

**PEMETAAN EPITOP E SEL T PENGKODE PROTEIN SPIKE  
SARS-CoV-2 MENGGUNAKAN PENDEKATAN  
IMMUNOINFORMATIKA SEBAGAI KANDIDAT VAKSIN *Self  
Amplifying* RNA (SaRNA)**

**SKRIPSI**

Oleh:  
**FAHMI ALIEF AFIFUDIN**  
**NIM. 17620047**



**PROGRAM STUDI BIOLOGI  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM  
MALANG  
2021**

**PEMETAAN EPITOPE SEL T PENGKODE PROTEIN SPIKE  
SARS CoV-2 MENGGUNAKAN PENDEKATAN  
IMMUNOINFORMATIKA SEBAGAI KANDIDAT VAKSIN *Self  
Amplifying* RNA (SaRNA)**

**SKRIPSI**

Oleh:  
**FAHMI ALIEF AFIFUDIN**  
NIM: 17620047

**Diajukan Kepada:  
Fakultas Sains dan Teknologi  
Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang  
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan Dalam  
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)**

**PROGRAM STUDI BIOLOGI  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM  
MALANG  
2021**

**PEMETAAN EPITOPES SEL T PENGKODE PROTEIN SPIKE  
SARS-CoV-2 MENGGUNAKAN PENDEKATAN  
IMMUNOINFORMATIKA SEBAGAI KANDIDAT VAKSIN  
SaRNA (*Sel-Amplifying*)**

**SKRIPSI**

**Oleh:  
FAHMI ALIEF AFIFUDIN  
NIM. 17620047**

**Telah diperiksa dan disetujui untuk diuji:  
Tanggal: 24 November 2021**

**Pembimbing I**



**Dr. Kiptiyah, M. Si**  
NIP. 19731005 200212 2 003

**Pembimbing II**



**Muahidin Ahmad, M.Sc**  
NIP. 19860512 201903 1 002

**Mengetahui,  
Ketua Program Studi Biologi  
UIN Maulana Malik Ibrahim Malang**



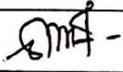
**Dr. Evika Sandi Savitri, M. P**  
NIP. 19741018 200312 2 002

**PEMETAAN EPITOPE SEL T PENGKODE PROTEIN SPIKE  
SARS-CoV-2 MENGGUNAKAN PENDEKATAN  
IMMUNOINFORMATIKA SEBAGAI KANDIDAT VAKSIN  
SaRNA (*Sel-Amplifying*)**

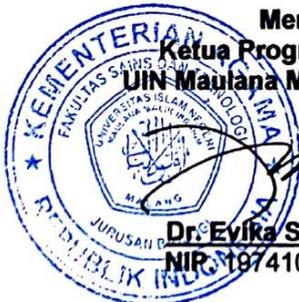
**SKRIPSI**

Oleh:  
**FAHMI ALIEF AFIFUDIN**  
**NIM. 17620047**

telah dipertahankan  
di depan Dewan Penguji Skripsi dan dinyatakan diterima  
sebagai salah satu persyaratan untuk memperoleh gelar  
Sarjana Sains (S.Si)  
Tanggal: 30 November 2021

<b>Ketua Penguji</b>	<b>Prof. Dr. Retno Susilowati, M.Si</b> <b>NIP. 19671113 199402 2 001</b>	
<b>Anggota Penguji 1</b>	<b>Fitriyah, M.Si</b> <b>NIP. 19860725 201903 2 013</b>	
<b>Anggota Penguji 2</b>	<b>Dr. Kiptiyah, M.Si</b> <b>NIP. 19731005 200212 2 003</b>	
<b>Anggota Penguji 3</b>	<b>Mujahidin Ahmad, M.Sc</b> <b>NIDT. 19890113 20180201 1 244</b>	

Mengetahui,  
Ketua Program Studi Biologi  
**UIN Maulana Malik Ibrahim Malang**



  
**Dr. Evika Sandi Savitri, M.P**  
**NIP. 19741018 200312 2 002**

## HALAMAN PERSEMBAHAN

Skripsi ini dipersembahkan kepada semua pihak yang telah mendukung penulis dalam penyusunan skripsi ini, khususnya:

1. Bapak Kholil Zainudin dan Ibu Ginarti tercinta selaku orang tua yang selalu mendoakan, memberikan restu, memberikan dukungan materil dan imateril serta dorongan motivasi dan semangat sehingga penulis dapat menyelesaikan studi sampai akhir.
2. Adik tercinta (Fazrul Ilham Syahreza) yang selalu memberikan dukungan.
3. Teman-teman Squirrel B 2017 dan Wolves 2017 yang senantiasa berbagi informasi serta dukungan dan semangat kepada penulis untuk menyelesaikan studi dengan baik.
4. Teman-teman Kontrakan Aljim Effendi, Muhajir, Panji, Cenna, Mamad, Yunus, Waladin, Rahadi, Kikik, Stiven, Firman, dan Alkaif yang senantiasa bersama sejak boyong mahad.
5. Teman-teman herping Sandro, Fenina, Bidri, Intan, Aslam dan masih banyak lagi.
6. Teman-teman seperbimbingan Bu Kipti (Intan, Reni, Fikron, Stiven, Panji) yang senantiasa saling mengingatkan, menjaga kekompakkan serta memberikan dukungan.
7. Teman-teman seperjuangan di kota perantuan masing-masing (Puji, Norus, Evi, Dewi, Milenia, Muca, A'la, Alan, Fiki, Zulaikah dan Rena) yang sering saling berbagi semangat serta dukungan.
8. Teman-teman Tim Soal OBI (Mas Hari, Mas Muja, Mas Affan, Mas Duqi, Mbak Nuri, Mbak Diah, Mbak Mifta, Mbak Hana, Irma, Rafika, Rega, Navel, Alfina, Zahro, Halimah, Intan, Nadhif dan masih banyak lagi) terimakasih sudah memberikan saran dan kritikan selama berada dalam event OBI X dan XI.

**MOTTO**

“Not Everything Will Be Easy But Not Everything Will Be Hard”.

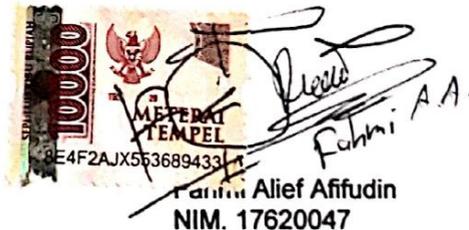
## HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Fahmi Alief Affudin  
NIM : 17620047  
Program Studi : Biologi  
Fakultas : Sains dan Teknologi  
Judul Penelitian : Pemetaan Epitope Sel T Pengkode Protein Spike SARS-CoV-2 Menggunakan Pendekatan Immunoinformatika Sebagai Kandidat Vaksin SaRNA (*SelfAmplifying*)

menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan data, tulisan, dan/atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan dan/atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 30 November 2021  
yang membuat pernyataan,



Fahmi Alief Affudin  
NIM. 17620047

## **HALAMAN PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI**

Skripsi ini tidak dipublikasikan namun terbuka untuk umum dengan ketentuan bahwa hak cipta ada pada penulis. Daftar pustaka diperkkenankan untuk dicatat, tapi pengutipan hanya dapat dilakukan dengan seizin penulis dan harus disertai kebiasaan ilmiah untuk menyebutkannya.

# Pemetaan Epitope Sel T Pengkode Protein Spike SARS-CoV-2 Menggunakan Pendekatan Immunoinformatika Sebagai Kandidat Vaksin *Self-Amplifying* RNA (saRNA)

Fahmi Alief Afifudin, Kiptiyah, Mujahidin Ahmad

Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

## ABSTRAK

Pandemi COVID-19 yang diakibatkan oleh SARS-CoV-2 menjadi krisis di berbagai sektor bagi manusia. Keperluan akan vaksin menjadi sangat penting untuk mencapai kekebalan kelompok. Penelitian ini bertujuan untuk menemukan kandidat vaksin berbasis RNA dengan epitope protein spike pada SARS-CoV-2 spesifik Indonesia dan dapat dikenali oleh sel B dan spesifik HLA II. Penelitian ini diawali dengan mensejajarkan sekuens SARS-CoV-2 Indonesia dengan sekuens referensi Wuhan, penentuan epitope sel B dan sel T yang spesifik HLA II populasi Indonesia. Kemudian analisis *self peptide*, nilai hidrofobisitas, antigenisitas, alergenitas dan topologi membran. Selanjutnya, menentukan plasmid vaksin yang dapat membawa sekuens epitope terpilih lalu dikonstruksi. Kandidat epitope terpilih dengan sekuens **KLQNVVNQNAQALNT** memiliki karakteristik antara lain sifat protein yang stabil, antigenik, dipresentasikan pada membran sel, tidak menginduksi reaksi alergi (autoimun) dan hidrofilik. Plasmid pcDNA3.1(+)-N-GST-TEV hasil konstruksi (bagian insert) terdiri atas sinyal peptida tPa (*tissue plasminogen activator*) untuk meningkatkan ekspresi antigen, NSP1-4VEEV untuk mengkode protein yang berperan dalam replikasi agar dihasilkan *self-amplifying*, CMV (*human cytomegalovirus*) untuk promoter agar dikenali oleh sel mamalia untuk percobaan in vitro atau menginisiasi ekspresi gen insert, bGH-poly (A) sebagai penstabil sekuens mRNA, ORI (Origin of replication) untuk menginisiasi perbanyakan atau replikasi plasmid rekombinan di dalam sel mikroorganisme untuk perbanyakan vektor. Berdasarkan hasil penelitian disimpulkan bahwa kandidat vaksin saRNA (*self amplifying*) dengan epitope **KLQNVVNQNAQALNT** memiliki kriteria yang cukup menjanjikan untuk dilanjutkan dengan

penelitian secara laboratorium (*In Vitro* dan *In Vivo*) ataupun uji pre-klinis.

Kata kunci: *self-amplifying* RNA, SARS-CoV-2, Protein Spike (S), COVID-19.

# **Mapping of T-Cell Epitope Coding SARS-CoV-2 Spike Protein Using Immunoinformatics as a *Self Amplifying* RNA Vaccine (SaRNA) Candidate.**

Fahmi Alief Afifudin, Kiptiyah, Mujahidin Ahmad

Biology Study Program, Science and Technology Faculty, State Islamic University of Maulana Malik Ibrahim Malang.

## **ABSTRACT**

The COVID-19 pandemic caused by SARS-CoV-2 has become a crisis in various sectors for humans. Thus, needed vaccines become very important to achieve her immunity. This study aims to find RNA-based vaccine candidates with spike protein epitope on SARS-CoV-2 specific Indonesia and can be recognized by B-Cell and specific for HLA II. This study begins by aligning the Indonesian SARS-CoV-2 sequence with the Wuhan reference sequence, determining the epitope of B-Cell and T-Cell that are specific for HLA II in the Indonesian population. Then self-peptide analysis, hydrophobicity value, antigenicity, allergenicity, and membrane topology. Furthermore, determine recombinant plasmid that can carry selected epitope sequence and then construct it. The selected epitope candidates were generated with KLQNVVNQNAQALNT sequence with protein that was stable, antigenic, presented on cell membranes, didn't induce allergic (autoimmune) and hydrophilic reactions. The constructed pDNA3.1(+)-N-GST-TEV plasmid (insert part) consists of a signal peptide TPA (tissue plasminogen activator) to increase antigen expression, NSP1-4VEEV to encode proteins that play a role in replication to produce self-amplifying, CMV (human cytomegalovirus) for a promoter to be recognized by mammalian cells for in vitro experiments or to initiate insertion gene expression, bGH-poly (A) as mRNA sequence stabilizer, ORI (Origin of replication) to initiate multiplication or replication of recombinant plasmids in microorganisms for multiplication vector. Based on the results of the study, was concluded that the SaRNA (self-amplifying) vaccine candidate with the KLQNVVNQNAQALNT epitope had promising criteria to be followed up with laboratory studies (In-Vitro and In-Vivo) or pre-clinical testing.

Keywords: self-amplifying RNA, SARS-CoV-2, Protein Spike (S), COVID-19.

رسم خرائط ترميز حاتمة الخلايا التائية لبروتين **SARS-CoV-2 Spike** باستخدام  
نهج المعلوماتية المناعية كمرشح لقاح **SaRNA** (التضخيم الذاتي) **Self Amplifying**

فهيمى ألف عفيف الدين ، قبطية ، مجاهدين أحمد  
قسم علم الأحياء ، كلية العلوم والتكنولوجيا ، الجامعة الإسلامية الحكومية مولانا مالك إبراهيم  
مالانج

مستخلص البحث

أصبح جائحة COVID-19 الناتجة عن SARS-CoV-2 أزمة في القطاعات المختلفة للبشر. الحاجة إلى اللقاحات مهمة جدًا لتحقيق مناعة القطيع. تهدف هذه الدراسة إلى العثور على مرشح لقاح قائم على RNA مع حاتمة بروتين spike على SARS-CoV-2 الخاصة بإندونيسيا و تمكن معرفتها بالخلايا البائية ومحددة لـ HLA II. تبدأ هذه الدراسة بانتقام تسلسل SARS-CoV-2 الإندونيسي مع تسلسل ووهان المرجعي ، وتحديد حاتمة الخلايا البائية والخلايا التائية الخاصة بـ HLA II في السكان الإندونيسيين. تم تحليل الببتيد الذاتي ، وقيمة الكراهية للماء ، والاستضاد ، والحساسية ، وطوبولوجيا الغشائية. بعد ذلك ، تم تحديد بلازميد اللقاح الذي يمكنه حمل تسلسل الحاتمة المحدد ثم قام ببنائه. تم إنشاء الحاتمة المرشحة المختارة باستخدام تسلسل KLQNVVNQNAQALNT بخصائص بروتينية مستقرة ومستضدية ومقدمة على أغشية الخلايا ، ولم تحفز تفاعلات الحساسية (المناعة الذاتية) و مصوص للماء. يتكون بلازميد N-GST-TEV (+) PCDNA3.1 (الجزء الداخلي) من إشارة الببتيد tPa (*tissue Plasminogen activator*) لزيادة تعبير المستضد ، و كان NSP1-4 VEEV لتشفير البروتينات التي تلعب دورًا في التكرار المتماثل لإنتاج تضخيم ذاتي ، وكان CMV (الفيروس المضخم للخلايا البشرية / *human cytomegalovirus*) ليكون المحضض معروفًا بخلايا الثدييات للتجارب في المختبر أو لبدء تعبير الجين الداخلي ، mRNA بـ bGH-poly (A) (أصل التكرار / *Origin of replication*) لبدء تكاثر أو تكرار البلازميدات المؤتلفات في خلايا الكائنات الحية الدقيقة لتكاثر النواقل وإضافة علامات الاندماج ،-S Glutathione (GST) Transferase لتحسين تعبير البروتين وعلامة التقارب ، تم استخدام TEV (فيروس حفر التبغ / *Tobacco etch virus*) للمساعدة في تنقية البروتينين مسرعًا وإزالة علامة الاندماج دون زعزعة استقرار البروتين المطلوب. بناءً على نتائج الدراسة ، استنتج أنّ لقاح saRNA (المضخم الذاتي) **Self Amplifying** المرشح مع حاتمة KLQNVVNQNAQALNT له معايير واعدة يجب متابعتها بالدراسات المعملية (في المختبر وفي الجسم الحي) أو الاختبار قبل السريري.

الكلمات الرئيسية: RNA للتضخيم الذاتي (*Self-amplifying*) ، SARS-CoV-2 ، بروتين سبايك (S)، COVID-19.

## KATA PENGANTAR

Puji syukur atas kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat serta hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Skripsi dengan baik. Penyusunan Skripsi tidak dapat terwujud tanpa adanya dukungan dari berbagai pihak. Penulis menyampaikan ucapan terima kasih banyak kepada:

1. Prof. Dr. H. Muhammad Zainuddin, M.A selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Dr. Sri Harini, M.Si Selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Dr. Evika Sandi Savitri, M.P selaku Ketua Program Studi Biologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Ruri Siti Resmisari, M.Si selaku dosen wali yang telah memberikan saran dan motivasi selama studi.
5. Dr. Kiptiyah, M.Si selaku dosen pembimbing yang telah memberikan waktu, tenaga dan pikiran untuk memberikan bimbingan sehingga skripsi ini dapat diselesaikan.
6. Mujahidin Ahmad, M.Sc selaku pembimbing agama yang telah memberikan waktu, tenaga dan pikiran untuk meberikan bimbingan terkait dengan integrasi Sains dengan Islam dalam Skripsi.

Penulis sadar bahwa tulisan ini masih jauh dari kata sempurna. Namun penulis berharap bahwa tulisan ini dapat menjadi manfaat bagi penulis dan pembaca.

Malang, 30 November 2021

Penulis

## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PERSETUJUAN.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	iv
MOTTO.....	v
HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN.....	vi
HALAMAN PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI.....	vii
ABSTRAK.....	viii
ABSTRACT.....	x
مستخلص البحث.....	xii
KATA PENGANTAR.....	xiii
DAFTAR ISI.....	xiv
DAFTAR TABEL.....	xvi
DAFTAR GAMBAR.....	xvii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xviii
DAFTAR SINGKATAN.....	xix

### BAB I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	8
1.3 Tujuan Penelitian.....	8
1.4 Batasan Masalah.....	9
1.5 Manfaat Penelitian.....	9

### BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Coronavirus Disease 2019 (COVID-19).....	10
2.2 Replikasi COVID-19.....	12
2.3 Patogenesis COVID-19.....	14
2.4 Penularan COVID-19.....	18
2.5 Sistem Imun (Respon Imun).....	20
2.5.1 Respon Imun <i>Innate</i> / Non Spesifik/Alami.....	23
2.5.2 Respon Immun Adaptive.....	25
2.6 Teknologi Rekombinan (DNA Rekombinan).....	26
2.6.1 Pemanfaatan Bakteri Sebagai Sel Inang.....	30
2.6.2 Plasmid.....	31
2.7 Epitope.....	33

2.8 MHC (Major Histocompatibility Complex) .....	34
2.9 Vaksin .....	37
2.9.1 Vaksin mRNA.....	38
2.10 Metode <i>In Silico</i> .....	40
2.10.1 Database.....	41
2.10.3 Epitope Prediction Server .....	42
2.11 Perspektif Dalam Islam.....	42
 <b>BAB III. METODE PENELITIAN</b>	
3.1 Rancangan Penelitian .....	45
3.2 Waktu dan Tempat .....	45
3.3 Alat dan Bahan .....	45
3.3.1 Alat.....	45
3.3.2 Bahan.....	46
3.4 Prosedur Penelitian .....	46
3.4.1 Pemetaan dan Penentuan Epitope sel B, sel T CD4 dan CD8.....	46
3.4.2 Perhitungan Karakteristik.....	48
3.4.3 Konstruksi Plasmid Rekombinan .....	50
3.5 Analisis Data.....	50
 <b>BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN</b>	
4.1 Pemetaan, Karakterisasi dan Analisis Sekuen Peptida Epitope.....	52
4.2 Konstruksi Plasmid pcDNA3.1(+)-N-GST-TEV.....	64
4.3 Integrasi dengan Al Quran.....	68
 <b>BAB V. PENUTUP</b>	
5.1 Kesimpulan .....	72
5.2 Saran .....	72
 <b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	73
<b>LAMPIRAN</b> .....	79

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
4.1 Hasil karakterisasi dan analisis sekuen peptida.....	54
4.2 Properti Kandidat Epitope Terpilih.....	63
4.3 Sekuens nukleotide pengkode epitope terpilih.....	63

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Struktur SARS-CoV-2 .....	12
2.2 Struktur genom dan fenotipe SARS-CoV & MERS-CoV .....	12
2.3 Replikasi SARS-CoV-2.....	14
2.4 Penularan MERS-CoV dan SARS-CoV .....	20
2.5 Organ dan sistem imun .....	22
2.6 Diagram imun non-spesifik dan spesifik setelah terserang patogen .....	24
2.7 Enzim Restriksi dan Enzim Ligase .....	28
2.8 Teknologi DNA rekombinan menggunakan vektor bakteri ..	30
2.9 Plasmid (Sumber: National Human Genome Research Institute .....	32
2.10 Jalur antigen MHC I.....	35
2.11 Jalur antigen MHC kelas II dan kelas I .....	36
2.12 Skema vaksin berbasis mRNA dengan target protein spike (S) pada COVID-19.....	40

