

Prediksi Epitop untuk Desain Vaksin Virus Dengue secara *In Silico*

Fajri Marisa*, I Made Budiarsa, & I Nengah Kundera

Program Studi Pendidikan Biologi, Universitas Tadulako, Indonesia

Received: 11 Des 2019; Accepted: 25 Des 2019; Published: 5 Jan 2020

ABSTRAK

Penyakit akibat infeksi virus dengue menjadi salah satu masalah kesehatan utama di dunia, sehingga diperlukan suatu upaya pencegahan dengan cara pengembangan vaksin. Tujuan penelitian ini adalah untuk mendeskripsikan kandidat epitop yang layak digunakan dalam mendesain vaksin virus dengue secara *in silico* dan pemanfaatannya sebagai media pembelajaran bioinformatika berupa poster. Data dalam penelitian diperoleh melalui pencarian sekuen protein *envelope* virus dalam situs NCBI dan RCSB. Prediksi epitop sel T dan sel B dilakukan melalui server MULTIPRED2 dan ElliPro. Pembuktian epitop dilakukan dengan menyusun sekuen vaksin dan *homology modeling* struktur tiga dimensi vaksin. Evaluasi struktur tiga dimensi vaksin dilakukan dengan mengurangi residu asam amino yang tumpang tindih, menentukan skor QMEAN, nilai *Root Mean Square* (RMSD), skor *Template Modeling* (TM) dan menganalisis plot Ramachandran. Validasi vaksin dilakukan melalui server Verify3D. Hasil penelitian menunjukkan kandidat epitop yang layak digunakan untuk mendesain vaksin virus dengue terdapat pada urutan asam amino LVTFKTAHA, IQMSSGNLL dan MILMKMKKK. Evaluasi vaksin menunjukkan tidak terdapat residu asam amino tumpang tindih dengan nilai RMSD dibawah 0,1, skor TM 0,999 dan jumlah residu non glisin yang kurang dari 15% total residu sekuen penyusun vaksin. Validasi sekuen dan struktur tiga dimensi vaksin mencapai 91.58% asam amino yang memiliki skor 3D-1D 0,2.

Kata Kunci: Virus dengue; Envelope virus; Epitop; Vaksin

Epitope Prediction for In Silico Dengue Virus Vaccine Design

ABSTRACT

Diseases caused by dengue virus infection are one of the main health problems in the world, so prevention efforts are needed by developing vaccines. The purpose of this study was to describe candidate epitopes that are suitable for use in designing *in silico* dengue virus vaccines and their use as bioinformatics learning media in the form of posters. The data in this study were obtained by searching for viral envelope protein sequences in the NCBI and RCSB sites. Epitope prediction of T and B cells was carried out via MULTIPRED2 and ElliPro servers. Epitope proof is done by compiling vaccine sequences and homology modeling of the three-dimensional structure of the vaccine. Evaluation of the three-dimensional structure of the vaccine was carried out by reducing overlapping amino acid residues, determining QMEAN scores, Root Mean Square (RMSD) values, Template Modeling (TM) scores and analyzing Ramachandran plots. Vaccine validation is done via the Verify3D server. The results showed that the suitable epitope candidates to be used to design dengue virus vaccines were found in the amino acid sequences LVTFKTAHA, IQMSSGNLL and MILMKMKKK. Vaccine evaluation showed no overlapping amino acid residues with RMSD values below 0.1, TM scores 0.999 and the number of non-glycine residues less than 15% of the total residues of the vaccine sequences. Sequence validation and three-dimensional structure of the vaccine reached 91.58% amino acids which had a 3D-1D score of 0.2.

Keywords: Dengue virus; Virus envelopes; Epitope; Vaccine

Copyright © 2020 Fajri Marisa, I Made Budiarsa, & I Nengah Kundera

OPEN ACCESS



Corresponding author: Fajri Marisa, Program Studi Pendidikan Biologi, Universitas Tadulako, Indonesia.

Email: fajrimarisa@mail.ugm.ac.id

PENDAHULUAN

Virus dengue merupakan virus yang berasal dari keluarga Flaviviridae dan memiliki RNA rantai tunggal dengan panjang genom sekitar 11 kb (Mosimann *et al.*, 2010). Virus dengue mempunyai 4 serotipe yang berbeda yaitu DEN-1, DEN-2, DEN-3, DEN-4. Infeksi virus dengue menyebabkan penyakit dengan spektrum luas, diantaranya demam dengue (DD), demam berdarah dengue (DBD), dan sindrome syok dengue (SSD) (Blacksell *et al.*, 2007). Infeksi salah satu serotipe virus ini, dapat memberikan imunitas jangka panjang hanya terhadap salah satu serotipe tersebut, karena itu seseorang bisa terinfeksi lebih dari 4 kali dari serotipe yang berbeda (Smith & Schwartz, 2005).

Penyakit yang disebabkan oleh infeksi virus dengue telah menjadi masalah kesehatan utama di dunia. Infeksi virus ini telah menjadi endemik di 100 negara. *World Health Organization* (WHO), memperkirakan telah terjadi 100 juta kasus tiap tahun dan sebanyak 2,5 miliar orang atau 40% dari populasi dunia beresiko terjangkit infeksi virus dengue (Monath *et al.*, 2002). Hampir sepanjang tahun infeksi virus dengue terutama penyakit DBD selalu ditemukan di seluruh Indonesia terutama pada awal musim penghujan (WHO, 2005).

