur sinyal yang dimediasi interleukin-2 (GO:0038110)	IL2
	Regulasi produksi interleukin-17 (GO:0032660)	IL2
	Jalur sinyal IL-17 (KEGG:04657)	MMP9, RELA
	Jalur sinyal <i>tumor necrosis factor</i> (TNF) (KEGG:04668)	AKT1, PI3KR1, MMP9, RELA
	Respons seluler terhadap TNF (GO:0071356)	AKT1, RELA
	Jalur sinyal kemokin (KEGG:04062)	SRC, AKT1, PI3KR1, RELA
	Respons seluler terhadap lektin (GO:1990858)	SRC, RELA
	Jalur sinyal yang dimediasi reseptor antigen (GO:0050851)	PIK3R1, RELA
	Regulasi positif proses efektor imun (GO:0002699)	IL2
	Regulasi positif produksi mediator molekuler respons imun (GO:0002702)	IL2
	Jalur sinyal reseptor lektin tipe-C (KEGG:04625)	SRC, AKT1, PI3KR1, IL2, RELA
Imunoglobulin	Regulasi produksi imunoglobulin (GO:0002637)	IL2
	Fagositosis yang dimediasi reseptor Fc gamma (KEGG:04666)	AKT1, PI3KR1
Transduksi sinyal imun	Jalur sinyal <i>toll-like receptor</i> (TLR) (KEGG:04620)	AKT1, PI3KR1, RELA



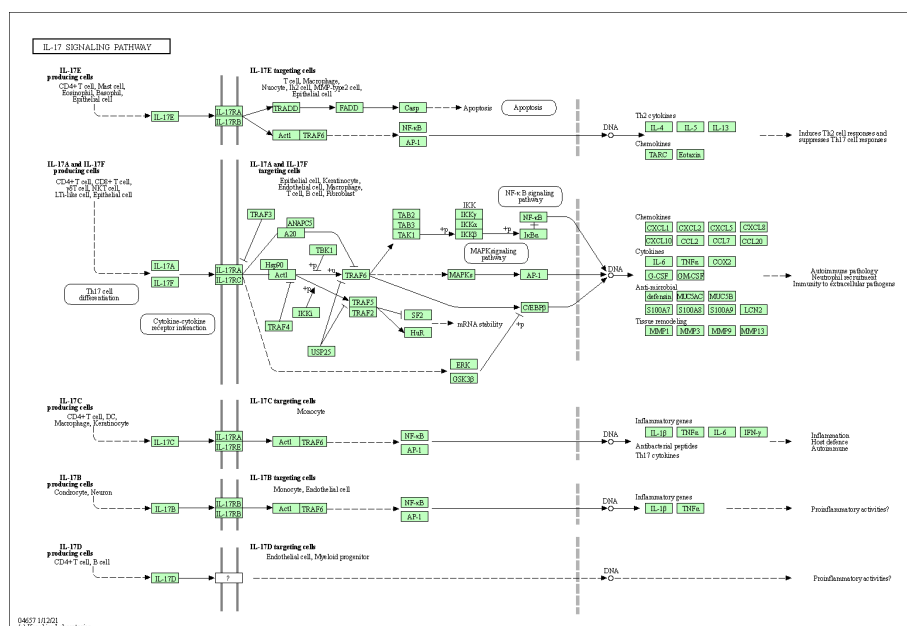
Gambar 9. Jalur sinyal reseptor sel B (KEGG:04662).



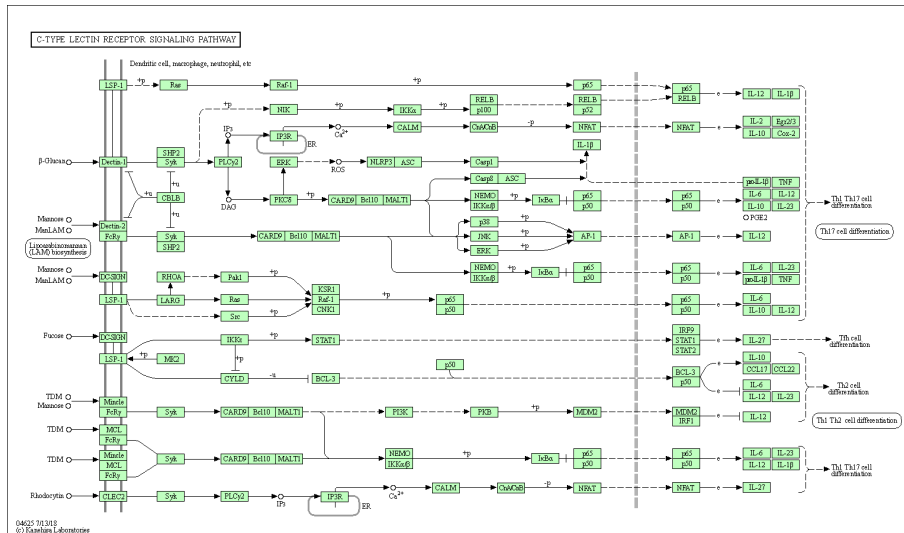
Gambar 10. Jalur sinyal reseptor sel T (KEGG:04660).