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Kumpulan Software Yang Digunakan .....	79
2. Kitab Tafsir Dan Jurnal Yang Digunakan Untuk Integrasi .....	85
3. Bukti Konsultasi Bimbingan Skripsi .....	88
4. Bukti Konsultasi Bimbingan Agama .....	89
5. Checklish Plagiasi .....	90

## DAFTAR SINGKATAN

Simbol/Singkatan	Keterangan
COVID-19	: <i>Corona Virus Disease-2019</i>
SARS-CoV-2	: <i>Severe Acute Respiratory Syndrome-Corona Virus-2</i>
MERS-CoV	: <i>Middle East Respiratory Syndrome-Corona Virus</i>
ACE-2	: <i>Angiotensin Converting Enzyme-2</i>
TMPRSS2	: <i>Transmembrane Serine Protease 2</i>
PCR	: <i>Polymerase Chain Reaction</i>
ORF	: <i>Open Reading Frame</i>
NSP	: <i>Non-Structural Protein</i>
WHO	: <i>World Health Organization</i>
mRNA	: <i>messenger Ribose Nucleic Acid</i>
ExoN	: <i>Exoribosa Nuklease</i>
DPP	: <i>Dipeptidyl Peptidase</i>
RT-PCR	: <i>Real-Time Polymerase Chain Reaction</i>
RE	: <i>Retikulum Endoplasma</i>
ARDS	: <i>Acute Respiratory Disorders Syndrome</i>
TNF	: <i>Tumor Necrosis Factor</i>
AMI	: <i>Antibody-Mediated Immunity</i>
CMI	: <i>Cellular Mediated Immunity</i>
CMV	: <i>Cyto-Megalo-Virus</i>
UbC	: <i>Ubiquinone</i>
ORI	: <i>Origin of Replication</i>
ATP	: <i>Adenosine Tri Phosphate</i>
ADP	: <i>Adenosine Diphosphate</i>
GRAVY	: <i>Grand Average of Hydropathy</i>
BCR	: <i>B-Cell Receptor</i>
MHC	: <i>Major Histocompatibility Complex</i>
HLA	: <i>Human Leucocyte Antigen</i>
APC	: <i>Antigen Presenting Cell</i>
EMBL	: <i>European Molecular Biology Laboratory</i>
DBBJ	: <i>DNA Data Bank of Japan</i>
GISAID	: <i>Global Initiative on Sharing All Influenza Data</i>
IEDB	: <i>International Epitope DataBase</i>
NCBI	: <i>National Center of Biotechnology Information</i>
ITAM	: <i>Immunoreceptor Tyrosine Activation Motifs</i>
Ig	: <i>Immunoglobulin</i>
LNPs	: <i>Lipid Nanoparticles</i>

MCS : *Multiple Cloning Site*  
GST : *Glutathione S-Transferase*  
TEV : *Tobacco Etch Virus*  
M : *Membrane*  
S : *Spike*  
E : *Envelope*  
N : *Nucleocapsid*

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Sejak awal abad ke 21 dunia sudah beberapa kali mengalami beberapa kali pandemi diantaranya pandemi SARS, MERS, Flu Babi, Ebola dan yang saat ini masih terjadi yakni COVID 19. Namun secara spesifik pada famili coronaviridae sudah menyebabkan dua pandemi skala besar, yaitu *Severe Acute Respiratory Syndrome* (SARS) dan *Midle East Respiratory Syndrome* (MERS). Tahun 2002 merupakan awal dari dimulainya pandemi SARS yang awal muncul di Tiongkok yang mana diawali oleh SARS-coronavirus (SARS-CoV) dengan total jumlah 8000 an kasus. Sementara itu MERS terjadi pada tahun 2012 yang disebabkan oleh MERS-coronavirus (MERS-CoV) merebak pertama kali di kawasan Timur Tengah dengan total jumlah kasus 1000 an kasus dengan total akumulasi kasus kurang lebih 10000 kasus. Mortalitas (angka kematian rata-rata) SARS sekitar 10% sedangkan MERS lebih tinggi yakni sekitar 40%. Siklus hidup dari SARS-CoV-2 dimulai saat protein Spike (S) mulai berikatan dengan reseptor *Angiotensin Converting Enzyme – 2* (ACE-2) di dalam sel inang. Kemudian partikel virus akan menggunakan reseptor sel endosom untuk masuk ke dalam sel dan difasilitasi oleh *Transmembrane serine protease* (TMPRSS2) (McCoy et al., 2020).

COVID 19 diduga memiliki kesamaan genetik dengan SARS dan MERS-CoV yang pernah mengakibatkan pandemi beberapa tahun yang lalu. Namun setelah melalui evaluasi

genomik yang dilakukan di Tiongkok menunjukkan kesamaan sebesar 99% yang menunjukkan adanya suatu virus baru yang berarti virus ini termasuk dalam kelompok bersifat lestari (conserved) dan memiliki kesamaan dengan *bat-derived severe acute respiratory syndrome (SARS)-like coronaviruses* sebesar 79%. SARS dan MERS sempat menyebabkan epidemi di Hongkong dan juga negara Timur Tengah. Proses infeksi COVID 19 tidak jauh berbeda dengan SARS-CoV yang pernah menjadi epidemi sebelumnya (Al-Tawfiq, 2020). Pada manusia, virus ini menginfeksi melalui saluran pernafasan khususnya alveoli pada paru-paru. SARS-CoV-2 akan berikatan dengan reseptor dan membentuk jalur untuk masuk ke dalam sel dan glikoprotein yang terdapat pada ujung selubung akan mengikat pada reseptor tersebut. Diperkirakan virus ini berikatan dengan *Angiotensin Converting Enzyme 2 (ACE 2)* sebagai reseptor masuk dan kemudian akan mulai terjadi duplikasi materi genetiknya, sintesis protein yang dibutuhkan dan selanjutnya akan terbentuk virion baru yang muncul di permukaan sel (Temsah et al., 2020).

Mekanisme infeksi COVID-19 tidak berbeda jauh dengan SARS-CoV yang pernah menjadi pandemi di wilayah Timur Tengah beberapa waktu yang lalu. Pada manusia, virus ini menginfeksi saluran pernapasan khususnya alveoli pada paru-paru. Berdasarkan beberapa kasus lainnya, dilaporkan bahwa SARS-CoV-2 menginfeksi saluran pencernaan dibagian sel epitel gaster, duodenum dan rektum (Xiao et al., 2020). SARS-CoV-2 akan berikatan dengan reseptor dan membuat jalur masuk ke dalam sel. Glikoprotein yang ada dan terdapat pada *envelope*

*spike* virus akan berikatan dengan reseptor. Nantinya di dalam sel virus akan melakukan duplikasi dan replikasi materi genetik serta mensintesis protein-protein yang dibutuhkan, selanjutnya akan membentuk virion-virion baru yang muncul di permukaan sel. (Zhang *et al.*, 2020).

Proses identifikasi COVID-19 bisa melalui beberapa cara antara lain uji PCR (*Polymerase Chain Reaction*), tes antibodi dan tes antigen. Tes PCR menjadi tes acuan untuk mendeteksi ada atau tidaknya COVID-19 pada manusia. PCR adalah suatu metode pemeriksaan yang dilakukan dengan mendeteksi keberadaan materi genetik dari sel, bakteri ataupun virus. Identifikasi PCR ini dapat dilakukan dengan mengambil sampel dari pasien berupa dahak ataupun cairan dari nasofaring, orofaring atau paru-paru. Pengambilan sampel biasanya dilakukan dengan metode usap (*Swab*). Kemudian terdapat identifikasi berdasarkan tes antibodi atau serologi untuk menentukan pernah atau tidaknya seseorang terinfeksi SARS-CoV-2. Tes ini sering dilakukan untuk mengukur respon imun humoral (IgM dan IgG) seseorang terhadap SARS-CoV-2. Namun tes antibodi atau serologi ini tidak bisa digunakan untuk diagnosis SARS-CoV-2 akan tetapi bisa dilakukan sebagai *tracing* untuk memutus penyebaran COVID-19 (Gunardi, 2021).

Proses virulensi dari virus corona ini berhubungan dengan protein struktural dan protein non struktural. Kedua jenis protein inilah yang nantinya mampu memanipulasi dan mencegah respon imun *innate*. Pada virus corona terdapat gen yang berperan dalam proses transkripsi dan replikasi seperti ORF1a

dan ORF1b yang saling tumpang tindih. Kurang lebih terdapat 15 protein non-struktural yang dikode oleh ORF, antara lain NSP 1 (Pensabotase), NSP 3 (Pengurai), NSP 4 dan NSP 6 (Pembuat gelembung droplet), NSP 7 8 dan NSP 12 (Memperbanyak RNA), NSP 10 (Kamouflage), NSP 13 (Pengurai RNA), NSP 14 (Pengoreksi) dan NSP 15 (Pembersih sisa RNA). Bagian 1/3 dari rangkaian RNA virus yang tidak ikut berperan dalam replikasi ataupun transkripsi mengkode 4 protein struktural seperti protein spike (S), protein membran (M), protein envelope (E) dan protein nukleokapsid (N) (Afzal, 2020).

Berkembangnya imunitas terhadap suatu patogen melalui infeksi alami merupakan proses bertahap yang biasanya berlangsung selama 1-2 pekan. Tubuh akan segera merespon infeksi virus ataupun antigen lainnya dengan respon bawaan (*innate*) yang bersifat umum dimana makrofag, neutrofil dan sel dendrit akan memperlambat perkembangan virus dan dapat mencegah virus untuk bereplikasi ataupun menimbulkan suatu gejala (McKechnie dan Blish, 2020). Respon umum ini diikuti oleh respon adaptif di mana tubuh memproduksi antibodi yang spesifik mengikat tubuh tersebut. Antibodi ini merupakan protein yang disebut imunoglobulin dan tubuh akan memproduksi sel T yang mengenali dan mengeliminasi sel-sel lain yang terinfeksi virus tersebut (imunitas seluler). Respon adaptif gabungan ini dapat membersihkan virus dari tubuh dan jika respon ini cukup kuat dapat mencegah berkembangnya suatu penyakit yang parah ataupun reinfeksi akibat virus yang sama. Proses ini sering kali diukur berdasarkan ada atau tidaknya antibodi di dalam darah.

Vaksin menjadi salah satu solusi terbaik untuk meredam pandemi COVID-19. Pengembangan vaksin saat ini masih terus dikembangkan meskipun beberapa perusahaan bioteknologi sudah bisa memproduksinya. Terdapat beberapa alasan vaksin masih terus dikembangkan termasuk mutasi dari virus itu sendiri. (Ahmadpoor & Rostaing, 2020).

Pengobatan atau terapi yang spesifik untuk COVID 19 masih belum ditemukan. Saat ini yang tersedia masih berupa terapi simptomatik dan oksigenasi, adapun beberapa obat yang digunakan secara klinis untuk terapi COVID 19 antara lain adalah remdesivir, klorokuin, lopinavir, ritonavir, favipiravir, umivenovir dan osletamivir meskipun sebenarnya belum diketahui secara pasti mekanisme obat tersebut sebagai antivirus terhadap SARS CoV-2. Klorokuin dan hidroklorokuin mampu digunakan sebagai terapi COVID-19 karena meningkatkan pH endosom dan menghambat glukosilasi reseptor ACE-2 sehingga mengganggu ikatan virus dengan reseptor. Remdesivir sering juga digunakan karena obat ini mampu menghambat proses replikasi virus melalui terminasi prematur transkripsi RNA dan juga obat ini sudah disetujui oleh FDA dibuktikan dengan pengujian secara *in-vitro*. Terakhir, terdapat terapi plasma konvaselen yang dimaksud disini adalah plasma yang berasal dari donor sebelumnya dan telah dinyatakan sembuh dari COVID-19. Plasma *convalescent* dapat mengandung antibodi terhadap SARS-CoV-2 dan membantu menekan virus serta respon peradangan. Pasien penerima plasma *convalescent* dapat memiliki titer antibodi yang lebih tinggi dari SARS-CoV-2 lebih memiliki kondisi klinis yang

lebih bagus dibandingkan dengan titer yang lebih rendah jika diberikan pada pasien non-intubasi dalam 72 jam setelah diagnosis COVID-19 (BPOM, 2020).

Berkaca pada proses terapi untuk pasien COVID-19 yang tergolong mahal dan membutuhkan penelitian lebih lanjut, maka upaya lain yang dilakukan adalah menemukan obat (vaksin) atau penawarnya seperti hadis berikut.

حَدَّثَنَا مُحَمَّدُ بْنُ الْمُثَنَّى حَدَّثَنَا أَبُو أَحْمَدَ الزُّبَيْرِيُّ حَدَّثَنَا  
عُمَرُ بْنُ سَعِيدِ بْنِ أَبِي حُسَيْنٍ قَالَ حَدَّثَنِي عَطَاءُ بْنُ أَبِي  
رَبَاحٍ عَنْ أَبِي هُرَيْرَةَ رَضِيَ اللَّهُ عَنْهُ عَنِ النَّبِيِّ صَلَّى اللَّهُ عَلَيْهِ  
وَسَلَّمَ قَالَ مَا أَنْزَلَ اللَّهُ دَاءً إِلَّا أَنْزَلَ لَهُ شِفَاءً

*Telah menceritakan kepada kami [Muhammad bin Al Mutsanna] telah menceritakan kepada kami [Abu Ahmad Az Zubairi] telah menceritakan kepada kami [Umar bin Sa'id bin Abu Husain] dia berkata; telah menceritakan kepadaku [Atha` bin Abu Rabah] dari [Abu Hurairah] radliallahu 'anhu dari Nabi shallallahu 'alaihi wasallam beliau bersabda: "Allah tidak akan menurunkan penyakit melainkan menurunkan obatnya juga." (HR. Bukhari no. 5246).*

Razali (2021) menyebutkan bahwa hadis tersebut adalah hadis taqriri dan menjelaskan bahwa Allah SWT tidak akan menurunkan suatu penyakit tanpa menurunkan obatnya juga. Hadis berikut juga dapat dijadikan sebagai landasan syara' untuk penelitian dalam mencari obat baru untuk tujuan mengobati dan mencegah. Berdasarkan hadis tersebut, penelitian ini berupaya menggunakan metode pemetaan peptida (epitope) pada SARS-CoV-2 untuk kemudian dikembangkan menggunakan plasmid

DNA Rekombinan sebagai kandidat vaksin. Menurut (Makmun & Hazhiyah, 2020) berbagai metode telah digunakan dalam pengembangan vaksin COVID 19 diantaranya vaksin DNA, vaksin RNA, vaksin berbasis vektor virus, vaksin inaktif, vaksin hidup yang dilemahkan dan vaksin protein rekombinan. Salah satu cara untuk mendesain kandidat vaksin adalah dengan mempelajari epitope yang menjadi bagian dari antigen untuk berikatan dengan reseptor. Epitope merupakan bagian dari protein pada sisi antigen yang dapat memicu aktifnya sistem kekebalan tubuh dan juga merupakan bagian yang dapat berikatan dengan antibodi. Epitope terdiri atas epitope sel T dan Epitope Sel B, sel B bertugas untuk membentuk antibodi yang sesuai untuk kemudian melemahkan antigen yang masuk sedangkan sel T berfungsi untuk membunuh sel ataupun antigen yang menghasilkan atau terdapat pada epitope.

Proses pembuatan vaksin konvensional merupakan penelitian yang memakan biaya mahal dan waktu yang lama. Hal ini dikarenakan vaksin konvensional seperti vaksin yang dilemahkan dan diinaktivasi membutuhkan biaya mahal untuk percobaan dalam laboratorium yang berbasis *wet lab*. Namun saat ini telah dikembangkan berbagai software ataupun platform yang memungkinkan perancangan bisa dengan memanfaatkan perangkat (*tool*) bioinformatika untuk penemuan kandidat epitope dan konstruksi plasmid vaksin sehingga akan mengurangi penggunaan dana yang besar dalam tahapan penemuan dan simulasi untuk menguji antigenisitas dan alergenisitas kandidat vaksin pada tahap awal. Penelitian ini memiliki keunggulan yakni

dengan memanfaatkan database dan dianalisis menggunakan perangkat komputer. Selain itu, penelitian ini memanfaatkan sekuen peptida dengan harapan tidak menimbulkan efek samping yang serius agar didapatkan hasil yang maksimal.

## 1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini antara lain:

1. Manakah sekuen epitope terbaik yang dianalisis berdasarkan berat molekul, nilai GRAVY (*Grand Average of Hydropahicoty*), uji alergenitas, uji antigenitas dan topologi membran?
2. Bagaimanakah konstruksi plasmid (pcDNA) melalui teknologi rekombinan yang nantinya akan disisipkan pada bakteri *E. coli*?

## 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dilakukannya penelitian ini adalah

1. Untuk mengetahui manakah sekuen epitope terbaik berdasarkan parameter nilai hidrofobitas atau *Grand Average of Hydropahicoty* (GRAVY), antigenitas, alergenitas, dan topologi membran.
2. Untuk mengetahui konstruksi dan sisi insersi pada plasmid (pcDNA) rekombinan menggunakan vektor *E. Coli*.

#### **1.4 Batasan Masalah**

Batasan masalah pada penelitian ini adalah

1. Epitope sel T pada SARS-CoV-2.
2. Parameter yang digunakan antara lain alergenitas, antigenisitas, nilai GRAVY (*Grand Average of Hydropahicity*), uji kebaruan dan topologi.
3. Vektor yang digunakan adalah bakteri *E. coli*.

#### **1.5 Manfaat Penelitian**

Manfaat penelitian ini adalah membantu mengkonstruksi vaksin *self-amplifying* RNA (SaRNA) yang memanfaatkan plasmid yang nantinya akan disisipkan pada bakteri sehingga mampu meminimalisir waktu dan biaya dengan menggunakan beberapa parameter terpilih seperti nilai GRAVY, uji antigenisitas, uji alergenitas, uji kebaruan dan topologi untuk membuat vaksin dengan memanfaatkan teknologi rekombinan yang sedang berkembang pesat.

## BAB II

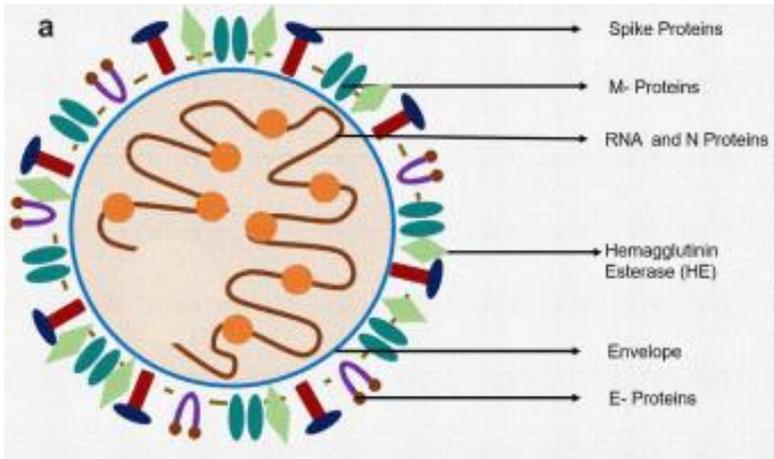
### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Coronavirus Disease 2019 (COVID-19)

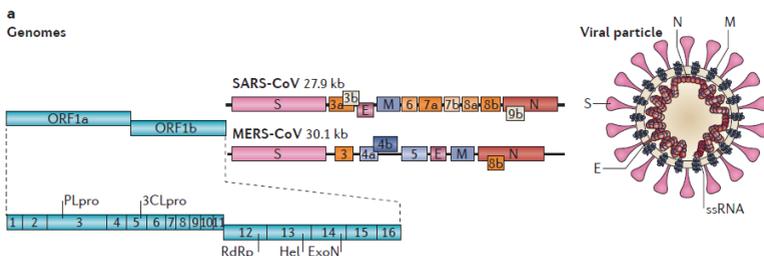
Corona dalam bahasa latin mempunyai arti yakni mahkota, hal ini didasarkan pada bentuknya yang berpermampilan menyerupai sebuah mahkota ketika diamati dibawah mikroskop. Coronavirus termasuk keluarga dari *coronaviridae* dan ordo *nidovirales*. Ciri khas dari *coronavirus* ini adalah memiliki terbungkus, berbentuk bulat atau pleuromorfik dengan diameter 100 nm dan ukuran partikel 60-140 nm, serta memiliki sekitar 30 kb genom RNA (rantai tunggal) (Marzuki *et al.*, 2021). Terdapat berbagai kelompok virus korona yang mana diantaranya adalah alfa, beta, gamma dan delta. Kelompok klasifikasi dari beta coronavirus yaitu SARS-CoV, HKU-1, MERS-CoV, *Human coronavirus-NL63* (HcoV-NL63) dan saat ini yang merebak diseluruh dunia SARS-CoV-2. Sedangkan dari alfa coronavirus yaitu *Human coronavirus-229E* (HcoV-229E) dan *Human coronavirus-OC43* (HcoV-OC43) (Lingeswaran *et al.*, 2020).