Usaha untuk mengembangkan vaksin virus dengue dengan menggunakan virus dengue yang dilemahkan telah dilakukan oleh beberapa negara (Monath *et al.*, 2002). Namun dasar molekuler vaksin ini tidak dipahami dan diyakini bahwa gangguan dalam replikasi antara serotipe serta gangguan pada rangsangan kekebalan tubuh dapat menyebabkan ketidak-seimbangan respon kekebalan tubuh sehingga dapat meningkatkan keparahan penyakit. Pemulihan sifat virulensi vaksin yang dilemahkan melalui mutasi dan rekombinasi antara komponen vaksin atau dengan virus *wildtype* menjadi masalah yang sangat mengkhawatirkan. Selain itu, vaksin yang berisi lebih dari satu virus yang dilemahkan, tidak akan menginduksi respon imun tubuh (Gulgani & Kabra, 2005).

Generasi baru vaksin sangat dibutuhkan untuk mengatasi kelemahan vaksin tradisional. Salah satu jenis vaksin modern adalah vaksin protein (Gancalves *et al.*, 2004). Vaksin protein terdiri dari urutan asam amino yang berasal dari

bagian kecil protein patogen (Thomson *et al.*, 1998). Sebagai langkah awal dalam pembuatan vaksin peptida, perlu adanya identifikasi epitope atau *antigenic determinant*, yaitu bagian spesifik dari antigen yang dikenali antibodi sehingga dapat memunculkan respon imun sel B maupun sel T. Identifikasi dan analisis epitop dapat dilakukan secara *in silico* dengan memanfaatkan perkembangan teknologi imunoinformatik dan bioinformatik sehingga dapat mengurangi waktu terkait pencarian epitop yang potensial (De Groot *et al.*, 2001).

Struktur kristal protein *envelope* virus dengue terdiri atas 3 domain, yaitu domain I (DI) berperan pada perubahan konformasi pada proses endositosis, domain II (DII) berperan pada proses fusi dengan membran sel dan domain III (DIII) berperan dalam proses penempelan pada membran sel (Modis *et al.*, 2005). Berdasarkan peranannya, maka protein *envelope* (E) virus dengue memiliki potensi untuk di jadikan bahan mendesain vaksin (Herman & Putri, 2015).

Suhendro dkk., (2006), menyatakan bahwa virus dengue serotipe 3 merupakan serotipe yang paling luas penyebarannya ditemukan di Indonesia. Virus dengue serotipe 3 juga memiliki karakteristik yang lebih virulen dibandingkan serotipe lainnya (Kotaki *et al.*, 2014). Oleh karena itu, dalam penelitian ini digunakan protein *envelope* virus dengue serotipe 3 sebagai rantai utama (*backbone*) sekuens vaksin yang akan dirancang.

METODE

Pengambilan Sekuen Protein Envelope Virus Dengue melalui server *National Center of Biotechnology Information* (NCBI) dan *Research Collaboratory for Structural Bioinformatics* (RCSB). Prediksi Epitop sel T Protein Envelope Virus Dengue melalui server MULTIPRED2 yang dapat diakses pada alamat situs <http://cvc.dfci.harvard.edu/multipred2/index.php>. Prediksi Epitop sel B Protein Envelope Virus Dengue melalui server ElliPro yang dapat diakses pada alamat situs <http://tools.iedb.org/ellipro/>. Penentuan Sekuen Vaksin dilakukan dengan cara substitusi kandidat epitop sel T yang memiliki nilai prediksi terbesar (*high binding*) pada protein *envelope* dengue virus serotipe 1, 2 dan 4 dengan hasil prediksi epitop sel T yang memiliki nilai

terkecil (*non binding*) pada protein *envelope* dengue serotipe 3. Pemilihan asam amino *non binding* dimulai dari posisi yang memberikan nilai prediksi terkecil (rendah) hingga terbesar (tinggi) dan bukan merupakan epitop yang tumpang tindih dengan epitop lainnya (Hendra, 2006). *Modeling Struktur Tersier Vaksin* dilakukan dengan mencari *template* yang memiliki nilai kemiripan tertinggi terhadap keenam sekuen vaksin melalui server SwissModel. *Template* yang diperoleh kemudian diunduh dalam format file pdb. Sekuen vaksin hasil rancangan kemudian diproyeksikan dalam aplikasi swisspdbviewer (spdbv) versi 3.7. Evaluasi Struktur Tersier Vaksin dilakukan dengan cara melihat residu-residu asam amino yang saling tumpang tindih, menganalisis pelekatan sekuen target dan *template* dengan cara menentukan skor QMEAN, penentuan nilai *Root Mean Square Deviation* (RMSD) dan analisis plot Ramachandran. Validasi Vaksin dengan *Database* melalui server Verify3D yang dapat diakses pada http://services.mbi.ucla.edu/Verify_3D/.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sekuen protein *envelope* dengue virus serotipe 3 yang diperoleh dijadikan sebagai *backbone* atau rantai utama vaksin. Pemilihan protein *envelope* dengue serotipe 3 sebagai *backbone* dilakukan karena virus dengue serotipe 3 merupakan serotipe virus dengue yang paling luas penyebarannya di Indonesia (Suhendro, dkk., 2006). Selain itu, virus dengue serotipe 3 juga memiliki karakteristik yang lebih virulen dibandingkan serotipe lainnya (Kotaki, *et al.*, 2014).