Studi ini menunjukkan bahwa Huangqi memengaruhi respon seluler terhadap sitokin (GO:0034097), interleukin-6 (IL-6) (GO:0071354), interleukin-18 (IL-18) (GO:0071351), interleukin-2 (IL-2) (GO:0071352), tumor necrosis factor (TNF) (GO:0071356), dan lektin (GO:1990858). Selain itu, Huangqi juga memengaruhi regulasi produksi sitokin (GO:0001819) dan IL-17 (GO:0032660). Protein target yang berhasil

diidentifikasi dalam studi ini memperlihatkan bahwa Huangqi terlibat dalam jalur sinyal yang dimediasi sitokin (GO:0019221), IL-6 (GO:0070102), IL-18 (GO:0035655), IL-2 (GO:0038110), reseptor antigen (GO:0050851), jalur sinyal IL-17 (KEGG:04657, lihat Gambar 11), TNF (KEGG:04668), kemokin (KEGG:04062), dan reseptor lektin tipe-C (KEGG:04625, lihat Gambar 12).



Gambar 11. Jalur sinyal IL-17 (KEGG:04657).

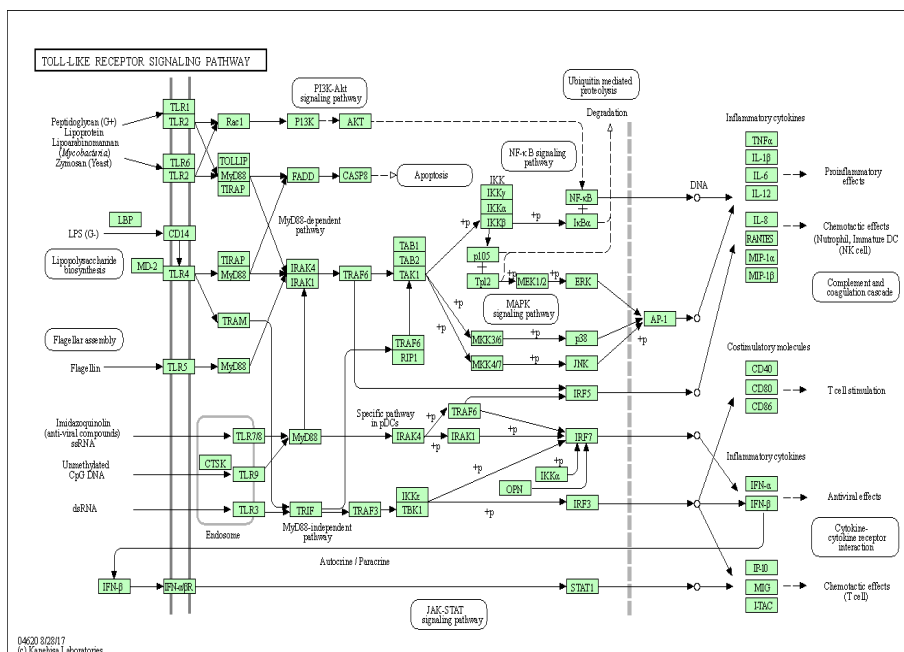


Gambar 12. Jalur sinyal reseptor lektin tipe-C (KEGG:04625).

Selain memodulasi produksi dan sekresi sitokin sebagai akibat dari respon inflamasi, Huangqi juga memengaruhi regulasi produksi imunoglobulin (Ig) (GO:0002637) dan fagositosis yang dimediasi reseptor *Fc gamma* (KEGG:04666). Dalam proses modulasi imun, transduser sinyal intraseluler dan jalur sinyal imun memainkan peran kunci. Studi ini menunjukkan bahwa protein target terkait Huangqi terlibat juga dalam jalur sinyal *toll-like receptor* (TLR) (KEGG:04620, lihat Gambar 13). Pengenalan patogen oleh TLR memicu aktivasi cepat imunitas bawaan dengan menginduksi produksi sitokin proinflamasi dan peningkatan regulasi molekul kostimulatori, di mana molekul kostimulatori bekerja untuk memperkuat atau melawan sinyal pengaktif awal yang diberikan ke

sel T dari reseptor sel T setelah interaksinya dengan antigen/kompleks histokompatibilitas utama (*major histocompatibility complex* atau MHC), sehingga memengaruhi diferensiasi dan nasib sel T⁽²⁴⁾.