Pandemi COVID 19 disebabkan oleh sebuah novel coronavirus yang dikenal dengan *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2* (SARS-CoV-2) yang meana diketahui menyerang sistem pernapasan dan telah ditetapkan sebagai **PANDEMI** oleh WHO. Kejadian ini pertama kali dilaporkan dan terjadi di kota Wuhan, Provinsi Hubei, Tiongkok pada 8 Desember 2019 yang terus menyebar dengan cepat ke seluruh dunia dan menimbulkan kekhawatiran yang serius. Penelitian

pertama kali dilakukan untuk mengetahui penyebab terjadinya wabah di Wuhan dengan memanfaatkan rangkaian genom dari SARS-CoV-2 yang sebelumnya berhasil diisolasi dari pasien yang terinfeksi. Penelitian ini dilakukan guna mengetahui adanya hubungan atau kekerabatan yang dekat antara SARS-CoV-2 dengan MERS-CoV yang mana sempat menjadi pandemi beberapa tahun sebelumnya. Rangkaian genom SARS-CoV-2 ini akan dibandingkan dengan rangkaian genom dari SARS-CoV dan MERS-CoV dan hasilnya terdapat beberapa rangkaian genom SARS-CoV-2 yang diteliti nyaris identik satu sama lain dan SARS-CoV-2 memiliki rangkaian genom yang lebih homolog (mirip) dengan SARS-CoV dibandingkan dengan MERS-CoV. Penelitian lebih lanjut berlangsung menggunakan analisis filogenetik untuk menemukan asal-usul Covid-19 dan apakah secara genetik terkait dengan famili *coronaviridae* lainnya. Hasil penelitiannya menunjukkan bahwa SARS-CoV-2 masuk ke dalam genus  $\beta$ -coronavirus dan subgenus sama yang mana menyebabkan epidemi (wabah) *Severe Acute Respiratory Syndrome* (SARS) pada 2002-2004 silam, yaitu *Sarbecovirus*. Kemudian *International Virus Classification Commission* memberikan nama temuan virus ini sebagai SARS-CoV-2 dan setelah itu oleh WHO ditetapkan sebagai kasus **PANDEMI** yang mana kasusnya sudah menyebar hampir keseluruhan dunia (Li et al., 2020).



**Gambar 2.1 Struktur SARS-CoV-2 (Vallamkondu *et al.*, 2020)**



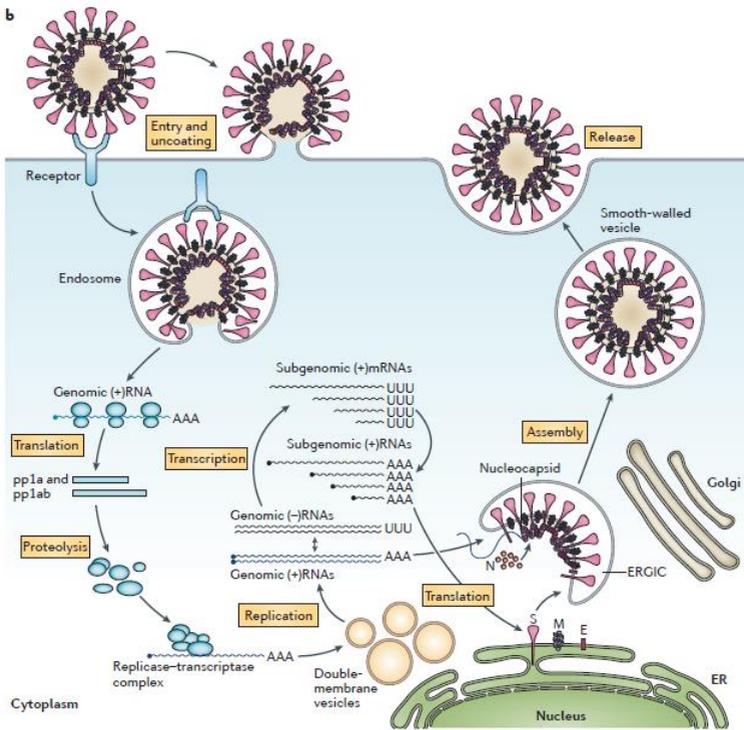
**Gambar 2.2 Struktur genom dan fenotipe SARS-CoV&MERS-CoV (de Wat *et al.*, 2016)**

## 2.2 Replikasi COVID-19

Replikasi SARS-CoV-2 serupa dengan semua virus dalam ordo Nidovirales, SARS-CoV dan MERS-CoV yang memiliki strategi unik yakni dua pertiga RNA virus diterjemahkan menjadi dua poliprotein besar dan sisa genom virus ditranskripsikan menjadi satu set mRNA subgenomik. Poliprotein dibelah oleh dua protease, yakni papainlike protease (Plpro; 3CLpro

sesuai dengan nsp3) dan 3C-like protease (3Clpro; sesuai dengan nsp5). Protein nsp mengatur ulang membran menjadi tempa berlangsungnya replikasi dan transkripsi virus dan menjadi vesikel membran ganda. Salah satu fitur unik dari virus corona adalah fungsi exoribonuclease (ExoN) dari nsp14 yang menyediakan kemampuan *proofreading* yang diperlukan untuk mempertahankan genom RNA yang besar tanpa akumulasi mutasi yang merugikan, SARS-CoV dan MERS-CoV masing-masing mentranskripsikan 12 dan 9 RNA subgenomik dan mengkode empat protein struktural yaitu Spike (S), Envelope (E), Membrane (M) dan Nukelokapsid (N) serta beberapa protein tambahan yang tidak terlibat dalam replikasi virus tetapi dapat menimbulkan respon imun pada sel inang (Bergmann & Silverman, 2020).

*Envelope spike glycoprotein* mengikat reseptor selulernya, yaitu *angiotensin-converting enzyme 2* (ACE 2) untuk SARS-CoV dan dipeptidyl peptidase 4 (DPP4) untuk MERS-CoV. Setelah fusi membran, baik secara langsung dengan membran sel inang atau dengan membran endosom genom RNA masuk ke dalam sitoplasma dan RNA tidak dilapisi untuk memungkinkan penerjemahan dua poliprotein, transkripsi RNA subgenomik dan replikasi virus. Envelope glikoprotein yang terbentuk masuk ke dalam membran RE atau Golgi; RNA genom dan protein nukleokapsid bergabung membentuk nukleoplasmid dan partikel virus bertunas ke kompartemen antara RE Golgi. Vesikel yang mengandung virus mengikat membran plasma untuk melepaskan partikel virus baru (de Wat *et al.*, 2016).



**Gambar 2.3 Replikasi SARS-CoV-2 (de Wat et al., 2016)**

## 2.3 Patogenesis COVID-19

Patogenesis dari Covid 19 belum diketahui secara pasti. Namun menurut Mason, (2020) menyatakan bahwa patogenesis dari SARS-CoV-2 terjadi dalam beberapa tahap, yaitu:

**Tahap 1:** Keadaan asimtomatik (awal 1-2 hari infeksi)

SARS-CoV-2 yang masuk ke dalam saluran pernapasan kemungkinan besar berikatan dengan epitel di bagian rongga hidung dan akan mulai bereplikasi. Sementara itu ACE 2 menjadi reseptor utama untuk SARS-CoV-2 dan SARS-CoV, berdasarkan data *in vitro* dengan SARS-CoV menunjukkan bahwa sel bersilia

adalah sel primer yang terinfeksi di dalam saluran udara penghantar. Namun, perlu banyak penelitian lagi karena RNA sel tunggal menunjukkan tingkat laju ekspresi reseptor ACE2 yang rendah dalam melakukan sel saluran pernapasan dan tidak ada preferensi jenis sel yang jelas. Selain itu terdapat penyebaran virus secara lokal tetapi respon imun bawaan terbatas. Pada tahap ini keberadaan virus sudah bisa dideteksi dengan swab hidung. Meskipun beban virus mungkin rendah akan tetapi orang-orang pada tahap 1 dapat menularkan pada sesama. Nilai RT-PCR untuk viral load mungkin berguna untuk memprediksi viral load dan infeksiivitas berikutnya serta perjalanan klinis. Mungkin penyebaran yang luas dapat dideteksi dengan nilai RT-PCR agar nomor siklus RT-PCR berguna.

**Tahap 2:** Gangguan pada jalan napas bagian atas (beberapa hari berikutnya)

Pada tahap 2 virus menyebar dan bermigrasi ke dalam saluran pernapasan di sepanjang saluran udara dan dipicu kuat oleh respons imun bawaan. Swab hidung atau dahak akan menghasilkan virus (SARS-CoV-2) serta penanda awal dari respon imun bawaan. Saat ini COVID 19 sudah terlihat secara klinis dibuktikan dengan tingkat CXCL 10 (sitokin respon bawaan lainnya) dapat memprediksi perjalanan klinis berikutnya. CXCL 10 adalah gen responsif interferon yang memiliki rasio signal yang sangat baik dalam respons sel alveolar tipe II terhadap SARS-CoV dan influenza. CXCL 10 juga telah dilaporkan berguna sebagai penanda penyakit pada SARS. Menentukan respon imun bawaan inang dapat meningkatkan prediksi perjalanan penyakit

selanjutnya dan kebutuhan untuk pemantauan yang lebih agresif. Sekitar 80% pasien yang terinfeksi penyakit ini akan mengalami gejala nyeri ringan dan kebanyakan hanya terbatas pada saluran pernapasan bagian atas dan konduksi. Pasien ataupun orang-orang pada tahap 2 dapat dipantau dirumah dengan terapi simptomatik konservatif.

**Tahap 3:** Hipoksia, (*ground glass infiltrates*) dan berkembang menjadi ARDS (sesak napas berat)

Sekitar 20% dari pasien yang terinfeksi pada tahap 2 akan berkembang menjadi penyebab tahap 3 dan akan mengembangkan infiltrat paru dan beberapa diantaranya akan berkembang menjadi penyakit yang sangat parah. Perkiraan awal tingkat kematian dari tahap 3 adalah sekitar 2% tetapi juga tergantung pada usia. Angka kematian dan morbiditas dapat direvisi setelah prevalensi kasus ringan dan tanpa gejala didefinisikan dengan lebih baik. Kemudian virus mencapai unit pertukaran gas di paru-paru dan menginfeksi sel alveolar tipe B. Seseorang yang mengalami atau terjangkit SARS-CoV-2 kemungkinan mengalami toksin paru yang mereplikasi diri saat partikel virus yang dilepaskan menginfeksi sel tipe II di unit yang berdekatan. Selain itu, diduga area paru kemungkinan akan kehilangan sebagian besar sel tipe II dan jalur sekunder untuk regenerasi epitel akan dipicu. Biasanya sel tipe II adalah sel prekursor untuk sel tipe I. Urutan kejadian yang didalilkan ini telah ditunjukkan dalam model pneumonia influenza. Efek patologis SARS-CoV-2 adalah kerusakan alveoli oleh membran transparan yang kaya akan fibrin dan beberapa sel berinti banyak.

Dibandingkan dengan bentuk ARDS (sesak napas akut) lainnya,, penyembuhan luka yang tidak efektif dapat menyebabkan kerusakan jaringan dan fibrosis yang lebih parah. Pemulihan akan membutuhkan respon imun bawaan dan didapat yang kuat serta regenerasi epitel. Orang-orang lanjut usia sangat beresiko karena respon imun mereka yang berkurang dan kemampuan yang berkurang untuk memperbaiki epitel yang rusak. Orang lanjut usia juga telah mengurangi pembersihan mukosiliar dan ini memungkinkan virus menyebar ke unit pertukaran gas paru-paru dengan lebih mudah.

Infeksi dari virus atau antigen yang masuk mampu memproduksi reaksi imun yang berlebihan pada inang. Pada beberapa kasus, terjadi reaksi yang berlebihan dan disebut dengan “badai sitokin”. Badai sitokin merupakan kondisi dimana terjadi reaksi inflamasi berlebihan dan produksi sitokin yang cepat serta dalam jumlah yang banyak sebagai suatu respon adanya infeksi. Berkaitan dengan COVID-19, ditemukan adanya penundaan sekresi sitokin dan kemokin oleh sel imun *innate* dikarenakan blokade oleh *non-structural protein* (Nsp) virus. Selanjutnya hal ini menyebabkan terjadinya lonjakan sitokin pro-inflamasi dan kemokin (IL-6, TNF- $\alpha$ , IL-8, MCP-1, IL-1  $\beta$ , CCL 2, CCL 5 dan interferon) melalui aktivasi makrofag dan limfosit. Pelepasan sitokin nantinya akan memicu aktivasi sel imun adaptif seperti sel T, neutrofil dan sel NK, bersamaan dengan terus diproduksinya sitokin pro-inflamasi. Lonjakan sitokin pro-inflamasi yang cepat akan memicu terjadinya reaksi inflamasi pada jaringan paru yang menyebabkan kerusakan paru-paru pada

bagian epitel dan endotel. Kerusakan ini dapat berakibat pada terjadinya ARDS (sesak napas akut) dan kegagalan multi organ yang dapat menyebabkan kematian dalam waktu singkat.

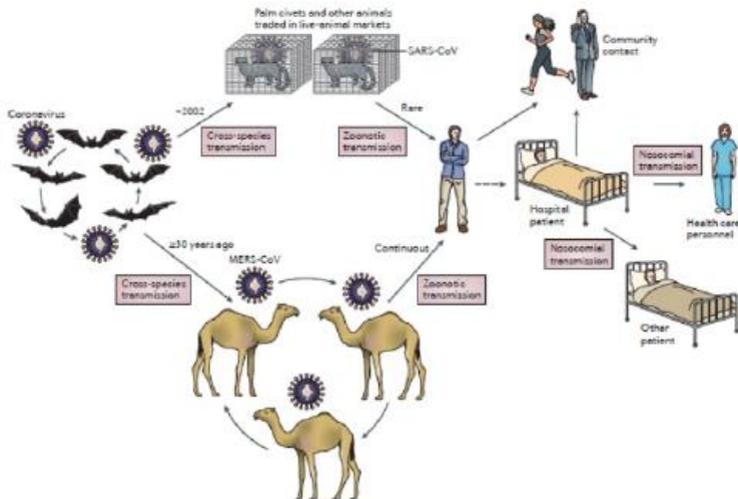
Seperti diketahui bahwa transmisi utama dari SARS-CoV-2 adalah melalui droplet. Akan tetapi terdapat kemungkinan lain terjadinya transmisi melalui *Fecal Oral*. Penelitian oleh Xiao dkk (2020) menunjukkan bahwa dari 73 pasien yang dirawat karena COVID-19 terdapat 53.42% pasien yang diteliti positif terdapat RNA SARS-CoV-2 pada fesesnya meskipun pada sampel pernafasan sudah menunjukkan hasil negatif (-). Lebih lanjut, penelitian juga membuktikan bahwa terdapat ekspresi ACE 2 yang berlimpah pada sel glandular gaster, duodenum dan rektum. Hal ini menunjukkan bahwa SARS-CoV-2 juga dapat menginfeksi saluran pencernaan dan kemungkinan juga bisa menular melalui transmisi *Fecal Oral*.

## **2.4 Penularan COVID-19**

Virus corona merupakan zoonosis (penyakit yang ditularkan oleh hewan ke manusia oleh hewan peliharaan ataupun liar) sehingga terdapat kemungkinan virus ini berasal dari hewan (kelelawar) dan ditularkan ke manusia. Penularan dari SARS-CoV-2 belum diketahui dengan pasti tetapi berdasarkan data filogenetik memungkinkan bahwa SARS-CoV-2 mirip dengan SARS-CoV dan MERS-CoV. Perkembangan lebih lanjut melalui beberapa penelitian menunjukkan bahwa terdapat penularan antar manusia yakni melalui droplet atau muncrat. Penyebaran SARS-CoV-2 biasanya ditemukan melalui droplet

(percikan) kemudian virus dapat masuk ke dalam mukosa (lapisan kulit dalam) pada mulut yang terbuka. Sebuah percobaan dilakukan untuk mengukur laju penularan berdasarkan masa inkubasi dan lamanya gejala pada pasien yang diisolasi. Menurut percobaan tersebut, ditemukan fakta bahwa penularan oleh satu pasien dapat menginfeksi 3 orang disekitarnya, namun diduga penularan selama masa inkubasi akan mengakibatkan waktu kontak yang lebih lama antar pasien dan menimbulkan resiko penyakit (Pei et al., 2020).

Penularan virus ini terjadi karena kontak antara satu individu dengan individu lain terutama melalui partikel droplet akibat bersin. Seseorang yang terkena COVID-19 dapat menimbulkan gejala ataupun tidak sama sekali sehingga menjadi sangat rawan ketika virus ini dapat menyebar melalui kontak fisik ataupun melalui udara sehingga pemakaian masker dan jaga jarak (*Social Distancing*) menjadi aturan wajib saat berada diluar rumah. Penyebaran COVID-19 berlangsung sangat cepat disebabkan adanya protein pada virus dan memiliki ridge lebih padat dibanding *Coronavirus* jenis lainnya sehingga mudah menempel pada sel manusia, sehingga spike protein SARS-CoV-2 akan masuk pada reseptor ACE-2 sel manusia yang menjadi pintu masuk dan nantinya virus akan mulai bereplikasi dan menginfeksi manusia dengan masa inkubasi 1-14 hari.

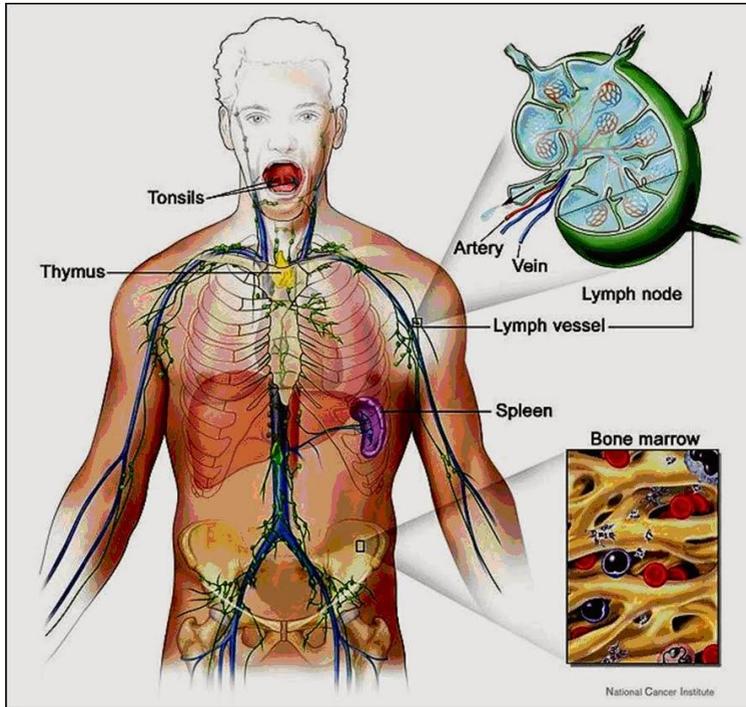


**Gambar 2. 4 Penularan MERS-CoV dan SARS-CoV (Liu et al., 2020)**

## 2.5 Sistem Imun (Respon Imun)

Respon imun merupakan mekanisme atau sebuah proses dalam makhluk hidup yang berperan melindungi tubuh melawan infeksi dengan mengidentifikasi dan mengenali patogen (benda asing). Respon imunitas ini bisa mendeteksi dan mengenali patogen mulai dari virus hingga parasit serta dapat membedakan dari sel dan jaringan normal yang berada didalam suatu makhluk hidup. Respon ini dimulai dengan deteksi yang merupakan proses rumit karena umumnya patogen mampu beradaptasi untuk menginfeksi tubuh. Sebagai suatu sistem yang kompleks dan rumit yang tersusun oleh sel-sel spesifik dan saling berkaitan, selain itu respon imun juga merupakan bentuk sistem sirkulasi terpisah dari pembuluh darah dan semuanya bekerja sama mengidentifikasi dan menghilangkan infeksi atau patogen

yang menyerang (Marliana dan Widhyasih, 2018). Bentuk dari sistem imun yang meliputi cairan limfa yang terdiri dari sel darah putih ini terletak hampir di seluruh tubuh dan dikenal dengan organ limfoid. Pembuluh limfe, kelenjar limfe dan organ limfoid memainkan peran penting dari sistem sirkulasi terpisah dan terdapat cairan limfe yang terdiri atas cairan bening dan sebagian besar berisi sel darah putih terutama limfosit. Cairan limfe ini mengandung sel darah putih yang berfungsi mengeliminasi patogen yang masuk ke tubuh, kemudian pembuluh getah bening ini mengumpulkan cairan getah bening (sel darah putih) lalu membawanya kembali ke peredaran darah. Fungsi kelenjar getah bening adalah untuk menyaring cairan getah bening dan memberikan media bagi sistem kekebalan untuk melindungi tubuh dari infeksi patogen selanjutnya (Sudiono, 2014).