Hasil pencarian data protein *envelope* virus dengue serotipe 1, 2 dan 4 dalam situs NCBI menunjukkan bahwa terdapat 541 data sekuen protein *envelope* virus dengue serotipe 1, 440 data protein *envelope* virus dengue serotipe 2 dan 180

data protein *envelope* virus dengue serotipe 4. Pensejajarkan (*alignment*) sekuen-sekuen hasil pencarian perlu dilakukan untuk melihat kesamaan panjang asam amino penyusun dan *host* yang dimiliki. Berdasarkan hasil pensejajaran tersebut, dipilih 13 sekuen protein *envelope* dengue serotipe 1, 13 sekuen protein *envelope* dengue serotipe 2 dan 12 sekuen protein *envelope* dengue serotipe 4 yang memiliki panjang sekuen dan *host* yang sama yaitu manusia.

Hasil prediksi epitop sel T pada 13 alel HLA kelas II, yaitu DR1, DR3, DR4, DR5, DR6, DR7, DR8, DR9, DR11, DR12, DR13, DR14, DR15 dan DR16 oleh MULTIPRED2 ditampilkan dalam tabel yang berisikan sekuen peptida dengan presentasi skor *binding* yang berbeda-beda. HLA kelas II dipilih karena vaksin dengue yang dirancang adalah vaksin peptida ekstra seluler (antigen eksogen, bukan antigen endogen seperti virus yang dilemahkan). Vaksin eksogen dirancang dengan tujuan meningkatkan jumlah serum CD4+ pada pasien selama infeksi dengue (Srinivasan, 2005).

Skor yang diberikan server MULTIPRED2 ditampilkan dalam bentuk persen (%) mulai dari 1% sampai 100%. Epitop dengan nilai persentasi tertinggi dikategorikan sebagai *promiscuous binders* atau *high binding* yang artinya nilai persentasi melebihi *Threshold*. Epitop yang memiliki rentang nilai 1% sampai 30% dikategorikan sebagai *non binding*, 40%-50% dikategorikan sebagai *moderate binding* atau *low binding*, dan 60%-100% dikategorikan sebagai *promiscuous binders* atau *high binder* (Hendra, 2006). Analisis dilakukan dengan memindai setiap 30 asam amino protein E DENV, mulai dari asam amino pertama sampai yang terakhir (Tambunan, dkk., 2009).

Tabel 1. Hasil Prediksi epitop sel T pada sekuen protein *envelope* Dengue serotipe 3

Posisi	Residu Asam Amino	Posisi	Residu Asam Amino	Posisi	Residu Asam Amino	Posisi	Residu Asam Amino
30-38	CVTTMAKNK	191-199	FNEMILLTM	300-308	CLNTFVLKK	300-308	CLNTFVLKK
50-58	ATQLATLRK	194-202	MILLTMKDK	301-309	LNTFVLKKE	301-309	LNTFVLKKE
51-59	TQLATLRKL	195-203	ILLTMKDKA	303-311	TFVLKKEVS	303-311	TFVLKKEVS
52-60	QLATLRKLC	197-205	LTMKDKAWM	317-325	TILIKVEYK	317-325	TILIKVEYK
53-61	LATLRKLCI	204-212	WMVHRQWFF	318-326	ILIKVEYKG	318-326	ILIKVEYKG

56-64	LRKLCIEGK	206-214	VHRQWFFDL	347-355	GRLITANPV	347-355	GRLITANPV
129-137	IVQHENLKY	234-242	LLVTFKNAH	383-391	KALKINWYR	383-391	KALKINWYR
135-143	LKYTVIITV	235-243	LVTFKNAHA	384-392	ALKINWYRK	384-392	ALKINWYRK
137-145	YTVIITVHT	274-282	TSIFAGHLK	300-308	CLNTFVLKK	300-308	CLNTFVLKK

Eipitop sel T hasil prediksi yang memiliki nilai *binding* tertinggi pada protein *envelope* dengue virus serotipe 1, 2 dan 4 dijadikan sebagai kandidat epitop untuk disubstitusikan ke dalam *backbone*. Sedangkan epitop sel T hasil prediksi milik sekuen *envelope* virus dengue serotipe 3 dijadikan sebagai bahan pertimbangan dalam menentukan posisi substitusi epitop dengan *backbone*. Deretan asam amino *non binding* hasil prediksi dipilih dan diseleksi untuk disubstitusikan dengan kandidat epitop sel T milik protein *envelope* virus dengue serotipe 1, 2 dan 4 yang memiliki skor *binding* tertinggi. Semakin besar presentasi skor maka semakin besar pula kemungkinan terbentuknya ikatan antara epitop dengan HLA. Apabila kemungkinan ikatan epitop dengan HLA besar maka kemungkinan sel T mengenali epitop juga semakin besar.

Prediksi epitop sel B hanya dilakukan pada protein *envelope* virus dengue serotipe 3 karena protein tersebut dijadikan sebagai *backbone* vaksin, selain itu dari keseluruhan data yang digunakan hanya protein *envelope* virus dengue serotipe 3 yang telah memiliki kode id pdb sehingga data yang diinput dapat diterima oleh server ElliPro. Hasil prediksi oleh ElliPro ditampilkan dalam dua tabel yang berbeda yaitu epitop *linear* dan epitop *discontinuous*. Epitop *linear* merupakan epitop yang dikenali hanya pada rantai lurus atau struktur primer protein, sedangkan epitop *discontinuous* merupakan epitop yang terbentuk akibat pelipatan protein menjadi konformasi tertentu sehingga sebagian besar antibodi dapat mengenali epitop ini karena memiliki struktur tiga dimensi yang spesifik (Ponomarenko, *et al.*, 2008).