Hasil studi ini menegaskan studi-studi sebelumnya yang menyebutkan bahwa Huangqi dapat sangat memengaruhi sistem kekebalan tubuh melalui berbagai mekanisme aksi^(25,26). Dengan melakukan studi farmakologi jejaring ini, dapat terlihat bahwa protein target terkait Huangqi terlibat dalam banyak proses biologi dan jalur sinyal regulasi di sistem imun. Oleh karena itu, dapat disimpulkan bahwa Huangqi sangat berpotensi untuk dieksplorasi dan dikembangkan lebih lanjut sebagai agen imunomodulasi yang menjanjikan^(25,26).



Gambar 13. Jalur sinyal *toll-like receptor* (TLR) (KEGG:04620).

SIMPULAN

Studi farmakologi jejaring terhadap aktivitas imunomodulasi Huangqi untuk pertama kalinya dilakukan. Hasil studi ini menunjukkan bahwa protein target terkait Huangqi terlibat dalam banyak proses biologi dan jalur sinyal regulasi di sistem imun, baik di tingkat sel maupun molekul imun. Huangqi terlihat dapat memengaruhi modulasi limfosit (sel B dan sel T), sel pembunuh alami (*natural killer cells/NK cells*), makrofag, sitokin, imunoglobulin, dan transduksi sinyal imun. Dari banyak komponen yang dimiliki oleh Huangqi, kuersetin dan kaempferol diduga memiliki peran penting sebagai imunomodulator. Oleh karena itu, dapat disimpulkan bahwa Huangqi sangat berpotensi untuk dieksplorasi dan dikembangkan lebih lanjut sebagai agen imunomodulasi yang menjanjikan. Studi *in vitro* dan *in vivo* dapat dilakukan untuk membuktikan secara empiris aktivitas imunomodulasi Huangqi, terutama kandungan kuersetin dan kaempferol yang memainkan peran kunci, seperti yang diprediksikan dalam studi farmakologi jejaring ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Schultze JL, Aschenbrenner AC. COVID-19 and the human innate immune system. *Cell*. 2021 Apr 1;184(7):1671–92.
- Mak T, Saunders M, Jett B. Primer to the immune response - 2nd edition [Internet]. 2013 [cited 2022 Oct 24]. Available from: <https://www.elsevier.com/books/primer-to-the-immune-response/mak/978-0-12-385245-8>
- Lesourd B. Nutritional factors and immunological ageing. *Proceedings of the Nutrition Society*. 2006 Aug;65(3):319–25.
- Fu J, Wang Z, Huang L, Zheng S, Wang D, Chen S, et al. Review of the botanical characteristics, phytochemistry, and pharmacology of *Astragalus membranaceus* (Huangqi). *Phytotherapy Research*. 2014;28(9):1275–83.
- Zhang N, Li J, Hu Y, Cheng G, Zhu X, Liu F, et al. Effects of *Astragalus polysaccharide* on the immune response to foot-and-mouth disease vaccine in mice. *Carbohydrate Polymers*. 2010 Oct 15;82(3):680–6.
- Wang J, Jia J, Song L, Gong X, Xu J, Yang M, et al. Extraction, structure, and pharmacological activities of *Astragalus polysaccharides*. *Applied Sciences*. 2019 Jan;9(1):122.
- Cho WCS, Leung KN. In vitro and in vivo immunomodulating and immunorestorative effects of *Astragalus membranaceus*. *Journal of Ethnopharmacology*. 2007 Aug 15;113(1):132–41.
- Wu X, Wang S, Lu J, Jing Y, Li M, Cao J, et al. Seeing the unseen of Chinese herbal medicine processing (Paozhi): advances in new perspectives. *Chin Med*. 2018 Jan 17;13:4.
- Li SP, Zhao XJ, Wang JY. Synergy of *Astragalus polysaccharides* and probiotics (*Lactobacillus* and *Bacillus cereus*) on immunity and intestinal microbiota in chicks. *Poultry Science*. 2009 Mar 1;88(3):519–25.
- Shan Jj, Wang Y, Weng Y q, Xie CY, Liu D, Hu ZB. Comparing compositions and immunoactivities of polysaccharide in hair root of *Astragalus membranaceus* and cultivated *A. membranaceus*. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*. 2002;33(12):1096–8.
- Li J, Zhong Y, Li H, Zhang N, Ma W, Cheng G, et al. Enhancement of *Astragalus polysaccharide* on the immune responses in pigs inoculated with foot-and-mouth disease virus vaccine. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2011 Oct 1;49(3):362–8.
- Chen Z, Liu L, Gao C, Chen W, Vong CT, Yao P, et al. *Astragali Radix* (Huangqi): a promising edible immunomodulatory herbal medicine. *Journal of Ethnopharmacology*. 2020 Aug 10;258:112895.
- Berger SI, Iyengar R. Network analyses in systems pharmacology. *Bioinformatics*. 2009 Oct 1;25(19):2466–72.
- Jin J, Chen B, Zhan X, Zhou Z, Liu H, Dong Y. Network pharmacology and molecular docking study on the mechanism of colorectal cancer treatment using Xiao-Chai-Hu-Tang. *PLOS ONE*. 2021 Jun 14;16(6):e0252508.
- Ruswanto R, Rahayuningsih N, Hidayati NLD, Nuryani GS, Mardianingrum R. Uji *in vitro* dan studi *in silico* senyawa turunan *n*'-benzoylisonicotinohydrazide sebagai kandidat antituberkulosis. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. 2019 Oct 29;17(2):218–26.
- Zhou P, Zhou R, Min Y, An LP, Wang F, Du QY. Network pharmacology and molecular docking analysis on pharmacological mechanisms of *Astragalus membranaceus* in the treatment of gastric ulcer. Seidel V, editor. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2022 Jan 31;2022:1–11.
- Jia C, Pan X, Wang B, Wang P, Wang Y, Chen R. Mechanism prediction of *Astragalus membranaceus* against cisplatin-induced kidney damage by network pharmacology and molecular docking. Yuan Y, editor. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2021 Aug 19;2021:1–15.
- Zhang Y, Jiang W, Xia Q, Qi J, Cao M. Pharmacological mechanism of *Astragalus* and *Angelica* in the treatment of idiopathic pulmonary fibrosis based on network pharmacology. *European Journal of Integrative Medicine*. 2019 Dec;32:101003.
- Wadhawan M, Chhabra V, Katiyar A, Sharma V, Khuntia BK, Rathore S, et al. A network pharmacology-based approach to explore therapeutic mechanism of Indian herbal formulation Nisha Amalaki in treating type 2 diabetes mellitus [Internet]. In Review; 2021 Oct [cited 2022 Jun 11]. Available from: <https://www.researchsquare.com/article/rs-954990/v1>