**Gambar 2.5 Organ dan sistem imun** (Marliana & Widhyasih, 2018)

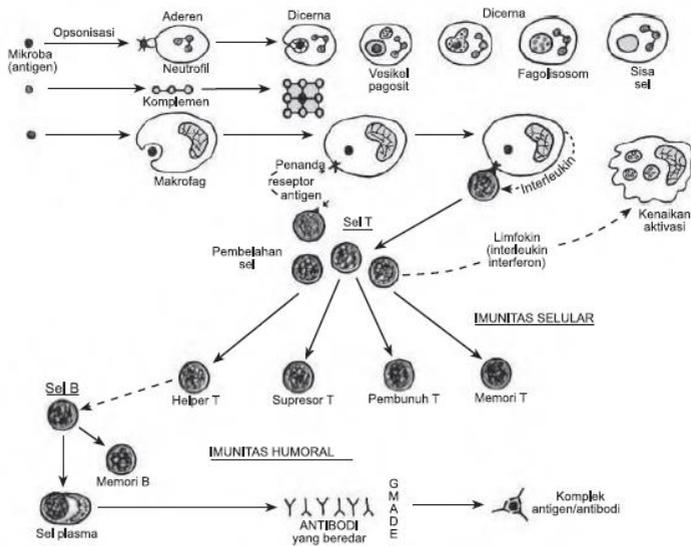
Respon imun digolongkan menjadi respon imun alami dan respon imun adaptif (spesifitas). Contoh komponen yang diklasifikasikan sebagai imunitas bawaan adalah sel fagosit (neutrofil, makrofag, monosit, natural killer) yang secara genetik diwariskan oleh orang tua ke anak-anak dan memiliki kemampuan untuk membunuh dan mengidentifikasi patogen. Sebaliknya, respon imun adaptif akan meningkat ketika terpapar oleh patogen dan otomatis akan aktif apabila respon imun alami tidak mampu mengeleminasi patogen. Respon imun adaptif (spesifik) sel T dan sel B merupakan komponen utama dan

berperan penting dalam menunjukkan adanya patogen yang berhasil melewati sistem imun bawaan. Kemampuan sel T dan sel B untuk mengidentifikasi struktur spesifik patogen dan membentuk sel memori untuk mengenali patogen memungkinkan sistem kekebalan adaptif untuk merespon dengan cepat dan efektif ketika terpapar kembali pada patogen yang sama. Oleh karena itu, perbedaan penting antara respon imun bawaan dan adaptif adalah respon imun adaptif lebih spesifik dan efektif terhadap patogen tertentu dan akan meningkat setiap kali bersentuhan ataupun terdapat kontak dengan patogen yang sama. Namun kedua respon imun ini dapat bekerja secara sistematis dalam beberapa UBCp, misalnya dengan melepaskan faktor perangsang sitokin untuk menghancurkan patogen (Sudiono, 2014).

### **2.5.1 Respons Imun *Innate*/ Non Spesifik/Alami**

Respon imun bawaan ini sudah ada sejak lahir dan akan terus berkembang mengenali patogen seiring bertambahnya usia untuk mengidentifikasi patogen dan merupakan komponen normal yang selalu ditemukan pada manusia sehat. Respon imun alami ini meliputi pertahanan fisik, biokimia, humoral dan seluler. Penamaan non spesifik dikarenakan respon imun ini tidak secara spesifik menyerang patogen tertentu. Respons imun alami ini berada pada garda pertahanan terdepan dalam menghadapi serangan patogen, sehingga dapat merespon secara langsung yang dapat dengan cepat menghilangkan patogen yang masuk ke dalam tubuh. Jumlahnya akan meningkat seiring dengan terjadinya infeksi dan jumlah sel darah putih akan meningkat

pada tahap penyakit kronis (akut). Respon imun alami ini dimediasi oleh serangkaian fagositosis kompleks, peradangan, aktivasi komplemen dan sel pembunuh alami (*natural killer*). Dibandingkan dengan respon imun adaptif, ketika terpapar lebih lanjut dengan patogen yang sama maka respon imun adaptif akan meningkat dan respon imun bawaan tidak akan berubah pada paparan berikutnya. Contoh reaksi imun bawaan adalah reaksi peradangan (inflamasi), reaksi ini bermula karena dirilisnya mediator jenis tertentu, seperti histamin yang dirilis oleh basofil dan sel mast, amina vasoaktif dilepaskan oleh trombosit dan anafilatoksin dari bahan-bahan pelengkap sebagai respon umpan balik dari sel mast dan basofil ) (Marliana&Widhyasih, 2018). .



**Gambar 2.6** Diagram imun non-spesifik dan spesifik setelah terserang patogen (Sudiono, 2014)

### 2.5.2 Respon Immun Adaptive

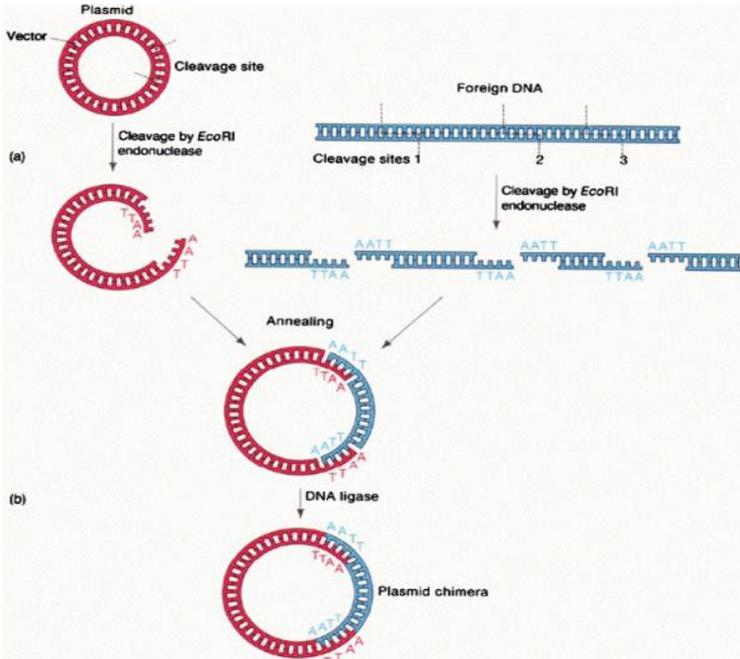
Umumnya, respon imun bawaan (aktivitas fagositik, *natural killer*, inflamasi) yang muncul sejak lahir dan hanya berlangsung selama beberapa jam pertama infeksi tidak dapat mengatasi patogen, sehingga menyebabkan infeksi oleh penyakit (patogen). Tubuh harus melawan resistensi patogen dengan mengaktifkan sistem imun adaptif (*immune response*) terhadap patogen. Respon imun adaptif dimediasi oleh limfosit dan mengaktifkan serta memicu proliferasi dan diferensiasi berbagai limfosit melalui AMI (respon imun yang dimediasi oleh antibodi) dan CMI (respon imun yang dimediasi oleh sel), sehingga menghasilkan sel T dan sel B untuk menghancurkan patogen yang menyerang. Setelah infeksi sembuh, sebagian besar limfosit spesifik antigen akan menjalani apoptosis (kematian sel terprogram) untuk menghilangkan limfosit yang tidak lagi dibutuhkan oleh tubuh manusia dan sebagian kecil limfosit akan berkembang lagi menjadi limfosit memori yang dapat hidup lama dan bertahan dalam sirkulasi darah manusia serta selalu waspada sebelum kontak pertama dengan patogen tertentu. Ketika terkena patogen yang sama untuk kedua kalinya, maka patogen tersebut dapat dihancurkan dengan sangat cepat dan efektif oleh sel-sel memori dan individu tersebut bisa dikatakan “kebal” bila memiliki kekebalan terhadap patogen atau memiliki kekebalan tertentu. Namun patogen seringkali dapat merancang berbagai strategi seperti mutasi atau mengurangi imunogenisitas antigen serta mampu menipu sistem pertahanan tubuh (Helbert, 2006).

## **2.6 Teknologi Rekombinan (DNA Rekombinan)**

Pengembangan teknologi pembuatan vaksin saat ini sudah memasuki tahap yang lebih modern dengan pendekatan yang lebih molekuler. Saat ini vaksin yang sudah beredar kebanyakan merupakan vaksin yang dibuat secara konvensional atau masih menggunakan antigen (virus atau bakteri) yang dikhawatirkan masih menimbulkan efek alergi pada manusia. Oleh karena itu pendekatan teknologi vaksin rekombinan ini diharapkan mampu menjadi solusi untuk mengurangi efek dari alergi yang ditimbulkan. Pada dasarnya, teknologi rekombinan dilakukan melalui proses memasukkan DNA atau gen asing ke dalam sel inang dengan bantuan vektor ataupun plasmid. Tujuan dari penyisipan DNA atau gen asing adalah untuk membantu mereplikasi gen yang sama atau DNA rekombinan yang dapat bereplikasi atau memperbanyak diri di dalam inang (Susmiarsih&Putih, 2018).

Teknologi rekombinan ini meliputi empat tahap utama diantaranya konstruksi DNA, transformasi, seleksi sel inang hasil klon dan isolasi klon DNA. Beberapa bagian yang penting dalam teknologi rekombinan antara lain adalah sumber DNA, sel inang dan vektor yang akan digunakan. Vektor kloning yang sering digunakan adalah plasmid yang berbentuk sirkuler dan nantinya akan dipotong oleh enzim restriksi, selanjutnya gen asing akan disisipkan ke dalam plasmid. Penggunaan bakteri sering dipilih dikarenakan bakteri merupakan organisme yang mampu memperbanyak diri dalam waktu yang singkat secara singkat atau yang biasa disebut pembelahan biner (Unnikrishnan et al.,

2012). Beberapa spesies bakteri sering digunakan sebagai inang, antara lain *Eschericia coli*, *Bacillus subtilis* dan *Saccharomyces cerevisiae*. Namun spesies *E. coli* sering digunakan dalam teknologi rekombinan karena mudah diperbanyak, banyak strain, mudah ditangani dan dapat menerima banyak jenis vektor (plasmid). Penggunaan enzim juga sangat penting untuk menghasilkan kloning yang baik dan sesuai target. Terdapat dua jenis enzim yang digunakan dalam teknologi rekombinan, yaitu enzim (endonukelase) restriksi dan ligase. Enzim restriksi digunakan untuk memotong bagian dari plasmid sirkuler hingga nantinya gen asing bisa disisipkan. Setiap enzim restriksi memiliki lokasi pengenalan pembelahan (potong) yang spesifik dan hasil pembelahan enzim restriksi terbagi menjadi dua jenis, yaitu ujung tumpul (*blunt*) dan ujung lengket (*overhang*). Pada saat yang sama, ligase digunakan untuk menggabungkan fragmen DNA (DNA plasmid dan DNA target) dengan membentuk ikatan diester (Pereira et al., 2014).

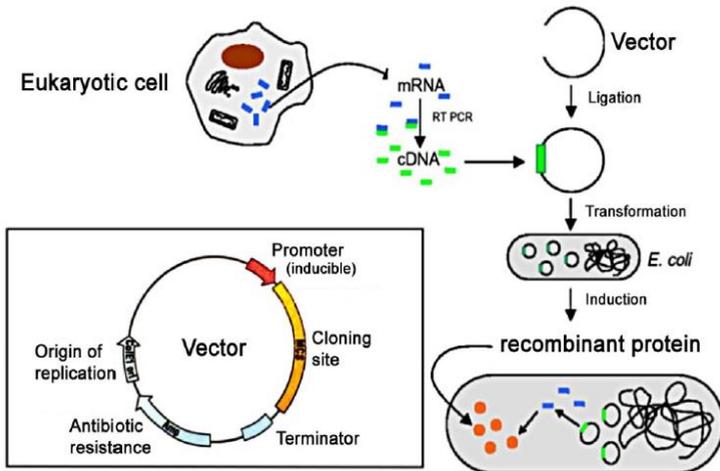


**Gambar 2.7 Enzim Restriksi dan Enzim Ligase** (Susmiarsih, 2018)

Penggunaan plasmid sebagai suatu produk bioteknologi terbaru merupakan suatu terobosan yang saat ini patut untuk dipertimbangkan karena bisa menekan biaya menjadi lebih murah dibandingkan dengan metode konvensional yang saat ini masih banyak dikembangkan. Penambahan beberapa elemen juga diperlukan dalam konstruksi plasmid rekombinan untuk tujuan perbanyakkan meliputi promoter elemen *replication origin*/ORI, terminator dan gen penanda. Selain itu, diperlukan unsur lain seperti enzim restriksi untuk memutus ikatan fosfodiesterase, enzim yang memodifikasi urutan ujung 3' ataupun 5', ligase yang menggabungkan hasil potongan (fragmen) dan topoisomerase

yang mengubah konformasi ikatan kovalen DNA plasmid menjadi kumparan (*super coil*). Selain faktor diatas ada beberapa penambahan promoter-promoter yang memulai proses terjadinya sebuah ekspresi, beberapa promoter yang digunakan antara lain *Human Cytomegalovirus* (CMV), promoter viral (SV40), promoter seluler *human ubiquitin C* (UbC) atau *human elongation factor 1* (EF-1) (Kumar et al., 2013).

Selanjutnya teknologi rekombinan sering digunakan untuk menghasilkan hasil rekombinan lain berupa protein rekombinan yang diharapkan bisa meminimalisir efek negatif yang sebelumnya ditimbulkan oleh plasmid rekombinan. Pemilihan sistem ekspresi bakteri menjadi paling umum digunakan untuk menghasilkan protein rekombinan, sistem ekspresi prokariotik, operon menjadi unit transkripsi yang terdiri atas promotor, operon dan terminator (gen regulator dan gen struktural). Contoh gen regulator yang ada pada sistem ekspresi prokariot adalah gen *lacI* dan tiga gen struktural yaitu gen *lacZ*, *lacY* dan *lacA*. Bakteri *E. coli* sering digunakan karena bakteri ini cenderung mudah diubah (manipulasi), murah dan tingkat ekspresi yang tinggi. Akan tetapi, penggunaan *E. coli* memiliki kelemahan termasuk perotein pasca translasi, *non-modifiable* dan protein berlebih yang tidak optimal untuk ekspresi protein mamalia (Unnikrishnan et al., 2012). Oleh karena itu dilakukan eksplorasi dengan menggunakan beberapa galur lain dari *E. coli*. *E. coli* galur BL21 merupakan vektor yang terbukti dapat digunakan untuk menjadi aplikasi ekspresi protein rekombinan. Galur BL21 ini merupakan galur yang kuat dan mumpuni (Sørensen & Mortensen, 2005).



**Gambar 2.8** Teknologi DNA rekombinan menggunakan vektor bakteri (Susmiarsih, 2018)

### 2.6.1 Pemanfaatan Bakteri Sebagai Sel Inang

Bakteri *E.coli* menjadi salah satu jenis bakteri yang sering digunakan dalam proses transformasi. Hal ini berkaitan dengan proses replikasinya yang cenderung cepat, yakni berkisar 20-30 menit sekali. Selain itu *E.coli* dapat tumbuh pada media sederhana ataupun khusus dan sangat mudah untuk dikulturkan. Bakteri *E.coli* tergolong bakteri Gram negatif dengan bentuk menyerupai batang. Jenis bakteri Gram negatif ini dicirikan dengan kandungan peptidoglikan yang lebih sedikit dibandingkan dengan bakteri Gram positif. Cara lain untuk membedakan antara bakteri Gram negatif dengan bakteri Gram positif adalah ketika diberi pewarna cat Gram. Ketika diberi pewarna violet dan iodine maka akan tetap berwarna ungu kebiruan, akan tetapi ketika diberi alkohol maka warna ungu kebiruan akan luntur. Setelahnya

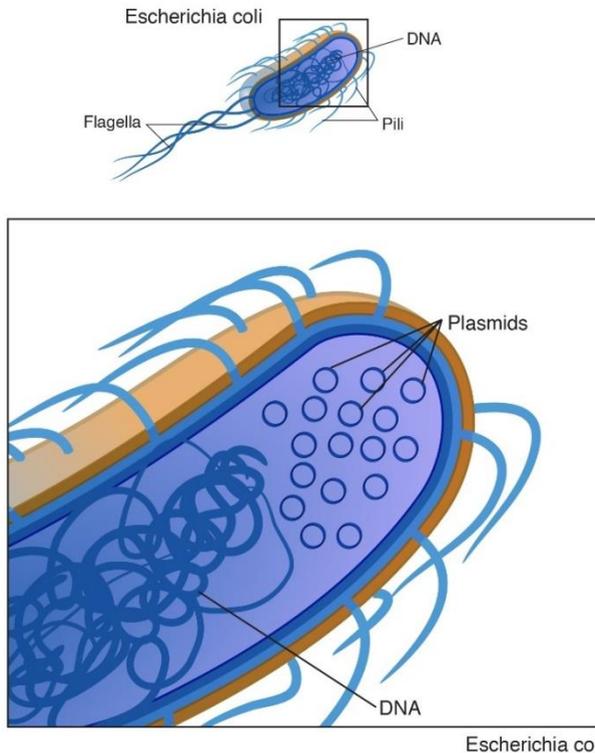
ketika diwarnai dengan safranin akan berwarna merah (Tortora *et al.*, 2007).

Bakteri *E.coli* mampu hidup pada suhu berkisar 5-55<sup>0</sup>C dengan suhu optimum untuk tumbuh 37<sup>0</sup>C dengan sifat aerobik dan anaerobik fakultatif. Koloni yang tumbuh pada medium pertumbuhan akan berbentuk bulat, berwarna putih keabu-abuan dan memiliki permukaan yang rata. Bakteri *E.coli* mampu memfermentasi glukosa, galaktosa, fruktosa, maltosa, xilosa, laktosa, arabinosa dan manitol dengan menghasilkan asam dan gas. Sementara itu sukrosa hanya akan menghasilkan asam. Kemampuan *E.coli* dalam dalam fermentasi glukosa dikarenakan terdapat enzim heksokinase. Enzim ini nantinya akan menambahkan satu gugus fosfat ke glukosa menjadi glukosa-6-fosfat dan menghidrolisis ATP menjadi ADP. Glukosa-6-fosfat akan digunakan dalam glikolisis (Yoon *et al.*, 2009).

### **2.6.2 Plasmid**

Plasmid pertama kali dikembangkan oleh Joshua Lederberg pada tahun 1952. Plasmid adalah molekul DNA ekstrakromosomal dengan ukuran berkisar kurang dari 1 kb hingga lebih dari 200 kb. Plasmid biasanya molekul bulat (sirkuler), beruntai ganda dan tertutup dengan ikatan kovalen. Plasmid juga dapat ditemukan pada eukariota seperti pada yeast. Plasmid hanya mengandung beberapa gen dan digunakan oleh bakteri pada keadaan tertentu, sehingga pada saat dibutuhkan gen tersebut mampu memberikan keuntungan bagi bakteri seperti resistensi terhadap antibiotik dan toksin (Casali dan Preston, 2003).