Tabel 2. Hasil prediksi *linear* epitop sel B oleh ElliPro

No.	Start	End	Peptide	Number of residues	Score
1	369	392	PPFGESNIVIGIGDKALKINWYRK	24	0.79
2	321	332	KVEYKGEDAPCK	12	0.777
3	64	118	KITNITDSRCPTQGEAILPEEQDQNYVCKHTYVDR GWGNGCGLEFGKGS�VTCAK	55	0.768
4	355	362	VVTKKEEP	8	0.746
5	336	348	STEDGQGAHNGR	13	0.733
6	14	22	GLSGATWVD	9	0.73
7	236	250	VTFKNAHAKKQEVVV	15	0.729
8	282	317	KCRLKMDKLKLGMSYAMCLNTFVLKKEVSETQ HGT	36	0.644
9	164	187	SQASTAEAILPEYGTGLGLECPRT	24	0.58
10	222	227	ATTKTP	6	0.557
11	189	193	LDFNE	5	0.537

Tabel 3. Hasil prediksi *discontinuous* epitop sel B oleh ElliPro

No.	Residues	Number of residues	Score
1	A:K64, A:I65, A:T66, A:N67, A:I68, A:T69, A:T70, A:D71, A:S72, A:R73, A:C74, A:P75, A:T76, A:Q77, A:G78, A:E79, A:A80, A:I81, A:L82, A:P83, A:E84, A:E85, A:Q86, A:D87, A:Q88, A:N89, A:Y90, A:C92, A:K93, A:H94, A:T95, A:Y96, A:V97, A:D98, A:R99, A:G100, A:W101, A:G102, A:N103, A:G104, A:C105, A:G106, A:L107, A:F108, A:G109, A:K110, A:G111, A:S112, A:L113, A:V114, A:T115, A:C116, A:A117, A:K118, A:T228, A:V236, A:T237, A:F238, A:K239, A:N240, A:A241, A:H242, A:A243, A:K244, A:K245, A:Q246, A:E247, A:V248, A:V249, A:V250	70	0.76
2	A:G7, A:G14, A:L15, A:S16, A:G17, A:A18, A:T19, A:W20, A:D22, A:H132, A:E133, A:D147, A:Q148, A:H149, A:S164, A:Q165, A:A166, A:S167, A:T168, A:A169, A:E170, A:I172, A:L173, A:P174, A:E175, A:Y176, A:G177, A:T178, A:G180, A:E182, A:C183, A:S184, A:P185, A:K282, A:R284, A:K286, A:M287, A:D288, A:K289, A:L290, A:K291, A:L292, A:K293, A:G294, A:M295, A:S296, A:Y297, A:A298, A:M299, A:C300, A:L301, A:N302, A:T303, A:F304, A:V305, A:L306, A:K307, A:K308	126	0.698

	A:E309, A:V310, A:S311, A:E312, A:T313, A:Q314, A:H315, A:G316, A:T317, A:K321, A:V322, A:E323, A:Y324, A:K325, A:G326, A:E327, A:D328, A:A329, A:P330, A:C331, A:K332, A:I333, A:P334, A:S336, A:T337, A:E338, A:D339, A:G340, A:Q341, A:G342, A:K343, A:A344, A:H345, A:N346, A:G347, A:R348, A:V355, A:V356, A:T357, A:K358, A:K359, A:E360, A:E361, A:P362, A:P369, A:P370, A:F371, A:G372, A:E373, A:S374, A:N375, A:I376, A:V377, A:I378, A:G379, A:I380, A:G381, A:D382, A:K383, A:A384, A:L385, A:K386, A:I387, A:N388, A:W389, A:Y390, A:R391, A:K392		
3	A:A222, A:T223, A:T224, A:K225, A:T226, A:P227	6	0.557
4	A:L189, A:D190, A:F191, A:N192, A:E193, A:H207	6	0.532

Hasil prediksi epitop sel B dengan ElliPro, baik epitop *linear* maupun epitop *discontinuous*, menunjukkan bahwa setiap epitop memiliki skor aksesibilitas yang melebihi 50% sehingga epitop sel B hasil prediksi ini memberikan kemungkinan besar untuk dapat menginduksi respon imun. Abas, *et al.* (1994) menyatakan bahwa suatu epitop dapat menginduksi respon imunitas apabila ia bersifat aksesibel terhadap *antigen binding site* pada antibodi maupun reseptor limfosit. Oleh karena itu seluruh epitop sel B hasil prediksi akan digunakan dalam proses penentuan sekuen vaksin.

Sekuen vaksin yang dirancang merupakan sekuen protein baru hasil substitusi kandidat epitop dari protein *envelope* virus dengue serotipe 1, 2 dan 4 dengan epitop-epitop *non binding* ke dalam sekuen *envelope* dengue virus serotipe 3 sebagai *backbone* vaksin. Apabila asam amino penyusun epitop sel T yang memiliki nilai prediksi terkecil (*non binding*) pada protein *envelope* dengue virus serotipe 3 merupakan asam amino penyusun epitop sel B, maka asam amino tersebut tidak dipilih untuk disubstitusikan. Hal ini dilakukan

karena asam amino tersebut berpotensi untuk berikatan dengan sel B sehingga dapat menghasilkan antibodi yang spesifik (Tambunan, dkk., 2009). Epitop-epitop *non binding* yang terdapat dalam sekuen protein *envelope* virus dengue serotipe 3 merupakan 9 residu asam amino yang berada pada posisi 30-38 yaitu residu asam amino CVTMAKNK, pada posisi 206-214 yaitu residu asam amino VHRQWFFDL dan pada posisi 274-282 yaitu residu asam amino TSIFAGHLK.