20. Rahman MdM, Vadrev SM, Magana-Mora A, Levman J, Soufan O. A novel graph mining approach to predict and evaluate food-drug interactions. *Sci Rep.* 2022 Dec;12(1):1061.
21. Li F, Duan J, Zhao M, Huang S, Mu F, Su J, et al. A network pharmacology approach to reveal the protective mechanism of *Salvia miltiorrhiza*-*Dalbergia odorifera* coupled-herbs on coronary heart disease. *Sci Rep.* 2019 Dec;9(1):19343.
22. Shahid M, Azfaralariff A, Law D, Najm AA, Sanusi SA, Lim SJ, et al. Comprehensive computational target fishing approach to identify Xanthorrhizol putative targets. *Sci Rep.* 2021 Dec;11(1):1594.
23. Zheng Y, Ren W, Zhang L, Zhang Y, Liu D, Liu Y. A review of the pharmacological action of *Astragalus polysaccharide*. *Front Pharmacol.* 2020 Mar 24;11:349.
24. Magee CN, Boenisch O, Najafian N. The role of costimulatory molecules in directing the functional differentiation of alloreactive T helper cells: role of costimulation in T cell differentiation. *American Journal of Transplantation.* 2012 Oct;12(10):2588–600.
25. Liu P, Zhao H, Luo Y. Anti-aging implications of *Astragalus membranaceus* (Huangqi): a well-known Chinese tonic. *Aging and disease.* 2017;8(6):868.
26. Huang H, Luo S, Huang D, Cheng S, Cao C, Chen G. Immunomodulatory activities of proteins from *Astragalus membranaceus* waste. *J Sci Food Agric.* 2019 Jun;99(8):4174–81.
27. 100 *Astragalus membranaceus* seeds - milkvetch perennial flowering herb Huangqi [Internet]. eBay. [cited 2022 Oct 25]. Available from: <https://www.ebay.co.uk/itm/125005874124>
28. Herbal medicine week: *Astragalus* and cancer [Internet]. Michael Thomsen. [cited 2022 Oct 25]. Available from: <https://www.michaelthomsen.com.au/herbal-medicine-week-astragalus-and-cancer>