Peneliti sering menggunakan plasmid untuk menyisipkan DNA dari sumber lain ke plasmid untuk membentuk molekul DNA rekombinan. Sel bakteri yang ditransformasi dengan plasmid rekombinan akan menjadi bakteri rekombinan. satu sel bakteri akan berkembang biak melalui pembelahan sel berulang untuk membentuk klon sel (populasi sel yang sama secara genetis), plasmid akan diturunkan ke generasi berikutnya dan dengan cara ini DNA asing dan gen yang dibawanya juga akan diklon (Primrose *et al.*, 2001)



**Gambar 2.9 Plasmid** (Sumber: National Human Genome Research Institute (NIH), 2021)

## 2.7 Epitope

Epitope adalah urutan peptida khusus yang ditemukan di permukaan antigen tertentu yang kemudian mengikat antibodi atau reseptor sel T. Epitope yang berikatan dengan antibodi disebut epitope sel B dan epitope yang berikatan dengan reseptor sel T disebut epitope sel T (Kharisma et al., 2020). Epitope sel B akan berfungsi dalam memfasilitasi produksi antibodi spesifik terhadap antigen yang masuk ke dalam tubuh. Epitope sel B dibagi menjadi 2 kelompok yaitu *Linear B-Cell Epitope* dan *Conformational B Cell Epitope*. *Linear B-Cell Epitope* terdiri dari susunan peptida yang tersusun secara berurutan sedangkan *Conformational B-Cell Epitope* tersusun tidak berurutan. Sel B akan mengenali antigen yang masuk melalui reseptor yang dimilikinya yaitu *B-Cell Receptor* (BCR). Ketika reseptor tersebut aktif, sel B akan berdiferensiasi dan mensekresikan antibodi (Sanchez-Trincado et al., 2017).

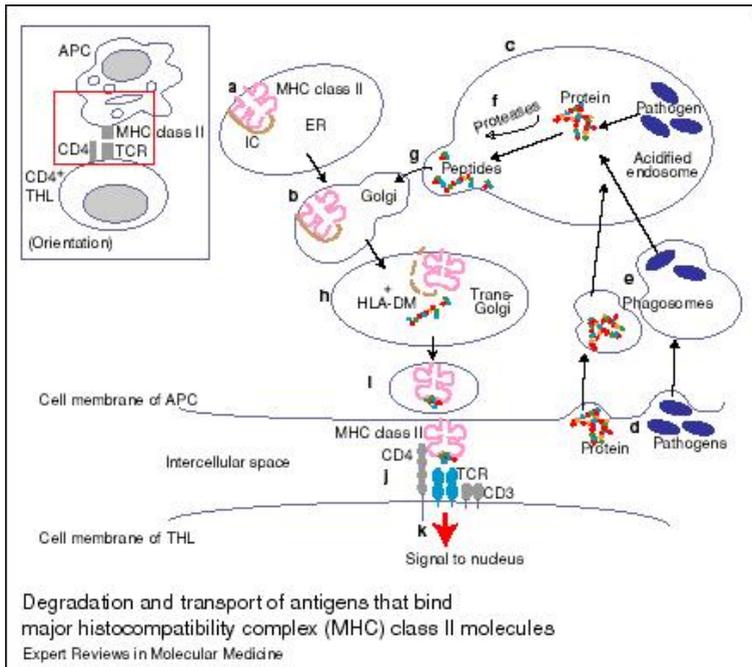
Epitope sel T adalah bagian peptida dari urutan peptida lain dari protein yang diproses dalam sel penyaji gen (APC) serta molekul protein dari *Major Histocompatibility Complex* (MHC) yang dikenal oleh reseptor sel T. Epitope sel T berfungsi dalam mengidentifikasi peptida terpendek yang dimiliki antigen yang mampu menstimulasi CD4 atau CD8. Reseptor sel T terdiri dari 2 macam yaitu reseptor MHC 1 dan MHC 2 dimana ketika reseptor tersebut berikatan dengan akan mengaktifkan sel T CD8 dan sel T CD4 menjadi sel T sitotoksik dan sel T *helper* (Kharisma & Ansori, 2020).

## 2.8 MHC (Major Histocompatibility Complex)

*Major Histocompatibility Complex* atau MHC ini pada manusia lebih sering disebut dengan *Human Leucocyte Antigen* (HLA) adalah molekul protein pada permukaan sel dan berperan sebagai pengenalan antigen kepada antibodi dan presentasi antigen ke antibodi. Proses antigen di dalam tubuh dibagi menjadi tiga cara, pertama protein dari patogen ekstraseluler akan dipecah oleh jalur eksogen. Cara lain berupa protein yang diproduksi secara endogen akan diproses melalui jalur endogen. Cara lain adalah lipid dan turunannya diproses seperti protein ekstraseluler, tetapi molekul mirip MHC akan disajikan ke sel T. Pada proses eksogen antigen yang masuk terlebih dahulu akan diproses oleh enzim lisosom, kemudian akan dibawa oleh APC ke kelenjar getah bening. Di kelenjar getah bening, partikel di APC akan berikatan dengan MHC II kemudian akan diangkut ke permukaan sel dan dipresentasikan ke sel T CD4. APC memiliki sifat kostimulator karena dipengaruhi oleh kadar MHC II yang tinggi dan dapat mengaktifkan sel T naif (Baratawidjaja & Rengganis, 2014).

Antigen yang diproses melalui jalur endogen akan diikat oleh molekul MHC I, dibawa ke permukaan sel dan dipresentasikan ke sel CD8. Jika antigen disajikan oleh molekul MHC maka sel CD4 dan CD8 akan dapat mengenali antigen, fenomena ini sering disebut dengan restriksi MHC. Misalnya, protein virus dapat diproses melalui jalur MHC I. Proses terjadinya adalah molekul antigen dibawa dari sitoplasma ke retikulum endoplasma untuk berinteraksi dan diikat oleh MHC I.

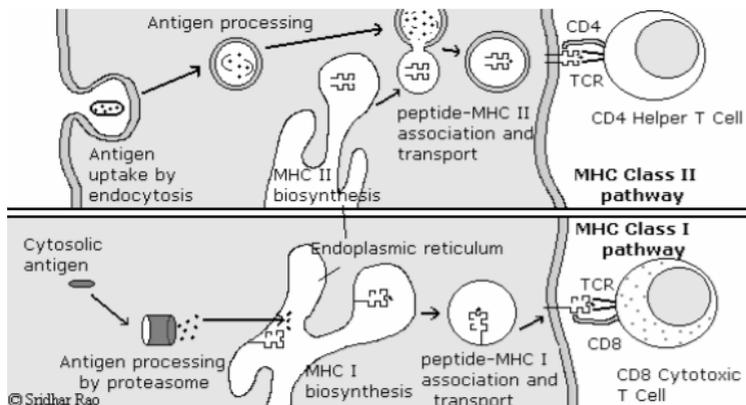
Setelah itu, kompleks antigen MHC I akan masuk ke aparatus golgi untuk kemudian dibawa ke permukaan sel kemudian akan dikenali oleh sel T dan setelahnya akan dihancurkan.



**Gambar 2.10 Jalur antigen MHC I** (Genbinesia, 2021)

Menurut strukturnya molekul MHC dapat dibagi menjadi tiga jenis, yaitu MHC I, MHC II dan MHC III. Molekul MHC I terdiri dari dua polipeptida, rantai berat polimorfik dan rantai ringan non-polimorfik. Rantai ringan non-polimorfik juga disebut rantai mikroglobulin B2. Rantai berat dikodekan oleh lokus MHC yang terletak pada kromosom 6, sedangkan rantai non-polimorfik dikodekan oleh kromosom 15. Molekul MHC I terdiri dari HLA-A, HLA-B dan HLA-C, molekul MHC-I dapat dikenali oleh sel T sitotoksik misalnya selama transplantasi organ. MHC I terdapat

pada semua permukaan sel tubuh yang terdapat nukleus, kecuali sel darah merah. Protein yang diikat oleh MHC I berasal dari patogen yang menginfeksi dan sebelumnya sudah dipecah menjadi peptida dalam sitosol yang nantinya akan diangkut ke permukaan sel untuk kemudian dikenali oleh sel T CD8 yang sitotoksik. Molekul MHC II tersusun dari HLA-D dan peran HLA-D adalah untuk menentukan ekspresi antigen permukaan sel tertentu untuk mengaktifkan sel T. Rantai molekul MHC II berbeda karena tersusun dari kombinasi beberapa polipeptida dan kombinasi yang dihasilkan akan berbeda dikarenakan satu kombinasi akan lebih stabil dari yang lain tergantung pada beberapa orang. Sementara itu, MHC III berperan dalam mengatur pembentukan sitokin dan molekul lainnya seperti propeptin, limfotoksin dan lain-lain (Doytchinova *et al.*, 2004).



**Gambar 2.11** Jalur antigen MHC kelas II dan kelas I (Anap *et al.*, 2013)

## 2.9 Vaksin

Langkah-langkah dalam membuat vaksin itu memang diperlakukan beberapa tahapan sampai vaksin dapat diproduksi dan diterima di seluruh dunia, termasuk pengembangan vaksin COVID-19. Vaksin dianggap sebagai cara yang paling efektif dan ekonomis dalam mencegah penyakit menular seperti COVID-19 membuat pengembangan vaksin untuk memerangi infeksi SARS-CoV-2 sangat dibutuhkan. Sejauh ini ada beberapa perusahaan farmasi dan institusi akademik di seluruh dunia mulai mengembangkan vaksin guna berjuang melawan SARS-CoV-2 (Corum *et al.*, 2020).

Dibutuhkan setidaknya 12 hingga 18 bulan untuk mengembangkan vaksin baru sebelum akhirnya produksi massal. Setidaknya harus ada tiga tahap untuk mengembangkan vaksin agar tersedia dalam skala besar. Tahap awal adalah *Preclinical Testing* di mana tes dilakukan pada hewan coba seperti monyet atau tikus untuk mengamati respon imun penerima. Setelah memasuki tahap pertama (tahap pertama; uji keamanan), vaksin akan divaksinasi ke banyak pasien untuk menguji keamanan, ketepatan dosis dan memastikan sistem kekebalan penerima terstimulasi. Pada tahap kedua (tahap kedua: uji coba diperluas), vaksin yang lolos pada tahap pertama diuji pada ratusan orang yang dikelompokkan berdasarkan usia untuk memahami hubungan antara usia dan efektivitas vaksin. Uji coba ini kemudian menguji keamanan vaksin dan kemampuannya untuk merangsang kekebalan di segala usia. Fase ketiga (uji efikasi), vaksin diuji ulang pada ribuan orang untuk melihat berapa banyak

orang yang terinfeksi dibandingkan dengan sukarelawan *placebo* (pengobatan tidak berdampak atau obat palsu). Uji coba tersebut bertujuan untuk mengetahui kemampuan vaksin dalam mencegah virus corona. Tahap selanjutnya adalah persetujuan, yaitu vaksin yang telah melalui berbagai tahapan sebelumnya disetujui oleh pemerintah melalui badan pengatur atau pengawas untuk menentukan apakah vaksin tersebut disetujui (Lurie *et al.*, 2020).

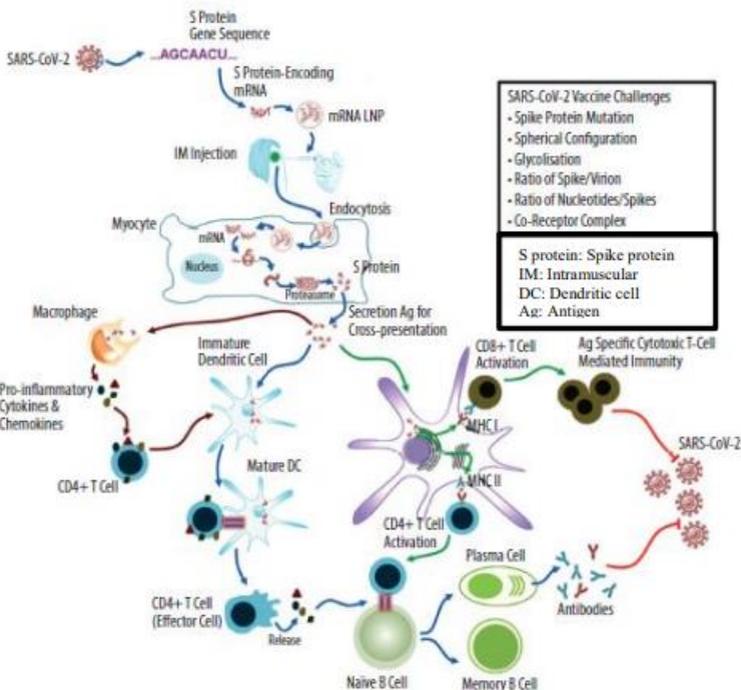
### **2.9.1 Vaksin mRNA**

Terdapat dua jenis vaksin berbasis RNA yang dapat digunakan untuk memerangi patogen, yaitu vaksin mRNA tidak bereplikasi dan vaksin mRNA yang dapat memperbanyak diri. Karena metode pengiriman yang berbeda, vaksin mRNA yang tidak bereplikasi selanjutnya dibagi menjadi dua jenis, yaitu pemuatan sel dendritik in-vitro dan injeksi in-vivo langsung ke anatomi yang terserang. Penetrasi menuju membran lipid adalah langkah pertama bagi mRNA asing untuk mencapai sitoplasma sebelum translasi protein fungsional terjadi. Selain itu, cara pengambilan mRNA dapat menunjukkan spesifisitas sel dan sifat fisika maupun kimia dari mRNA secara signifikan dan mampu mempengaruhi kemampuan pengiriman menuju sel dan distribusi menuju organ. Faktor-faktor tersebut harus dipertimbangkan untuk membuat vaksin berbasis mRNA yang efektif dan sejauh ini karena kecepatannya tinggi, mRNA masih menjadi pertimbangan utama dalam pengembangan vaksin (Wang F, *et al.*, 2020).

Karena struktur genom (+)ss RNA, SARS-CoV-2 dapat menggandakan diri dan menghasilkan replikasi RNA yang

ekstrem di sitoplasma. Hal ini sangat membantu untuk mengembangkan fungsi mRNA sebagai vaksin COVID-19. Namun, keamanan dan efektivitas vaksin mRNA pada manusia masih belum diketahui. Meskipun ada beberapa keterbatasan dalam pengiriman dan stabilitas karena degradasi RNA serta keamanan karena immunogenisitas yang menghambat perkembangannya. Vaksin berbasis mRNA secara aktif menginduksi aktivasi respon sel B dan sel T sitotoksitas (Wang F, *et al.*, 2020).

Penggunaan vaksin berbasis mRNA ini memiliki empat keunggulan utama dalam hal keamanan dan efektivitas. Pertama vaksin berbasis mRNA meminimalkan potensi resiko infeksi dan induksi insersi mutagenesis karena degradasi mRNA di dalam sel . Kedua, meningkatkan efisiensi imunitas karena desain struktur mRNA yang dimodifikasi akan meningkatkan stabilitas dan translasi yang baik. Ketiga, vaksin berbasis mRNA memiliki potensi tinggi untuk menetralkan immunoglobulin dalam imunisasi dosis rendah sehingga dapat menginduksi respon imun yang kuat dengan mengaktifkan sel T sekaligus nantinya akan mengkode protein tertentu dan spesifik. Keempat, dapat diproduksi secara massal dengan cepat untuk mengobati populasi yang terjangkit serta mencapai kekebalan kelompok (*Herd Immunity*). Semua faktor ini membuat penggunaan vaksin berbasis mRNA lebih cocok untuk respon cepat yang dapat dioptimalkan selama pandemi (Wang F, *et al.*, 2020).



**Gambar 2.12 Skema vaksin berbasis mRNA dengan target protein spike (S) pada COVID-19**

## 2.10 Metode *In Silico*

Sebelum era teknologi informatika berkembang, ada dua cara untuk penelitian biologi yaitu *in vivo* dan *in vitro*. Seiring berjalannya waktu antara pemanfaatan teknologi informatika dengan biologi maka berkembang suatu metode penelitian baru yang disebut dengan *in silico*. Penamaan *in silico* ini merujuk pada mikroprosesor komputer yang berasal dari bahan silika (silica) sehingga disebut dengan *In Silico*. Ilmu yang mendukung penelitian komputer para ahli biologi adalah bioinformatika, sementara itu bioinformatika adalah salahsatu cabang ilmu yang

menggabungkan teknologi informasi dengan bioteknologi (Mutiah *et al.*, 2020).

### **2.10.1 Database**

Database merupakan kumpulan banyak data biologi dan informasi yang tersimpan dalam program komputer secara sistematis untuk mempermudah pengguna. Saat ini database banyak memuat data primer sekuen asam nukleat maupun protein, data sekunder untuk menyimpan motif atau informasi sekuen dan data struktur untuk menyimpan data struktur asam nukleat atau protein yang diperoleh melalui penelitian laboratorium. Database sekuen yang sering dijumpai antara lain GenBank (Amerika Serikat), EMBL (*European Molecular Biology Laboratory*) dan DDBJ (DNA Data Bank of Japan). Ketiga database tersebut sering bekerjasama untuk menjaga keluasan cakupan data dan informasi. Data sekuen diperoleh melalui submisi dari laboratorium, proyek sekuensing dan pendaftaran hak paten serta disimpan dalam file komputer. Pada file tersebut berisi keterangan nama sekuen, organisme dan nomor akses untuk membedakan dan mengidentifikasi sekuen tersebut. Format database *GenBank Flat File* (GBFF) format dan FASTA merupakan format yang sering digunakan. FASTA merupakan format sederhana yang berupa satu baris nama (identitas) sekuen dan sekuen tersebut. Oleh karena itu, format FASTA menjadi format yang sering digunakan dalam analisis bioinformatika (Sukmawati, 2015).

### 2.10.3 Epitope Prediction Server

Terdapat banyak algoritma yang telah dikembangkan untuk memetakan sekuen peptida epitope potensial yang terdapat pada suatu antigen. Saat ini sudah banyak server yang digunakan untuk memetakan epitope anatara lain PROPRED, BCPRED, BEPIPRED dan lain-lain. Algoritma yang digunakan cenderung menilai sifat peptida seperti hidrofobisitas, antigenisitas dan aksesibilitas serta keakuratan algoritma tersebut bisa diatur dengan *range* berbeda (El-manzalawy, 2018).

### 2.11 Perspektif Dalam Islam

Metode *In Silico* menjadi salah satu metode yang bisa dijadikan rujukan untuk penemuan dan pengembangan suatu obat ataupun vaksin. Studi *In Silico* bisa digunakan untuk pemetaan epiope, identifikasi senyawa baru, penambatan molekuler, studi penemuan obat dan lainnya. Perkembangan baru yang ditunjukkan pada kemajuan teknologi komputer dapat menjadi cara untuk dilakukannya penelitian dalam bidang kesehatan berbasis komputer. Desain obat atau vaksin yang dilakukan dengan metode komputasi (*In Silico*) merupakan suatu metode yang baru dan pada jaman nabi tentu belum ada metode tersebut. Namun Allah SWT telah berfirman dan memerintahkan kepada manusia untuk senantiasa berpikir agar dapat memahami adanya pengetahuan yang akan selalu berkembang dan menjadi pengetahuan baru. Allah SWT berfirman dalam Al-Qur'an Surah Al-Ankabut (29): 43.

وَتِلْكَ الْأَمْثُلُ نَضْرِبُهَا لِلنَّاسِ وَمَا يَعْقِلُهَا إِلَّا الْعُلَمَاءُ ۚ

Artinya :*“Perumpamaan-perumpamaan itu Kami buat untuk manusia. Dan tidak ada yang memahaminya, kecuali orang yang berilmu. (QS Al-Ankabut (29):43.*

Berdasarkan tafsir ibnu katsir (2014) maksud perumpamaan-perumpamaan yang ada di dalam Al-Qur’an dan ditujukan bagi orang-orang musyrik yang menjadikan (bagi mereka) ilah-ilah selain Allah dan mengharapkan pertolongannya, meminta rezeki dan berepeganga pada mereka dalam keadaan sempit. Keadaan mereka ini diperumpamakan seperti orang yang berpegangan dengan sarang laba-laba yang tidak merubah apapun. Seandainya mereka mengetahui maka mereka tidak akan mengambil selain Allah SWT. Tidak ada yang dapat memahami dan merenungkannya kecuali orang-orang yang kokoh dalam ilmunya serta menguasainya. Menurut pandangan islam, ilmu pengetahuan dan perkembangan teknologi menjadi salah satu kebutuhan dasar untuk manusia sebagai makhluk yang berakal. Metode komputasi yang digunakan untuk pemetaan epitope dan desain penyisipan sekuen peptida ke plasmid tertentu menjadi metode komputasi baru untuk menemukan suatu obat ataupun vaksin. Hal ini menjadi solusi ataupun rancangan awal untuk mengurangi penggunaan dana berlebih sekaligus ketersediaan laboratorium yang saat ini terbatas dikarenakan pandemi yang sedang berlangsung.