Hasil substitusi epitop sel T protein *envelope* virus dengue serotipe 1, 2, 3 dan 4 adalah 6 rancangan sekuen vaksin dengan protein *envelope* dengue serotipe 3 sebagai *backbone*nya. Hasil BLAST dari keenam struktur vaksin menunjukkan bahwa vaksin memiliki nilai *identity* atau kemiripan dengan sekuen asli protein *envelope* virus dengue yang mencapai 90% sehingga struktur tiga dimensi keenam vaksin dapat dibangun melalui *homology modeling*.

Tabel 4. Sekuen asam amino 6 rancangan vaksin

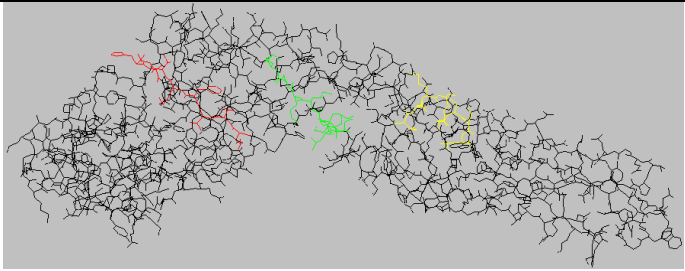
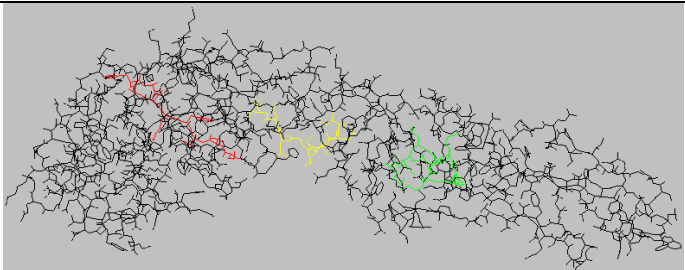
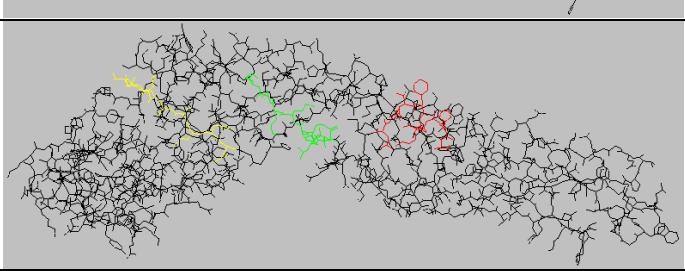
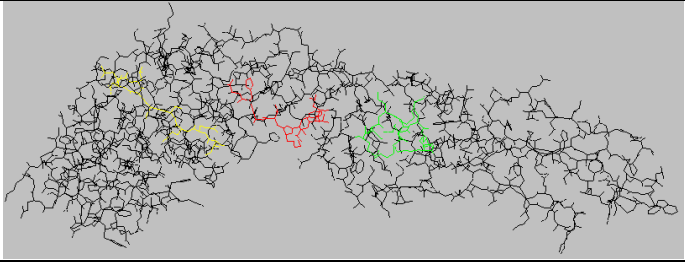
Va ksi n1 24	MRCVGVGNRDFVEGLSGATWVDVVEHGG LVTEKTAHA PTLDIELQKTEATQLATLRKLCIEGKITNITD SRCPTQGEAILPEEQDQNYVCKHT YVDRGWGNGCGLFGKGSVLTCAKFQCLEIEGKIVQHENLKYTVIITVHTGDQHQVGNETQGVTAETISQASTAEAILPEYGTGLGLECSPRTGLDF NEMILLTMKDKAWM IQMSSGNLI PLPWTSGATTKTPTWNRKELLVTFKNAHAKKQEVVVLGSQEGAMHTALTGATEIQTSGG MILMKMKKK C RLKMDKLLKLGMSYAMCLNTFVLKKEVSETQHGHTILIKVEYKGEDAPCKIPFSTEDGQGAHNRLITANPVVTKKEEVPVNEAEPFPGESNIVI GDKALKINWYRK
Va ksi n1 42	MRCVGVGNRDFVEGLSGATWVDVVEHGG LVTEKTAHA PTLDIELQKTEATQLATLRKLCIEGKITNITD SRCPTQGEAILPEEQDQNYVCKHT YVDRGWGNGCGLFGKGSVLTCAKFQCLEIEGKIVQHENLKYTVIITVHTGDQHQVGNETQGVTAETISQASTAEAILPEYGTGLGLECSPRTGLDF NEMILLTMKDKAWM MILMKMKKK PLPWTSGATTKTPTWNRKELLVTFKNAHAKKQEVVVLGSQEGAMHTALTGATEIQTSGG IQMSSGNLI CRLKMDKLLKLGMSYAMCLNTFVLKKEVSETQHGHTILIKVEYKGEDAPCKIPFSTEDGQGAHNRLITANPVVTKKEEVPVNEAEPFPGESNIVI GIGDKALKINWYRK
Va ksi n2 14	MRCVGVGNRDFVEGLSGATWVDVVEHGG IQMSSGNLI PTLDIELQKTEATQLATLRKLCIEGKITNITD SRCPTQGEAILPEEQDQNYVCKHT YVDRGWGNGCGLFGKGSVLTCAKFQCLEIEGKIVQHENLKYTVIITVHTGDQHQVGNETQGVTAETISQASTAEAILPEYGTGLGLECSPRTGLDF NEMILLTMKDKAWM LVTEKTAHA PLPWTSGATTKTPTWNRKELLVTFKNAHAKKQEVVVLGSQEGAMHTALTGATEIQTSGG MILMKMKKK CRLKMDKLLKLGMSYAMCLNTFVLKKEVSETQHGHTILIKVEYKGEDAPCKIPFSTEDGQGAHNRLITANPVVTKKEEVPVNEAEPFPGESNIVI GIGDKALKINWYRK
Va ksi n2 41	MRCVGVGNRDFVEGLSGATWVDVVEHGG IQMSSGNLI PTLDIELQKTEATQLATLRKLCIEGKITNITD SRCPTQGEAILPEEQDQNYVCKHT YVDRGWGNGCGLFGKGSVLTCAKFQCLEIEGKIVQHENLKYTVIITVHTGDQHQVGNETQGVTAETISQASTAEAILPEYGTGLGLECSPRTGLDF NEMILLTMKDKAWM MILMKMKKK PLPWTSGATTKTPTWNRKELLVTFKNAHAKKQEVVVLGSQEGAMHTALTGATEIQTSGG LVTEKTAHA CRLKMDKLLKLGMSYAMCLNTFVLKKEVSETQHGHTILIKVEYKGEDAPCKIPFSTEDGQGAHNRLITANPVVTKKEEVPVNEAEPFPGESNIVI GIGDKALKINWYRK
Va ksi n4 12	MRCVGVGNRDFVEGLSGATWVDVVEHGG MILMKMKKK PTLDIELQKTEATQLATLRKLCIEGKITNITD SRCPTQGEAILPEEQDQNYVCKH TYVDRGWGNGCGLFGKGSVLTCAKFQCLEIEGKIVQHENLKYTVIITVHTGDQHQVGNETQGVTAETISQASTAEAILPEYGTGLGLECSPRTGLD FNEMILLTMKDKAWM LVTEKTAHA PLPWTSGATTKTPTWNRKELLVTFKNAHAKKQEVVVLGSQEGAMHTALTGATEIQTSGG IQMSSGNLI CRLKMDKLLKLGMSYAMCLNTFVLKKEVSETQHGHTILIKVEYKGEDAPCKIPFSTEDGQGAHNRLITANPVVTKKEEVPVNEAEPFPGESNIVI