Proses pengembangan pengembangan obat untuk mengatasi virus SARS-CoV-2 ini banyak sekali. Namun, Allah SWT telah menyediakan berbagai macam tanaman obat untuk

dimanfaatkan manusia. Hal ini merujuk pada surah An-Nahl ayat 11:

يُنْبِتُ لَكُمْ بِهِ الزَّرْعَ وَالزَّيْتُونَ وَالنَّخِيلَ وَالْأَعْنَابَ وَمِنْ كُلِّ الثَّمَرَاتِ  
 إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً لِّقَوْمٍ يَتَفَكَّرُونَ ۝ ۱۱

Artinya: “Dia menumbuhkan bagimu dengan air hujan itu tanam-tanaman; zaitun, korma, anggur dan segala macam buah-buahan. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar ada tanda (kekuasaan Allah) bagi kaum yang memikirkannya.” (An-Nahl ayat 11).

Berdasarkan tafsir Ibnu Katsir jilid 5 (2014), makna penciptaan tumbuh-tumbuhan haruslah disyukuri karena hanya dengan satu macam air ini, maka tumbuhlah tanaman dari bumi dengan berbagai perbedaan, macamnya, rasa, warna, bau, bentuk dan manfaatnya. Salah satu manfaat tanaman yang sering digunakan adalah sebagai pengobatan dengan memanfaatkan tanaman menjadi salah satu alternatif pengobatan secara kimiawi menimbulkan banyak efek samping. Pengobatan secara alami dari tumbuh-tumbuhan juga telah dicontohkan oleh Allah SWT dimana disebut sebagai *Ath Thibbun Nabawi* (Pengobatan cara Nabi), sehingga tanaman merupakan salah satu anugerah dari Allah SWT yang wajib dimanfaatkan dengan baik oleh manusia.

## **BAB III**

### **METODOLOGI PENELITIAN**

#### **3.1 Rancangan Penelitian**

Jenis penelitian ini merupakan penelitian deskriptif eksploratif secara *in silico* menggunakan perangkat komputer diawali dengan pemetaan untuk menentukan letak epitope, analisis epitope serta karakterisasi sel B sel T CD8 dan sel T CD4 pengkode protein spike SARS CoV-2 menggunakan plasmid pcDNA 3.1 (+) N-GST(TEV) dan vektor *E. Coli* sebagai kandidat vaksin saRNA.

#### **3.2 Waktu dan Tempat**

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juli 2021 – September 2021 di Laboratorium, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

#### **3.3 Alat dan Bahan**

##### **3.3.1 Alat**

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah laptop lenovo ideapad 110 (Processor Intel Celeron N3060 1.60 Ghz-2.48 Ghz, RAM 4 GB DDR3, Graphic Card Intel HD Graphics 400), buku tulis. *Tools* yang digunakan antara lain database GISAID, website NCBI, ExPasy, MEGA 6, database IEDB, Bepipred 2.0, NetMHCpan EL 4.1, NCBI BlastP, VaxiJen 2.0, website TMHMM 2.0, website EMBOSS BackTranseq dan aplikasi SnapGene.

### 3.3.2 Bahan

Bahan yang dibutuhkan antara lain adalah sekuen *whole genome* dari SARS-CoV-2 spesifik Indonesia dan Wuhan sebagai sekuen referensi untuk mengetahui posisi urutan sekuen spike. Plasmid Rekombinan pcDNA 3.1 (+)N-GST(TEV) yang didapatkan dari SnapGene. Software SnapGene ini bisa juga digunakan untuk mengkonstruksi plasmid rekombinan yang nantinya akan disisipkan sekuen nukleotida epitope terpilih.

## 3.4 Prosedur Penelitian

### 3.4.1 Pemetaan dan Penentuan Epitope sel B, sel T CD4 dan CD8

Metode diawali dengan diunduh sekuen genom lengkap SARS-CoV-2 Indonesia berjumlah 15 (Spesifik Jawa dan Sumatera) pada website GISAID (<https://www.gisaid.org/>) dan melakukan pengaturan *High Coverage* dan *Complete*. Selain itu, diunduh juga sekuen peptida pengkode protein spike SARS-CoV-2 yang berasal dari Wuhan, Tiongkok (Reference No. NC\_045512.2) untuk sekuen referensi pemetaan daerah yang mengkode spike pada sekuen genom lengkap SARS-CoV-2 Indonesia yang belum ditandai.

Karena sekuen yang diunduh berupa sekuen nukleotida dan perlu diubah ke sekuen peptida maka diperlukan website ExPasy (<https://web.expasy.org/translate/>) setelah itu proses pensejajaran sekuen peptida referensi dari Wuhan dengan sekuen lokal Indonesia menggunakan software MEGA 6. Pensejajaran sekuen peptida berfungsi mengetahui posisi peptida

pengkode protein spike (S) dari SARS-CoV-2 Indonesia dengan sekuen peptida spike (S) Wuhan yang diambil dari genom lengkap dan sudah ditandai. Kemudian sekuen peptida nukleotida protein spike (S) dari masing-masing sekuen SARS-CoV-2 Indonesia yang diperoleh sebelumnya ditranslasi agar diperoleh sekuen peptida protein spike (S) menggunakan website ExPasy (<https://web.expasy.org/translate/>) Translasi dilakukan menggunakan tools translasi yang tersedia secara online.

Sekuen protein Spike SARS-CoV-2 Indonesia dipetakan terhadap sel B untuk menentukan letak epitope yang nantinya akan dikenali oleh sel B dengan menggunakan prediksi epitope sel B menggunakan database IEDB dan parameter Bepipred 2.0 (<http://tools.iedb.org/bcell/>) yang tersedia secara online. Kemudian dilanjutkan dengan penentuan epitope sel T CD8 dengan panjang lebih dari sama dengan 9-mer pada MHC (*Major Hystocompatibility Complex*) I menggunakan database IEDB dan pilih *T Cell Epitope Prediction* dan menu *MHC I binding* (<http://tools.iedb.org/mhci/>) dan dipilih metode NetMHCpan EL 4.1 serta pilih HLA yang akan digunakan untuk prediksi (HLA\*A 01:01). Kemudian sekuen yang dapat dikenali oleh sel T CD8 dipetakan lagi terhadap MHC II untuk menentukan epitope yang mampu dikenali sel T CD4 dengan menggunakan tools online IEDB dan pilih *T Cell Epitope Prediction* dan menu *MHC II binding* (<http://tools.iedb.org/mhcii/>) dan dipilih pengaturan *IEDB recommended 2.22*, panjang peptida 15-mer, alel HLA II DRB1\*01:01, select organism Human dan sort peptides by adjusted Rank. Pada penelitian ini dilakukan pemetaan sekuen

peptida epitope sel T CD8 dan CD4 terhadap HLA kelas I (HLA\*A 01:01) dan HLA kelas II (DRB1\*01:01) yang mana kedua HLA tersebut banyak ditemukan pada populasi suku-suku asli di Indonesia.

### 3.4.2 Perhitungan Karakteristik

Setelah didapatkan sekuen epitope mana saja yang bisa dikenali oleh sel T, maka akan dilakukan perhitungan atau analisis mengenai beberapa karakteristik yang menjadi acuan untuk kandidat vaksin. Dimulai dengan menggunakan NCBI Blastp([https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PROGRAM=blastp&PAGE\\_TYPE=BlastSearch&LINK\\_LOC=blasthome](https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PROGRAM=blastp&PAGE_TYPE=BlastSearch&LINK_LOC=blasthome)) dan diatur beberapa algoritma parameter seperti word size 2, matriks yang digunakan PAM 30, dinonaktifkan *low complexity filter* dan kategori *composition based statistics* diatur ke pengaturan “*no adjustment*” dan diatur tanpa adanya gap atau *mismatch* terhadap *self-peptide*.

Kemudian dilanjutkan dengan analisis karakteristik fisikokimia (*Physicochemical characteristic*) untuk menentukan kelarutan epitope berdasarkan nilai hidrofobitasnya menggunakan ExPasy (<https://web.expasy.org/protparam/>). Website ini mampu memprediksi hidrofobitas sekuen peptida yang pendek (> 6 asam amino), titik isoelektrik (pI), berat molekul (*Molecular Weight*) dan kestabilan protein. Selain hidrofobitas website tersebut juga memanfaatkan GRAVY score yang disebutkan apabila berada di atas 0 maka bersifat hidrofobik sementara di bawah 0 maka bersifat hidrofilik.

Pengujian selanjutnya adalah dilakukannya pengujian antigenisitas kandidat epitope sel T CD4 yang lolos menggunakan server VaxiJen 2.0 (<http://www.ddg-pharmfac.net/vaxijen/VaxiJen/VaxiJen.html>) dengan melakukan beberapa pengaturan seperti nilai ambang (*threshold*) menjadi 0.4 yang membantu meningkatkan akurasi prediksi untuk tumor dan pada bagian pengaturan organisme dipilih tumor. Analisis alergenitas dari kandidat epitope sel T dilakukan menggunakan website AllerTOP V2.0 (<https://www.ddg-pharmfac.net/AllerTOP/>).

Kemudian dilanjutkan prediksi topologi transmembran pada kandidat epitope terpilih menggunakan tools online TMHMM v2.0 (<http://www.cbs.dtu.dk/services/TMHMM/>) dan dilakukan pengaturan pada Output format berupa grafik dan letak epitope dimunculkan berupa pernyataan yang menunjukkan satu lokasi dari tiga pilihan, yaitu *Inside* (di dalam), *Outside* (di luar) atau Transmembran. Setelah menggunakan beberapa parameter dan karakteristik seperti uji *self peptide*, uji hidrofobisitas, uji antigenisitas, uji alergenitas dan topologi membran maka akan didapatkan sekuen peptida terpilih yang bisa dijadikan kandidat vaksin.

Sekuen peptida epitope terpilih ditranslasi balik agar diperoleh sekuen nukleotida menggunakan website EMBOSS BackTranseq ([https://www.ebi.ac.uk/Tools/st/emboss\\_backtranseq/](https://www.ebi.ac.uk/Tools/st/emboss_backtranseq/)) hasil translasi berupa sekuen nukleotida inilah yang nantinya akan digunakan dan disisipkan DNA Sirkuler dalam konstruksi vektor plasmid rekombinan.

### 3.4.3 Konstruksi Plasmid Rekombinan

Konstruksi plasmid rekombinan ini menggunakan software SnapGene yang tersedia online di internet. Diawali dengan mendesain daerah sisipan (*Insert*) untuk menentukan letak penyisipan sekuen nukleotida terpilih dan pemilihan plasmid pcDNA 3.1 yang digunakan sebagai vektor dan perancangan *designed insert* yang terdiri dari sekuen nukleotida, promoter *Human Cytomegalovirus* (CMV) sebagai promotor yang dapat dikenali oleh sel mamalia, sinyal peptida *Human Tissue Plasminogen Activator* (tPa) untuk meningkatkan ekspresi antigen dan region NSPI-4 VEEV yang mengkode protein yang berperan dalam replikasi agar nanti diperoleh *self-amplifying* (saRNA), bGH-poly signal sebagai komponen penstabil sekuens mRNA yang akan diekspresikan agar tidak mudah terdegradasi, ORI (*Origin of Replication*) untuk menginisiasi perbanyakan atau replikasi di dalam mikroorganisme.

### 3.5 Analisis Data

Dalam penelitian ini data diperoleh secara kuantitatif yang berasal dari nilai hidrofobisitas (GRAVY) yang diperlukan untuk menentukan epiope dengan kelaruan yang baik (hidrofilik) agar dapat berinteraksi satu sama lain dengan sistem imun. Uji antigenisias dipilih untuk menentukan kemampuan epitope dikenali sebagai antigen oleh sel T. Epitope yang memiliki sifat antigenisitas yang baik diharapkan dapat menstimulasi respon imun adaptif untuk menghasilkan sel memori. Sehingga ketika terjadi infeksi sesungguhnya tubuh akan lebih cepat merespon

dan mengeleminasi. Hanya epitope yang memiliki nilai ambang (*threshold*) diatas ( $>0,4$ ) yang ditetapkan dan dipilih sebagai kandidat vaksin. Kemudian dilakukan uji alergenitas untuk mengeleminasi epitope yang berpotensi menginduksi reaksi alergi dalam tubuh. Epitope yang dipilih sebagai kandidat vaksin diharapkan tidak menimbulkan efek berbahaya bagi tubuh termasuk alergi. Oleh karena itu kandidat epitope yang dinyatakan bersifat *non-alergen* berdasarkan *tools online* yang digunakan dalam penelitian ini.

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 4.1 Pemetaan, Karakterisasi dan Analisis Sekuen Peptida Epitope

Penentuan sekuen peptida epitope dilakukan agar nantinya bisa dikenali dengan baik oleh sel B, Sel T CD8 dan sel T CD4 agar nantinya sekuen peptida yang didapatkan sebagai kandidat vaksin mampu menginduksi respon imun humoral dan seluler dengan baik yang penting dalam vaksinasi. Epitope sel B seperti diketahui mampu menginduksi terbentuknya antibodi, internalisasi antigen, memproses antigen, mempresentasikan ke limfosit T untuk meningkatkan respon imun. Selain itu sel B yang teraktivasi akan menjadi sel memori dan akan bertahan lama dalam peredaran darah maupun limfa untuk menjaga dari serangan antigen yang sama sekaligus menjadikan respon imun lebih cepat dan efektif ketika terjadi proses infeksi selanjutnya. Aktivasi sel B sepenuhnya diatur oleh heterodimer Ig  $\alpha$  dan Ig  $\beta$  yang bagian ujungnya terdapat *Immunoreceptor tyrosine activation motifs* (ITAM) (Huang *et al.*, 2020).

Epitope sel T adalah bagian peptida dari urutan peptida lain dari protein yang diproses dalam sel penyaji gen (APC) serta molekul protein dari *Major Histocompatibility Complex* (MHC) yang dikenal oleh reseptor sel T. Epitope sel T berfungsi dalam mengidentifikasi peptida terpendek yang dimiliki antigen yang mampu menstimulasi CD4 atau CD8. Reseptor sel T terdiri dari 2 macam yaitu reseptor MHC 1 dan MHC 2 dimana ketika reseptor tersebut berikatan dengan akan mengaktivasi dari sel T CD8 dan

sel T CD4 menjadi sel T sitotoksik dan sel T *helper* (Jennifer, 2017).

Berdasarkan hasil pemetaan, analisis dan karakterisasi menggunakan beberapa parameter didapatkan sekuen peptida terbaik dengan sekuen **KLQNVVNQNAQALNT** (K:lisin, L:Leusinin, Q:Glutamin, N:Asparagin, V:Valin, A:Alanin, T:Treonin) yang mana didapatkan dari daerah Depok, Jawa Barat. Terpilihnya sekuen peptida yang berasal dari daerah Depok diharapkan mampu menginduksi respon imun yang baik dan dapat meminimalisir efek samping yang dapat ditimbulkan. Beberapa keunggulan karakteristik yang didapatkan dari sekuen peptida terpilih antara lain bersifat antigen dengan skor antigenisitas lebih dari nilai ambang batas ( $>0.4$ ) yakni 0.4343, hal tersebut menjadikan sekuen peptida terpilih mampu dikenali oleh tubuh sebagai antigen.

Analisis antigenisitas perlu juga dilakukan untuk mengukur kemampuan epitope untuk dikenali sebagai antigen oleh respon imun adaptif, khususnya untuk menstimulasi atau menginisiasi respon sel B dan sel T. Epitope yang memiliki sifat kemampuan antigenisitas yang baik (*Highly antigenic*) dapat menstimulasi respon imun adaptif agar nantinya dapat menghasilkan sel B memori dan B plasma untuk berjaga pada peredaran darah dan limfa serta mengingat jenis antigen (virus). Selanjutnya sel memori tersebut akan menstimulasi respon imun ketika terjadi infeksi sesungguhnya akan lebih cepat jika diukur dari segi waktu.

**Tabel 4. 1 Hasil karakterisasi dan analisis sekuen peptida**

Daerah Asal	Sekuen	Antigenisasi	Alergenisasi	Hidrofobitas		Topologi	Kemiripan ( <i>Self-peptide</i> )	Kestabilan	Keterangan
				Nilai GRAVY	Arti				
Banten	KSFLWKGLSSYV LPS	0.1613 (Non-antigen)	Allergen	0.213	Hidrofo- bik	Outsid- e	Tidak ditemuk- an kemiripa- n	Stabil	Eleminasi
Aceh	KVAVYKMAMVHL ARF	0.6307 (Antigen)	Allergen	0.773	Hidrofo- bik	Inside	Tidak ditemuk- an kemiripa- n	Stabil	Eleminasi
Bangka Belitung	LSFELLHAPATVC GP	0.6307 (Antigen)	Allergen	0.847	Hidrofo- bik	Outsid- e	Tidak ditemuk- an kemiripa- n	Stabil	Eleminasi
Bogor	QNVVNQNAQAL NTLV	0.0614 (Antigen)	Non- alergen	-0.613	Hidrofil- ik	Inside	Tidak ditemuk- an kemiripa- n	Stabil	Eleminasi
Brebes	VVLSFELLHAPAT VC	0.6189 (Antigen)	Non- alergen	1.540	Hidrofo- bik	Outsid- e	Tidak ditemuk	Stabil	Eleminasi

Cilacap	VLSFELLHAPATV CG	0.6189 (Antige)	Non- alergen	1.233	Hidrofo- bik	Outsid- e	an kemiripa- n Tidak ditemuk- an kemiripa- n	Stabil	Eleminasi
<b>Depok</b>	<b>KLQNVVNQNAQ ALNT</b>	<b>0.4343 (Antigen)</b>	<b>Non- alergen</b>	<b>-0.633</b>	<b>Hidrofil- ik</b>	<b>Inside</b>	<b>Tidak ditemuk- an kemiripa- n</b>	<b>Stabil</b>	<b>Terpilih</b>
Jogjaka- rta	LQNVVNQNAQAL NTL	0.1943 (Non- antigen)	Allergen	-0.120	Hidrofil- ik	Inside	Tidak ditemuk- an kemiripa- n	Stabil	Eleminasi
Semara- ng	GKLQNVVNQNA QALN	0.4985 (Antigen)	Allergen	-0.613	Hidrofil- ik	Inside	Tidak ditemuk- an kemiripa- n	Stabil	Eleminasi
Suraba- ya	NVVNQNAQALNT LVK	0.0937 (Non- antigen)	Allergen	-0.170	Hidrofil- ik	Inside	Tidak ditemuk- an kemiripa-	Stabil	Eleminasi

Sidoarjo	VVNQNAQALNTL VKQ	0.1149 (Non- antigen)	Allergen	-0.120	Hidrofilik	Inside	Tidak ditemuk an kemiripa n	stabil	Eleminasi
Bali	LGKLQNVVNQNA QA	0.4096 (Antigen)	Alergen	-0.407	Hidrofilik	Inside	Tidak ditemuk an kemiripa n	Stabil	Eleminasi
Bengkulu	KVAVYKMAMVHL ARF	0.1613 (Non- antigen)	Allergen	0.773	Hidrofo bik	Inside	Tidak ditemuk an kemiripa n	Stabil	Eleminasi

---

Keterangan: 1. Skor antigenisitas lebih dari nilai ambang batas (>0.4) menyatakan bahwa sekuen berpotensi dikenali sebagai antigen.  
2. skor GRAVY diatas menyatakan bahwa sekuen bersifat hidrofilik sedangkan dibawah nol bersifat hidrofilik.

Hasil sekuen peptida terpilih di analisis menggunakan AllerTOP v 2.0 dan didapatkan hasil Non-allergen yang berarti tidak menimbulkan reaksi alergi. Epitope yang bisa dijadikan sebagai kandidat vaksin sebaiknya tidak menimbulkan reaksi alergi maupun reaksi berbahaya lainnya bagi tubuh. Pada keadaan normal mekanisme pertahanan tubuh baik humoral dan seluler tergantung pada aktivasi sel B dan sel T. Aktivasi berlebihan oleh antigen atau gangguan mekanisme seperti ini akan menimbulkan suatu keadaan imunopatologik yang disebut reaksi hipersensitivitas (alergi). Mekanisme imun yang mendasari terjadinya alergi adalah mekanisme tipe I yang diperantarai oleh IgE spesifik. Eosinofil berperan secara tidak langsung pada reaksi hipersensitivitas tipe I melalui faktor kemotaktik eosinofil, anafilaksis (ECF-A= *Eosinophil Chemotactic Factor of Anaphylaxis*). Zat ini merupakan salah satu dari preformed mediator yaitu mediator yang sudah ada dalam granula sel mast selain histamin dan faktor kemotaktik neutrofil (NCF= *Neutrophil Chemotactic Factor*). Mediator yang kemudian terbentuk merupakan metabolit asam arakidonat akibat degranulasi sel mast yang berperan pada reaksi tipe I (Munasir dan Suyoko, 2010).

Hasil sekuen epitope terpilih dianalisis skoring hidrofobitas untuk melihat sifat kelarutan yang didasarkan dari perhitungan nilai rata-rata GRAVY (*Grand Average of Hydropathicity*) pada tools online ExPasy. Sekuen peptida terpilih mendapatkan skor GRAVY **-0.633** yang berarti bersifat hidrofilik (larut dalam air). Selain memprediksi skor hidrofobitas, ExPasy

juga bisa memprediksi titik isoelektrik (pI) dan berat molekul (MW) protein. Analisis *Grand Average of Hydropathicity* (GRAVY) dilakukan untuk memilih epitope yang memiliki kelarutan baik (hidrofilik) agar nantinya didapatkan peptida yang dapat berinteraksi dengan baik satu sama lain dengan sistem imun dalam pelarut air. Analisis topologi membran dilakukan sebagai tambahan untuk mengetahui lokasi epitope tersebut akan diekspresikan atau presentasikan pada transmembran dan berdasarkan hasil prediksi topologi transmembran dari epitope terpilih diidentifikasi epitope cenderung dipresentasikan pada permukaan dalam (*Inside*) membran.

Sekuen peptida terpilih tidak ditemukan kemiripan dengan peptida manusia (*self-peptide*) yang berarti tidak dapat menginduksi respon autoimun. Autoimun sendiri merupakan respon imun terhadap antigen pada jaringan sendiri yang terjadi akibat gagalnya sebuah mekanisme normal yang memiliki peran untuk mempertahankan (*Self tolerance*) atau bisa disebut kegagalan pada respon imunitas. Reaksi ini terjadi ketika sistem kekebalan tubuh mengalami gangguan dan menyerang jaringan tubuh itu sendiri sehingga menyebabkan kerusakan jaringan, gangguan fisiologis atau peradangan.

Selain faktor dari antigen terdapat faktor imun lain yang berperan pada autoimunitas antara lain gangguan presentasi, ekspresi MHC yang tidak benar dan keseimbangan Th1-Th2. Gangguan dapat terjadi pada presentasi antigen, infeksi yang meningkatkan respons MHC, kadar sitokin yang rendah (misal TGF- $\beta$ ) dan gangguan respons terhadap IL-2. Pengawasan

beberapa sel autoreaktif diduga bergantung pada sel Ts atau Tr. Bila terjadi kegagalan sel Ts atau Tr, maka sel Th dapat dirangsang sehingga menimbulkan autoimunitas. Ekspresi MHC II yang tidak pada tempatnya itu yang biasanya hanya diekspresikan pada APC dapat mensensitasi sel Th terhadap peptida yang berasal dari sel  $\beta$  atau tiroid dan mengaktifkan sel  $\beta$  atau Tc atau Th1 terhadap *self* antigen.

Kemudian epitope terpilih akan di rancang menggunakan plasmid rekombinan agar mudah dikenali oleh tubuh inangnya serta dapat menginduksi respon imun tanpa menimbulkan efek samping yang merugikan. Proses penghantaran epitope terpilih hingga dapat dikenali oleh sistem imunitas tubuh manusia akan melalui beberapa tahapan mulai dari proses penghantaran hingga ke sitoplasma, dikenali oleh APC ataupun MHC hingga kemudian dikenali oleh sel B ataupun sel T. Sekuen peptida terpilih yang masuk ke dalam tubuh akan masuk sebagai antigen untuk kemudian akan menginduksi respon imun.

Antigen (epitope terpilih) yang masuk ke dalam tubuh akan dibawa atau dipresentasikan oleh makrofag. Makrofag sendiri menjadi sel fagosit terpenting yang berperan dalam menghancurkan antigen serta mempresentasikan antigen ke sel T melalui APC (*Antigen presenting cell*) atau MHC (*Major Histocompatibility Complex*) yang terdapat pada permukaannya. Pemilihan MHC II pada penelitian ini dikarenakan terdapat pada sel-sel spesifik seperti makrofag, dendritik, sel B dan beberapa sel khusus lainnya. Dibandingkan dengan MHC I yang terdapat pada semua permukaan sel (kecuali sel darah), MHC II

lebih spesifik karena akan mempresentasikan antigen ke sel T. Sel T akan mengikat antigen dengan reseptor spesifik pada permukaan sel. Makrofag membunuh antigen melalui beberapa mekanisme seperti sekresi molekul, lisosom dan membentuk radikal oksigen, asam nitrat serta klorin. Makrofag hidup bulanan atau tahunan karena perannya yang penting untuk menyajikan antigen ke sel T dan penting dalam aktivasi respon imun adaptif melawan patogen.

Antigen yang berasal dari luar (termasuk epitope terpilih) akan disajikan oleh sel penyaji antigen khusus atau APC (*Antigen Presenting Cell*) pada molekul MHC II. Molekul MHC II ditemukan hanya pada permukaan sel penyaji khusus seperti makrofag, sel B dan dendritik. Molekul MHC II berperan penting dalam penyajian antigen ke reseptor sel T pada sel T-helper CD4+. Sel sel ini khusus menyajikan antigen ke sel T CD4+ yang mengenali antigen pada molekul MHC II. Hal ini menjadi penting karena CD4+ sel T mampu mengontrol proliferasi sel T lainnya dan sel B. Sel penyaji antigen khusus memproses antigen dan mengekspresikannya pada molekul MHC II (misal HLA-DP, HLA-DQ, HLA-DR). Molekul MHC pada manusia bersifat pleomorfik berdasarkan adanya variasi gen tertentu.

Oleh karena itu antigen yang terikat pada molekul MHC kelas I dan II seseorang belum tentu terikat pada orang lain. Faktor pleomorfik yang menjadikan faktor pertimbangan ada tidaknya penolakan dalam transplantasi sehingga ada istilah histokompatibilitas. Jika jaringan donor tidak cocok dengan MHC, akan terjadi bermacam-macam antigen baru yang dikenali

sebagai benda asing dan jaringan donor ditolak oleh respon imun. Hal ini yang menyebabkan pemilihan sekuen *whole genome* protein spike berasal dari wilayah Jawa dan Sumatra. dikarenakan frekuensi alel dari kedua wilayah tersebut mencakup 37.8% dari frekuensi alel HLA II populasi suku di Indonesia. Terdapat 3 jenis HLA II yang dominan ditemukan pada individu dari wilayah Jawa dan Sumatra yaitu, DRB1\*12:02, DRB1\*15:02 dan DRB1\*07:01 dengan frekuensi masing-masing 37.8%, 23% dan 13.1%.

Sel T yang terstimulasi akan menghasilkan mediator kimia seperti interleukin, interferon dan limfokin. Mediator yang dihasilkan akan memicu proliferasi sel imun serta menyebabkan sel B akan berkembang menjadi sel B plasma dan membentuk antibodi yang dinamakan imunoglobulin. Imunoglobulin banyak dijumpai dalam serum dan menjadi komponen humoral utama. Mediator interferon yang dihasilkan oleh sel T akan memicu makrofag teraktivasi sehingga akan mencerna dan mematikan antigen (epitope terpilih). Pada saat yang sama sel B dan sel T-sitotoksik teraktivasi dan menjadi banyak agar dapat mengenali antigen. Sel T-sitotoksik akan menginjeksi antigen ke dalam membran sel dan terbentuk lubang dalam membran, menyebabkan bagian dalam sel terbuka dan membunuh sel yang terinfeksi.

Sesudah pengikatan fragmen kompleks antigen MHC pada TCR (*T-Cell Receptor*) sel T menjadi aktif hanya bila menerima sinyal kedua (sinyal ko-simulator). Sinyal kedua ini penting untuk aktivasi penuh sel T dengan cara membuat sel T

resisten terhadap apoptosis (kematian sel terprogram), meningkatkan regulasi reseptor faktor pertumbuhan pada sel T sehingga menstimulasi proliferasi sel T dan mengurangi jumlah waktu yang diperlukan untuk menstimulasi proliferasi sel T.

Molekul ko-simulator umumnya merupakan molekul adhesi sel yang membuat 2 sel melekat satu dengan yang lain untuk periode lama dan menyebabkan proliferasi dan diferensiasi sel T. Contoh aktivasi dan diferensiasi sel T CD4+ menjadi sel T-helper membutuhkan ikatan molekul CD28 pada CD4+ sel T ke molekul CD80/CD86 yang tersaji pada APC, menghasilkan pembentukan IL-2, ekspresi IL-2, progresi siklus sel dan proliferasi sel T teraktivasi. Pengenalan antigen oleh reseptor antigen pada sel limfosit dalam absennya sinyal ko-simulator menyebabkan tidak terbentuknya sitokin yang menghasilkan suatu keadaan yang dinamakan anergi (tidak adanya respon imunologi) atau meningkatnya apoptosis. Berbeda dengan sel T-helper CD4+, aktivasi penuh sel T-sitotoksik melawan sel target dicetuskan oleh ikatan CD2 pada CD8+ sel T dengan molekul CD58 sel target dan dengan interaksi LFA-1 (*lymphocyte Functional Antigen-1*) pada sel T dengan molekul adhesi interseluler-1 (ICAM-1, *Intercellular Adhesion Molecule 1*) pada target.

**Tabel 4.2 Properti kandidat epitope terpilih**

<b>Karakteristik</b>	<b>Keterangan</b>	<b>Arti</b>
<b>Similarities Dengan self-peptide</b>	Tidak ditemukan kemiripan	Tidak ditemukan kemiripan dengan <i>self peptide</i>
<b>Massa Molekule</b>	1654.84	
<b>Titik Isoelektrik</b>	8.75	
<b>Stabilitas</b>	Stable protein	
<b>Antigenisitas</b>	0.4343	Antigen
<b>Alergenisitas</b>	Non-Allergen	
<b>Topology</b>	Inside	
<b>Hidrofobisitas</b>	-0.633	Hidrofilik

**Tabel 4.3 Sekuens nukleotide pengkode epitope terpilih**

<b>Kandidat Epitope Terpilih</b>	<b>Reverse Translated Sequence (Sekuen Nukleotida)</b>
<b>KLQNVVNQN AQUALNT</b>	<b>AAGCTGCAGAACGTGGTGAACCAGAAC GCCCAGGCCCTGAACACC</b>

#### 4.2 Konstruksi Plasmid pcDNA3.1(+)-N-GST-TEV

Plasmid pcDNA3.1+N-GST(TEV) digunakan dalam penelitian ini sebagai vektor dan nantinya akan disisipkan sekuen nukelotida untuk menginduksi respon imun tubuh dan beberapa komponen lain seperti NSP1-4VEEV yang berperan mengkode protein dalam replikasi agar dihasilkan *self-amplifying* RNA. Serta sinyal peptida *Human Tissue Plasminogen Activator* (tPa) yang berperan dalam meningkatkan ekspresi antigen dan sekresinya ke luar sel. Sementara itu terdapat komponen penting lainnya yang terdapat dalam plasmid antara lain, bGH-poly (A) signal untuk menstabilkan sekuen nukleotida mRNA agar tidak mudah terdegradasi ketika akan diekspresikan, ORI (*Origin of Replication*) yang berfungsi untuk menginisiasi perbanyakan (replikasi) plasmid dalam sel mikroorganisme untuk perbanyakan vektor (plasmid), CMV (*Human Cytomegalovirus*) berfungsi sebagai promoter yang dapat dikenali oleh sel mamalia sehingga berpotensi untuk dikenali dalam percobaan secara *in-vitro* dan berguna untuk menginisiasi ekspresi dari gen sisipan tersebut. Serta terdapat NeoR dan KanR berfungsi sebagai gen resisten untuk antibiotik dari Neomycin dan Kanamycin yang berperan untuk *selective marker* (Kowalski, *et al.*, 2019).



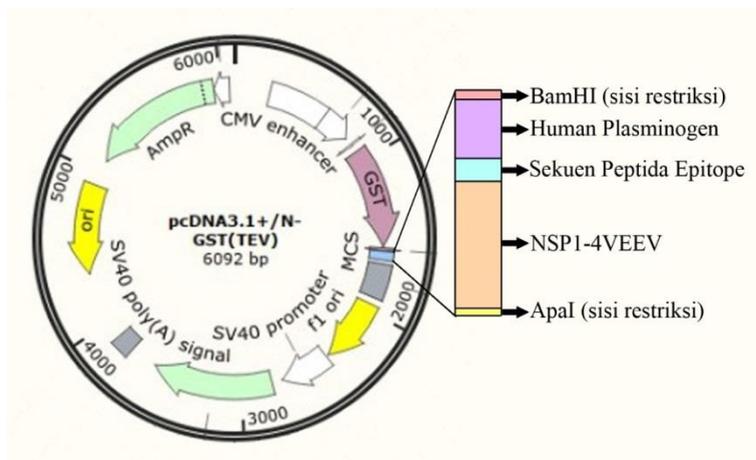
GST(TEV). Enzim GST berperan penting dalam proses katalis enzimatik untuk detoksifikasi senyawa yang bersifat mutagenik, karsinogenik dan mutagenik melalui konjugasi. GST terdiri atas 6 kelas enzim sitotoksik yaitu mu, pi, theta, sigma, alpha dan zeta serta terdapat kelas GST yang terikat dengan membran yaitu GST kappa mitokondria dan GST mikrosomal. (Chen *et al.*, 2017). Aktivitas berlebihan enzim GST terutama GST pi dapat digunakan sebagai penunjuk adanya tumor. Oleh karena itu, peningkatan berlebihan aktivitas enzim GST kelas tertentu dan jika diberikan terapi maka akan mengalami resistensi karena sebagian obat sitostatik akan dimetabolisme melalui konjugasi glutasi (GSH) yang dikatalisis GST (Malik, 2016). Enzim GST berperan dalam menjaga protein target dari degradasi proteolitik dan menstabilkan protein target dalam fraksi monomer ataupun homodimer. Namun GST memiliki kelemahan lain berupa beberapa jenis protein yang digabungkan dengan GST tidak bisa larut atau bahkan seluruhnya (Maksum *et al.*, 2019).

Menurut Sequeira *et al* (2017), vektor *E coli* menjadi vektor bakteri yang paling sering digunakan karena mudah ditangani, tumbuh dengan cepat pada media kaya kurang lebih 20 menit. Namun bakteri (vektor) ini memiliki kelemahan dalam sistem ekspresi, terutama pada sistem untuk memproduksi biofarmasi. Selain itu terdapat kelemahan lain seperti kelarutan rendah, masalah endotoksin, kurangnya modifikasi pasca-translasi dan pelipatan protein yang tidak tepat nantinya akan membuat protein menjadi tidak aktif. Sehingga penambahan Tag fusi protein diharapkan mampu meningkatkan ekspresi protein

dan/atau kelarutan protein (Ki dan Pack, 2020). Tag fusi terdiri atas peptida yang terikat dengan protein target dan membantu pelipatan protein secara alami untuk mencapai tingkat selanjutnya untuk protein yang akan diekspresikan. Oleh karena itu penggunaan Tag fusi Glutathione S-Transferase (GST) diharapkan mampu meningkatkan ekspresi protein yang diinginkan agar nantinya mendapatkan hasil yang optimal. Tag fusi juga bisa meningkatkan nilai kelarutan, berat molekul, nilai pI dan nilai GRAVY (Isalan *et al.*, 2013). Sementara itu Tag afinitas digunakan bersama dengan ligan pengikat afinitas yang sesuai untuk memungkinkan pemurnian protein yang cepat dan efisien yang kemudian menyebabkan peningkatan hasil produksi protein yang diekspresikan. Apabila disertakan TEV (*Tobacco Etch Virus*) pada plasmid maka Tag afinitas akan dihapus setelah purifikasi. Hal ini dilakukan untuk memastikan bahwa Tag afinitas tidak mengganggu fungsi biologis dan mengganggu analisis struktural atau imunogenisitas yang tepat (Costa *et al.*, 2014).

Plasmid rekombinan yang sudah siap dirancang untuk dapat dilanjutkan dalam percobaan skala laboratorium untuk diwujudkan menjadi vaksin berbasis self-amplifying (SaRNA). Proses penghantaran mRNA yang terdapat dalam vaksin nantinya akan melewati tahap enkapsulasi nanolipid (LNPs) yang mana berisi mRNA dan menjadi mRNA-LNPs. Ketika nanolipid mendekati membran sel maka akan mengalami endositosis dan akan membentuk vesikel sehingga nanolipid akan dilapisi membran dan kemudian akan sampai di sitoplasma, mRNA tidak dapat bertahan lama dalam sel manusia sehingga setelah

memasuki sitoplasma vesikel akan hancur dan akan menyisakan mRNA (Shoenmaker *et al.* 2021), . Selanjutnya mRNA akan di translasi oleh ribosom dan akan menghasilkan protein yang diinginkan dengan kecenderungan bahwa protein dipresentasikan pada permukaan dalam membran.



**Gambar 4.2 Penggambaran Plasmid pcDNA3.1(+)/N-GST-TEV epitope protein spike dengan komponen-komponen lainnya**

### 4.3 Integrasi dengan AI Quran

Saat ini seluruh negara sedang berjuang untuk menemukan cara agar bisa melawan pandemi COVID-19. Pandemi yang melanda seluruh dunia mampu mengubah kebiasaan manusia sebagai makhluk sosial. Sejatinya manusia sebagai makhluk sosial harus dibatasi dengan diterapkannya protokol kesehatan sehingga membatasi ruang gerak menjadi terbatas. Hal tersebut dilakukan guna menekan risiko penularan SARS-CoV-2, selain itu diberlakukan juga *Work From Home*

(WFH) untuk mengurangi resiko penularan pada sektor pekerja. Pandemi COVID-19 sangat berpengaruh pada banyak sektor sehingga melumpuhkan ekonomi negara sehingga banyak masyarakat yang mengalami pemutusan hubungan kerja (PHK). Selain itu, akibat aturan protokol kesehatan sektor ibadah terkena imbas dikarenakan tata cara pelaksanaan agar terhindar dari resiko penularan.

Dampak yang diakibatkan pandemi ini banyak hikmah yang bisa dijadikan pelajaran seperti memiliki lebih banyak waktu untuk keluarga dan juga kepada Sang Pencipta Allah SWT. Adanya hikmah tersebut untuk memulihkan kehidupan sebagai umat Muslim agar bertindak ke haluan yang lebih baik dan jalan yang diridhoi oleh Allah SWT. Asal mula COVID-19 yang muncul dari kelelawar dan dianggap sepele nyatanya kini mampu merubah dunia dan melumpuhkan beberapa sektor.

Menurut sudut pandang sains berdasarkan tafsir bil ilmi kitab tafsir ilmi Kemenag (2016) menyatakan bahwa prinsip *mind-body medicine* atau suatu metode bahwa cara berpikir dan emosi dapat mempengaruhi kesehatan diri seseorang adalah standar yang banyak dikenal. Ditinjau dari sudut kejiwaan dan fisik, sakit adalah persepsi seseorang atas kesehatan dimana seseorang merasa kesehatannya terganggu. Sementara itu, penyakit adalah suatu proses fisik dan patofisiologis aktual yang sedang berlangsung dan dapat menyebabkan keadaan tubuh atau pikiran menjadi abnormal.

Mengenai kesehatan, Islam menyatakan bahwa hanya Allah SWT yang dapat menurunkan penyakit sekaligus obat untuk

menyembuhkan nya. Keadaan tersebut digambarkan dalam salah satu hadis

اللَّهُ بِإِذْنِ بَرِّ الدَّاءِ دَوَاءٌ أُصِيبَ فَإِذَا دَوَاءٌ دَاءٍ لِكُلِّ

*Rasulullah bersabda, "Setiap penyakit pasti ada obatnya, bila sebuah obat sesuai dengan penyakitnya maka penyakit itu akan sembuh dengan izin Allah 'azza wa jalla."* (HR Muslim).