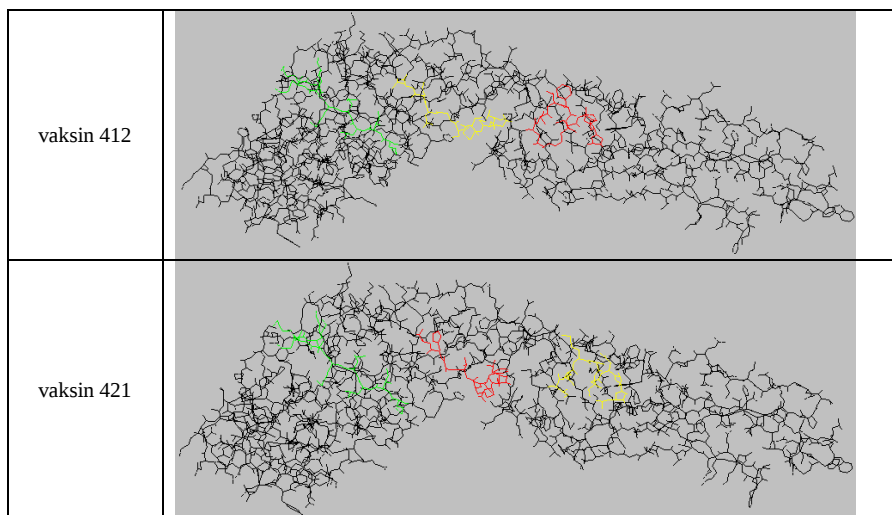
	GIGDKALKINWYRK
Va	MRCVGVGNRDFVEGLSGATWVDVVLEHGGMILMKMKKKPTLDIELQKTEATQLATLRKLCIEGKITNITDSRCPTQGEAILPEEQDQNYVCKH
ksi	TYVDRGWNGCGLFGKGS�VTCAKFQCLEIEGKIVQHENLKYTVIITVHTGDQHVGNETQGVTAEITSQASTAEAILPEYGTGLGLECSPRTGLD
n4	FNEMILLTMKDKAWMIOMSSGNLLPLPWTSGATTKTPTWNRKELLVTFKNAHAKKQEVVVLGSQEGAMHTALTGATEIQTSGGLVTEKTAHA
21	CRLKMDKLLKLGMSYAMCLNTFVLKKEVSETQHGTILIKVEYKGEDAPCKIPFSTEDGQGKAHNGRLITANPVVTKKEEPVNIEAEPFGESNIVI
	GIGDKALKINWYRK

Teknik pemodelan yang digunakan adalah *homology modeling*. Proyeksi struktur tiga dimensi vaksin dilakukan menggunakan aplikasi swisspdbviewer (spdbv) versi 3.7. Dalam aplikasi tersebut, struktur primer vaksin yang berupa rantai lurus dilekatkan dengan *template* menggunakan *magic fit*. Pelekatan residu sekuen vaksin dengan *template* mengakibatkan residu-residu yang sama akan saling melekat dan struktur vaksin akan ikut melipat (*folding*) mengikuti bentuk dari *template* sehingga struktur rantai lurus vaksin dapat berubah menjadi struktur tersier (Susanty, 2015).

perbaikan struktur tersier vaksin perlu dilakukan untuk mengurangi residu asam amino yang tumpang tindih. Residu asam amino yang tumpang tindih adalah residu yang memiliki atom yang terlalu dekat dengan atom residu lainnya. Residu yang tumpang tindih sangat perlu diperbaiki karena dapat mempengaruhi struktur tiga dimensi protein sehingga truktur yang diprediksi tidak dapat mengikuti struktur *template* dengan baik atau terjadi kesalahan dalam pelipatan asam amino.

Tabel 5. Struktur 3D Vaksin

vaksin 124	
vaksin 142	
vaksin 214	
vaksin 241	



Hasil perbaikan vaksin oleh SwissModel menunjukkan bahwa masing-masing sekuen vaksin memiliki skor QMEAN yang lebih besar dari -4,0. QMEAN adalah fungsi penilaian gabungan berdasarkan sifat geometris yang berbeda dan memberikan perkiraan kualitas mutlak keseluruhan struktur dan setiap residu berdasarkan satu model tunggal. Skor QMEAN yang lebih tinggi menunjukkan kesepakatan yang lebih baik antara struktur target dan struktur *template* dengan ukuran yang sama. Skor -4,0 atau di bawah ini merupakan indikasi model dengan kualitas sangat rendah (Benkert *et al.*, 2011).

Penentuan nilai RMSD struktur tiga dimensi keenam vaksin dilakukan dengan cara *superimposition* antara sekuen target dengan *template* menggunakan aplikasi chimera. Keenam sekuen vaksin memiliki nilai RMSD sebesar kurang dari 0,1Å yang menunjukkan bahwa keenam struktur vaksin memiliki hubungan erat bahkan *backbone* vaksin dan *template* tidak dapat dibedakan. Nilai RMSD digunakan untuk mengukur jarak rata-rata antara atom-atom protein yang di *superimposition*.

Penentuan hubungan struktur tiga dimensi vaksin dengan *template* juga dilakukan dengan cara mengecek skor TM antara struktur tiga dimensi vaksin dan *template* yang di *superimposition*. Skor TM adalah metrik untuk mengukur kesamaan struktural dari dua model protein. Skor TM memiliki rentang antara 0 sampai 1, apabila skor TM berada di atas 0,5 (semakin mendekati 1) maka dinyatakan kedua struktur protein yang di *superimposition* memiliki lipatan yang sama (Zhang & Skolnick, 2004).

Hasil dari penentuan skor TM menggunakan server Zang Lab menunjukkan bahwa keenam sekuen vaksin memiliki skor TM sebesar 0,9999 yang artinya keenam struktur vaksin memiliki lipatan protein yang sama dengan *template*.

Evaluasi struktur tiga dimensi vaksin juga dilakukan dengan menganalisis plot Ramachandran untuk melihat kualitas struktur tiga dimensi protein dengan cara menggambarkan residu pada suatu struktur protein yang divisualisasikan dalam koordinat internal yang terdiri dari sudut ϕ (*phi*) sebagai sumbu x dan sudut ψ (*psi*) sebagai sumbu y (Baxevanis & Oullete, 2005). Analisis pada plot Ramachandran menunjukkan bahwa residu selain glisin yang berada pada daerah terlarang (*disallowed region*) berjumlah jauh lebih kecil dari 15% jumlah keseluruhan residu sehingga dikatakan struktur tiga dimensi keenam vaksin yang diprediksi memiliki kualitas struktur yang baik dan sebanding dengan kualitas truktur tiga dimensi *template*. Menurut Baxevanis dan Ouellette (2005), struktur protein yang mempunyai jumlah plot residu selain glisin pada daerah terlarang lebih dari 15% dapat dikatakan memiliki kualitas yang buruk.

Validasi sekuen dan struktur tiga dimensi vaksin dengan *database* dilakukan dengan menggunakan server Verify3D. Server ini bekerja untuk menentukan kompatibilitas antara model atom (3D) dan urutan asam amino (1D) dengan menetapkan kelas struktural berdasarkan lingkungan asam amino tersebut dan membandingkan hasilnya dengan struktur yang baik (James, *et al.*, 1991). Lingkungan asam amino didefinisikan oleh tiga parameter yaitu luas

residu yang tertimbun, fraksi daerah rantai samping yang ditutupi oleh atom polar (oksigen dan nitrogen), dan struktur sekundernya (Eisenberg, *et al.*, 1997). Validasi sekuen dan struktur vaksin oleh Verify3D memperlihatkan hasil persentasi validasi yang mencapai 91,58% asam amino yang memiliki skor 3D-1D 0,2. Hal ini menunjukkan bahwa keenam vaksin yang dirancang memiliki sekuen dan struktur tiga dimensi yang kompatibel dengan sekuen asam amino penyusunnya, sehingga struktur tiga dimensinya layak dan dapat diterima oleh server Verify3D.

KESIMPULAN

Dengan demikian, maka dapat dikatakan bahwa ke enam vaksin yang dirancang memiliki kualitas sekuen dan struktur tiga dimensi yang baik dan diharapkan dapat memicu respon imun yang sama seperti yang ditimbulkan oleh virus dengue.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas, A.K., Lichman, A.H., Pober, J. S. (1994). *Cellular and Molecular Immunology*. Philadelphia : [W.B. Saunders Company](#)
- [Baxevanis](#), A.D., & [Ouellette](#), B.F.F. (2005). *Bioinformatics: A Practical Guide to the Analysis of Genes and Proteins, 3rd Edition*. United State of America : Wiley Interscience
- Benkert P, Biasini M, Schwede T. (2011). "Toward the estimation of the absolute quality of individual protein structure models." *Bioinformatics*, 27(3):343-50
- Blacksell, S.D., Bell, D., Kelley, J., Mammen, M.P., Gibbon, R.V., Jarman, R.G., Vaughn, D.W., Jenjaroen, K., Nisalak, A., [Thongpaseuth](#), S., Vongsouvath, M., Davong, V., Phouminh, p., Phetsouvanh, R., Day, N.P.J., & Newton, P.N. (2007). "Prospective Study to Determine Accuracy of Rapid Serologic Assay fo Diagnosis of Acute Dengue Virus Infection in Laos". *Clinical and Vaccine Immunology*. 14, 1458-1464
- De Groot, A.S., Bosma, A., & Chinai, N. (2001). "From genome to vaccine: In silico predictions, ex vivo verification". *Vaccine*. 19, (2), 4385-4395
- Eisenberg, D., Roland, L., James, U. B. (1997). VERIFY3D: Assessment of Protein Models with Three-Dimensional Profiles. *Elsevier*. 277, 396-404
- Gancalves, A.P., Purcell, R., & Lai, C.J. (2004). "Epitope Determinants Of Chimpanzee FAB Antibody That Efficeintly Cross Neutralize Dengue Type 1 and 2 Viruses Map to Indise and in Close Proximity to Fusion Loop Of The Dengue Type 2 Virus Envelope Glycoprotein". *Journal Virol*. 78, 12919-12928
- Gulgani, L., & Kabra, S.K. (2005). "T-Cell Immunopathogenesis Of Dengue Virus Infection". *Dengue Buletin*. 29, 58-69
- Hendra. (2006). Analisis Rancangan Vaksin Tetravalen Dengue Virus Secara *In Silico* Menggunakan Protein DENV-3 Sebagai Backbone Melalui Homology Modeling. *SKRIPSI*. Depok : Universitas Indonesia
- Herman, R., & Putri, D.H., (2015). "Analisis Struktur Protein Selubung Virus Dengue Serotipe 3 Pada Genotipe Yang Sama Dengan Clade Berbeda". *Jurnal Biotek Medisiana Indonesia*. 4, (2), 43-50
- James, U., Bowie, Roland I., & David, E. (1991). A Method to Identify Protein Sequences That Fold into a Known Three-Dimensional Stucture. *Science*. 253, 164-170
- Kotaki, T., Yamanaka, A., & Mulyatno, K.C. (2014). "Phylogenetic Analysis of Dengue Virus Type 3 Strains Primarily Isolated in 2013 from Surabaya, Indonesia". *Japanese Journal of Infectious Diseases*. 67, (3), 227-279
- Modis, Y., Ogata, S., Clements, D., Harrison, S.C.(2005). "Variable Surface Epitopes In The Crystal Structure Of Dengue Virus Type 3 Envelope Glycoprotein". *Journal Virol*. 79, (2), 1223-1231
- Monath, T.P., McCarthy, K., Bedford, P., Johnson, C.T., Nicols, R., Yoksan, S., Marchesani, R., Knauber, M., Wells, K.H., Arroyo, J., & Guirakhoo, F. (2002). "Clinical Proof Of Principle For ChimeriVax : Recombinant Live, Attenuated Vaccines Against Flavivirus Infections. *Vaccine*. 20, (7), 1004-1018
- Mosimann, [A.L.](#), [de Borba](#), [L.](#), [Bordignon](#), [J.](#), [Mason](#), [P.W.](#), & [dos Santos](#), [C.N.](#) (2010).

- “Construction and characterization of a stable subgenomic replicon system of a Brazilian dengue virus type 3 strain (BR DEN3 290-02)”. *Journal of Virological Methods*. 63, (4), 147–152
- Ponomarenko, J., Huynh-Hoa, B., Wei, L., Nicholas, F., Philip, E.B., Alessandro, S., & Bjoern, P. (2008). ElliPro: A New Structure-Based Tool For The Prediction Of Antibody Epitopes. *BMC Bioinformatics*. 9, (514), 1-8
- Smith, A.W., & Schwartz. (2005). “Dengue in Travelers”. [The New England Journal of Medicine](#). 353, 925-932
- Srinivasan, K. N., [Zhang, G. L.](#), [Khan, A. M.](#), [August, J.T.](#), & [Brusic, V.](#). (2004). Prediction Of Class II-Cell Epitopes: Evidence Of Presence Of Immunological Hot Spots Inside Antigens. *Bioinformatic*. 20, i127-i302
- Suhendro, Nainggolan, L., Chen, K., Pohan, H.T. (2006). *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam. 4th ed.* Jakarta : Pusat Penerbitan Departemen Ilmu Penyakit FKUI
- Susanty. (2015). “Prediksi Efektivitas Interaksi Antara Antibodi Dan Vaksin H1N1 Melalui Metode *Molecular Docking* Secara *In Silico*”. Seminar Nasional Sains Dan Teknologi. Jakarta : Fakultas Teknik Universitas Muhamadiyah
- Tambunan, U.S.F., Parikesit, A.A., Hendra, Taifik, I.R., Amelia, F., & Syamsudin. (2009). “In Silico Analysis Of Envelope Dengue Virus-2 And Envelope Dengue Virus-3 Protein As The Backbone Of Dengu Virus Tetravalent Vaccine By Using Homology Modeling Method”. *Journal Of Biological Science*. 9, (1), 6-16
- Thomson, S.A., Burrows, S.R., Misko, I.S., Moss, D.J., Coupar, B.E.H., & Khanna, R. (1998). “Targeting for Polyepitope Protein Incorporating Multiple Class II-Restricted Viral Epitopes to The Secretory Pathway Facilitates Immune Recognition by CD4+ Cytotoxic T Lymphocytes”. *Journal Virol*. 72, 2246-2252
- WHO. (2005). *Pencegahan dan Pengendalian Dengue dan Demam Berdarah Dengue*. Jakarta : WHO
- Zhang, Y & Skolnick, J. (2004). “Scoring function for automated assessment of protein structure template quality”. *Proteins*. 57, 702-710