Kesembuhan yang dikandung dalam Al Quran ataupun hadis terutama meliputi penyakit dalam hati. Akan tetapi dapat pula digunakan dalam menyembuhkan penyakit badan apabila dipakai untuk merukyah. Obat menjadi alat utama dalam penyembuhan penyakit saat ini (COVID-19) sehingga menjadi suatu kewajiban untuk menemukan obat (penawar) agar terkendali. Allah SWT juga sudah mendorong manusia agar selalu berdoa kepada-Nya pada setiap keadaan; sakit atau sehat, kaya atau miskin, lapang atau sempit agar senantiasa bersyukur atas anugerah yang telah diberikan-Nya.

Allah SWT telah memberikan kita petunjuk melalui firman-Nya pada Surah Yasin ayat 36:

سُبْحٰنَ الَّذِي خَلَقَ الزَّوْجَ كُلَّهَا مِمَّا تُنْبِتُ الْاَرْضُ وَمِنْ اَنْفُسِهِمْ  
وَمِمَّا لَا يَعْلَمُونَ ۝ ۳۶

Artinya: "Maha Suci Tuhan yang telah menciptakan pasangan-pasangan semuanya, baik dari apa yang ditumbuhkan oleh bumi dan dari diri mereka maupun dari apa yang tidak mereka ketahui." (QS: Yasin [36]: 36)

Berdasarkan tafsir Ibnu Katsir jilid 6 (2006) menyebutkan bahwa Allah SWT telah menciptakan segala sesuatu berpasang-

pasangan, baik itu berupa laki-laki dengan perempuan, kematian dengan kehidupan, penyakit dengan penawar (obat) dan lain sebagainya. Selain itu Allah SWT juga menciptakan makhluk-makhluk lain yang tidak mereka (mereka) ketahui, sebagaimana Allah yang Maha agung berfirman dalam QS. Adz-Dzariyat ayat 49:

وَمِنْ كُلِّ شَيْءٍ خَلَقْنَا زَوْجَيْنِ لَعَلَّكُمْ تَذَكَّرُونَ ٤٩

Artinya: “Dan segala sesuatu Kami ciptakan berpasang-pasangan supaya kamu mengingat kebesaran Allah.” (QS: Adz-Dzariyat [51]: 49)

## BAB V

### PENUTUP

#### 5.1 Kesimpulan

Kesimpulan pada penelitian ini adalah:

1. Sekuens peptida epitope protein Spike (S) SARS-CoV-2 yang dapat dikenali oleh sel B dan dipresesntasikan oleh HLA I dan HLA II kepada sel T didapatkan dengan sekuens **KLQNVVNQNAQALNT** dengan karakteristik tidak menginduksi reaksi alergi (autoimun), tergolong protein yang stabil, dipresentasikan di dalam membran sel, bersifat antigenik dan hidrofilik.
2. Plasmid pcDNA 3.1(+)-N-GST-TEV dirancang untuk bisa mengekspresikan *self-amplifying* RNA dengan bagian insert terdiri atas sekuens peptida epitope sel T pengkode protein spike (S) SARS-CoV-2 terpilih, *signal peptide* tPa (*tissue plasminogen activator*) dan NSP1-4VEEV untuk mengkode protein yang nantinya membantu replikasi dan menghasilkan *self-amplifying* RNA.

#### 5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian, terdapat beberapa saran yang dapat diajukan ke peneliti, antara lain:

1. Dibutuhkan lebih banyak karakteristik lainnya untuk mendapatkan sekuens peptida yang paling menjanjikan.
2. Perlu uji lanjutan menggunakan aplikasi atau software lain yang terkait dengan Immunoinformatika.
3. Perlu ditambahkan keterangan lebih mengenai bagian-bagian yang ada pada plasmid.

## DAFTAR PUSTAKA

- Afzal, A. (2020). Molecular diagnostic technologies for COVID-19; Limitations and Challenges. *Journal of Advanced Research*, 26. 149-59.
- Ahmadpoor, P., & Rostaing, L. (2020). Why the immune system fails to mount an adaptive immune response to a COVID-19 infection. *Transplant International*, 33(7), 824–825.
- Al-Tawfiq, J. A. (2020). Asymptomatic coronavirus infection: MERS-CoV and SARS-CoV-2 (COVID-19). *Travel Medicine and Infectious Disease*, 35(February), 101608.
- Anap, B.D., Iyer, C., dan Rao, K. (2013) Work-Related Musculoskeletal Disorders Among Hospital Nurses in Rural Maharashtra, India: A multi-center Survey. *International Journal of Research in Medical Sciences*. 1(2).
- Bauer, A., Podola, L., Mann, P., Missanga, M., Haule, A., Sudi, L., & Munseri, P, J. (2017). Preferential targeting of conserved Gag regions after vaccination with a heterologous DNA prime-modified vaccinia virus Ankara boosts HIV-1 vaccine regimen. *Journal of virology*. 91(18).
- Barawidjaja, Karnen Garna & Iris Rengganis. 2010. *Immunologi Dasar, Edisi ke-10*. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia Press. 199-201.
- Bergmann, C. C., & Silverman, R. H. (2020). COVID-19: Coronavirus replication, pathogenesis, and therapeutic strategies. *Cleveland Clinic Journal of Medicine*, 87(5), 1–7.
- Casali, N dan Preston, A. 2003. *E. coli plasmid vector: methods and applications*. Humana Press, New Jersey. Halaman: 317-323.
- Chen, Y., Tan, S., Yang, F., Chen, Z., Wu, Z., & Huang, J. (2017) soluble expression and purification of a functional Harpin protein in *Escherichia coli*. *Process Biochemistry*. 57. 200-206.
- Corum, J., Denise G., dan Carl Z., (2020). "Corona Virus Tracker". *The New York Times*.

<https://www.nytimes.com/interactive/2020/science/coronavirus-vaccine-tracker.html> (diakses pada tanggal 23 september 2021)

- Costa S, Almeida A, Castro A, Domingues L. (2014) Fusion tags for protein solubility, purification and immunogenicity in *Escherichia coli*: the novel Fh8 system. *Front Microbiol.* 97.
- de Wit, E., van Doremalen, N., Falzarano, D., Munster, V.J., 2016. SARS and MERS: recent insights into emerging coronaviruses. *Nat. Rev. Microbiol.* 14, 523–534.
- Doytchinova I, Hemsley S, Flower DR. 2004. Transporter associated with antigen processing preselection of peptides binding to the MHC: a bioinformatics evaluation. *Journal of Immunology.* 1;173 (11).
- El-manzalawy, Yasser. (2018). Machine learning approaches for epitope prediction. Iowa State University: Iowa.
- Gasteiger, E., Hoogland, C., Gattiker, A., Duvaud, S., Wilkins, M, R., Appel, R, D., & Bairoch, A. (2005). Protein identification and analysis tools on the ExPASy server. In *The Proteomics Protocols Handbook* (pp 571-607). Totowa, NJ: Humana Press.
- Gunardi, Wani Devita. 2021. Pemeriksaan Diagnosis Laboratorium COVID-19: Keterbatasan dan Tantangannya Saat Ini. *Jurnal Kedokteran Medita.* 27(2).173-182.
- Hardianto, Dudi., Alfik Indarto & Nurtjahjo Dwi Sasongko. 2015. Optimasi metode lisis alkali untuk meningkatkan konsentrasi plasmid. *Jurnal Bioteknologi & Biosains Indonesia.* 2(2).
- Huang, Y., Yang, C., Xu, X, F., Xu, W., & Liu, S, W. (2020). Structural and Functional Properties of SARS-CoV-2 Spike Protein: Potential Antivirus Drug Development for COVID-19. *Acta Pharmacologica Sinica.* 1-9.
- Isalan M, Chang K.Y, Yang J-R. (2013). Analysis and prediction of highly effective antiviral peptides based on random forests. *PLoS One*8.
- Julia L. McKechnie and Catherine A. Blish. (2020). The Innate Immune System: Fighting on The Front Lines or Fanning The Flames of COVID-19. *Chom* 2320.
- Kharisma, V. D., & Ansori, A. N. M. (2020). Construction of epitope-based peptide vaccine against SARS-CoV-2:

- Immunoinformatics study. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 14(Suppl1), 999–1005.
- Kharisma, V. D., Widodo, N., Ansori, A. N. M., & Nugraha, A. P. (2020). A vaccine candidate of zika virus (ZIKV) from polyvalent conserved b-cell epitope on viral glycoprotein: In silico approach. *Biochemical and Cellular Archives*, 20(August), 2785–2793.
- Ki, Mi-Ran dan Seung Pil Pack. (2020). Fusion tags to enhance heterologous protein expression. *Applied Microbiol Biotechnol*.
- Kowalski, P. S., Rudra, A., Miao, L., & Anderson, D. G. (2019). Delivering the messenger: advances in technologies for therapeutic mRNA delivery. *Molecular Therapy*, 27(4), 710-728.
- Kumar, U., Kumar, S., Varghese, S., Chamoli, R., & Barthwal, P. (2013). Review Article DNA Vaccine: A Modern Biotechnological Approach Towards Human Welfare And Clinical Trials. *International Journal of Research in Biomedicine and Biotechnology*, 3(1), 17–20.
- Li, X., Geng, M., Peng, Y., Meng, L., & Lu, S. (2020). Molecular immune pathogenesis and diagnosis of COVID-19. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 10(2), 102–108.
- Lingeswaran, M., Goyal, T., Ghosh, R., Suri, S., Mitra, P., Misra, S., & Sharma, P. (2020). Inflammation, Immunity, and Immunogenetics in COVID-19: A Narrative Review. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 35(3), 260–273.
- Liu, T., Hu, J., Xiao, J., He, G., Kang, M., Rong, Z., Lin, L., Zhong, H., Huang, Q., Deng, A., Zeng, W., Tan, X., Zeng, S., Zhu, Z., Li, J., Gong, D., Wan, D., Chen, S., Guo, L., Li, Y., Sun, L., Liang, W., Song, T., He, J., Ma, W., 2020. Time-varying transmission dynamics of Novel Coronavirus Pneumonia in China (preprint). *Systems Biology*.
- Lurie, N., Melanie S., Richard H., dan Jane H. (2020). Developing COVID-19 Vaccines at Pandemic Speed. *The New England Journal of Medicine: Perspective*. 1-5.
- Malik, A. (2016). Protein fusion tags for efficient expression and purification of recombinant proteins in the periplasmic space of *E. coli*. *3 Biotech*. 6(1).1-7.

- Makmun, A., & Hazhiyah, S. F. (2020). Tinjauan Terkait Pengembangan Vaksin Covid 19. *Molucca Medica*, 13, 52–59.
- Maksum, I.P., Lestari, A., Fauzia, R, P., Rachman, S.D., & Soedjanaatmadja, U.M .S. (2019). *Escherichia coli* BL21 (DE3) expression system using TorA signal peptide for recombinant human albumin (rHA) secretion. *International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences*. 10 (4).
- Marliana, Nina dan Widhyasih, Retno Martini. 2018. *Immunoserologi*, Cetakan Pertama. Pusat Pendidikan Sumber Daya Manusia Kesehatan, Badan Pengembangan dan Pemberdayaan Sumber Daya Manusia Kesehatan: Kebayoran Baru, Jakarta Selatan.
- Mason, R. J. (2020). Pathogenesis of COVID-19 from a Cell Biology Perspective. *European Respiratory Journal*, 55(4), 9–11.
- McCoy, K., Peterson, A., Tian, Y., & Sang, Y. (2020). Immunogenetic association underlying severe covid-19. *Vaccines*, 8(4), 1–13.
- Müller, S., Croning, M. D., Apweiler, R. (2001). Evaluation of methods for the prediction of membrane-spanning regions. *Bioinformatics* 17.
- Mutiah, R., Indrawijaya, Y.Y., Puspita, D., 2020. Study In Silico Compounds In 96% Ethanol Extract of *Chrysanthemum cinerariifolium* (Trev.) Leaves Towards Alfa Estrogen Receptors. Indonesia. *J. Cancer Chemoprevention* 11, 144–153.
- Pei, G., Zhang, Z., Peng, J., Liu, L., Zhang, C., Yu, C., Ma, Z., Huang, Y., Liu, W., Yao, Y., Zeng, R., & Xu, G. (2020). Renal involvement and early prognosis in patients with COVID-19 pneumonia. *Journal of the American Society of Nephrology*, 31(6), 1157–1165.
- Pereira, V. B., Zurita-Turk, M., Saraiva, T. D. L., De Castro, C. P., Souza, B. M., Mancha Agresti, P., Lima, F. A., Pfeiffer, V. N., Azevedo, M. S. P., Rocha, C. S., Pontes, D. S., Azevedo, V., & Miyoshi, A. (2014). DNA Vaccines Approach: From Concepts to Applications. *World Journal of Vaccines*, 04(02), 50–71.

- Primrose, S. B., Twyman, R.M., dan Old R. W. 2001. Principles of gene manipulation, sixth edition. Blackwell Publishing, Oxford. Halaman: 143-152.
- Sanchez-Trincado, J. L., Gomez-Perosanz, M., & Reche, P. A. (2017). Fundamentals and Methods for T- and B-Cell Epitope Prediction. *Journal of Immunology Research*, 2017.
- Shoenmaker, Linda, Dominik Witzigmann, Jayesh A. Kulkarni, Rein Verbeke, Gideon Kersten, Wim Jiskoot & Daan J.A, Crommelin. 2021. mRNA-lipid nanoparticle COVID-19 vaccines: Structure and Stability. *International Journal of Pharmaceutics*. 601.
- Sequeira, Ana Filipa, Turchetto, J., Saez, N., Peysson, F.,...&Vincentelli, Renauld. (2017). Gene design, fusion technology, and TEV cleavage conditions influence the purification of oxidized disulfide-rich venom peptides in *Escherichia coli*. *Microbial Cell Factories*. 16:4.
- Sørensen, H. P., & Mortensen, K. K. (2005). Advanced genetic strategies for recombinant protein expression in *Escherichia coli*. *Journal of Biotechnology*, 115(2), 113–128.
- Sri Utami, B. (1997). Major Hystocompatibility Complex: Struktur, Fungsi, Hubungan Dengan Penyakit Dan Pemanfaatan Dalam Respon Imun. *Media Litbangkes*. Vol VII (03).
- Sudiono, Janti. 2014. Sistem Kekebalan Tubuh. Penerbit Buku Kedokteran EGC: Jakarta.
- Sukmawati, Ni Made Suci. 2015. *BIOINFORMATIKA*. Udayana Press. Denpasar. Hal 2-4.
- Susmiarsih, T. P., & Putih, C. (2018). Kajian DNA Rekombinan pada Vaksin DNA dan Vaksin Subunit Protein Study of Recombinant DNA in DNA Vaccines and Protein Subunit Vaccines Tri Panjiasih Susmiarsih. *PharmaMedika*, 10(2), 108–128.
- Temsah, M. H., Al-Sohime, F., Alamro, N., Al-Eyadhy, A., Al-Hasan, K., Jamal, A., Al-Maglouth, I., Aljamaan, F., Al Amri, M., Barry, M., Al-Subaie, S., & Somily, A. M. (2020). The psychological impact of COVID-19 pandemic on health care workers in a MERS-CoV endemic country. *Journal of Infection and Public Health*, 13(6), 877–882.

- Tortora, G.J., Funke, B. R. Dan Case, C. L. 2007. Microbiology; an introduction, Ninth Edition. Pearson Education, Inc., San Fransisco. Halaman: 189-190.
- Unnikrishnan, M., Rappuoli, R., & Serruto, D. (2012). Recombinant bacterial vaccines. *Current Opinion in Immunology*, 24(3), 337–342.
- Vallamkondu, J., John, A., Wani, W.Y., Ramadevi, S.P., Jella, K.K., Reddy, P.H., Kandimalla, R., 2020. SARS-CoV-2 pathophysiology and assessment of coronaviruses in CNS diseases with a focus on therapeutic targets. *Biochim. Biophys. Acta Mol. Basis Dis.* 1866, 165889.
- Wang, F., Richard M. K., dan George B. S. (2020). An Evidence-Based Perspective on mRNA SARS-CoV-2 Vaccine Development. *Medical Science Monitor.* 2(6).
- Xiao, F., Tang, M., Zheng, X., Liu, Y., Li, X., Shan, H., 2020. Evidence for Gastrointestinal Infection of SARS-CoV-2. *Gastroenterology* 158, 1831-1833.e3
- Yoon, S. H., Jeong, H., Kwon, S., dan Kim, J. F. 2009. Genomics, biological features, and biotechnological applications of *Escherichia coli* B: “is B for better?!” Dalam: Lee, S. Y. *Systems biology and biotechnology of Escherichia coli.* Springer, Netherlands.
- Zhang, H., Penninger, J.M., Li, Y., Zhong, N., Slutsky, A.S., 2020. Angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) as a SARS-CoV-2 receptor: molecular mechanisms and potential therapeutic target. *Intensive Care Med.* 46.

# LAMPIRAN

## LAMPIRAN 1 Kumpulan Software Yang Digunakan

The screenshot shows the EpiCoV search interface. At the top, there is a navigation bar with 'Registered Users', 'EpiFlu™', 'EpiCoV™', and 'My profile'. Below this is a search bar with 'EpiCoV™' and buttons for 'Search', 'Downloads', and 'Upload'. The search filters include 'Accession ID', 'Location', 'Collection', 'Clade', 'Submission', 'Substitutions', and 'Variants'. A table of search results is displayed with columns for 'Passage d', 'Accession ID', 'Collection date', 'Submission', 'Length', 'Host', 'Location', and 'Originality'. The table lists several entries for 'hCoV-19/Spain/CT-HUVH-R2345/2020' and 'hCoV-19/Spain/CT-HUVH-R91653/2020'. The 'High Coverage' column is highlighted in the original image.

Passage d	Accession ID	Collection date	Submission	Length	Host	Location	Originality
Original	EPI_ISL_6595311	2020-07-23	2021-11-22	29,873	Human	Europe / Spain /	Hospital
Original	EPI_ISL_6595310	2020-04-29	2021-11-22	29,874	Human	Europe / Spain /	Hospital
Original	EPI_ISL_6595309	2021-02-08	2021-11-22	29,871	Human	Europe / Spain /	Hospital
Original	EPI_ISL_6595308	2020-12-10	2021-11-22	29,874	Human	Europe / Spain /	Hospital
Original	EPI_ISL_6595307	2020-04-04	2021-11-22	29,903	Human	Europe / Spain /	Hospital
Original	EPI_ISL_6595306	2020-06-06	2021-11-22	29,875	Human	Europe / Spain /	Hospital
Original	EPI_ISL_6595305	2021-01-16	2021-11-22	29,866	Human	Europe / Spain /	Hospital

Klik EpiCOV > Search > Masukkan Lokasi yang diinginkan > Dicentang kolom “High Coverage”.

The screenshot shows a Notepad window with the full nucleotide sequence of the SARS-CoV-2 genome. The sequence is displayed in a single line, starting with 'NC\_045512.2' and ending with 'complete genome'. The sequence is a long string of nucleotide bases (A, C, G, T) and dashes representing gaps in the sequence.

Tampilan sekuen yang sudah di unduh





Blastp untuk menguji kemiripan protein dengan peptide manusia

ExPasy untuk menentukan nilai Hidrofobitas (GRAVY)

Uji antigenicity

Home Data sets Method description Contact

## AllerTOP v. 2.0

Bioinformatics tool for allergenicity prediction

Enter a PROTEIN sequence here as a plain text (one letter code)

Get the result

For jobs containing >100 proteins please contact idimitrov@pharmfac.mu-sofia.bg.

MU - Sofia - Faculty of Pharmacy - Department of Chemistry

## Uji Alergenisitas

### TMHMM - 2.0

Prediction of transmembrane helices in proteins

Submission Guide Downloads

#### Submission

Submission of a local file in [FASTA](#) format (HTML 3.0 or higher)

[Telusuri...](#) Tidak ada berkas dipilih.

OR by pasting sequence(s) in [FASTA](#) format:

#### Output format:

- Extensive, with graphics  
 Extensive, no graphics  
 One line per protein

#### Other options:

Use old model (version 1)

#### Restrictions:

At most 10,000 sequences and 4,000,000 amino acids per submission; each sequence not more than 8,000 amino acids.

#### Confidentiality:

## Prediksi Transmembran



## LAMPIRAN 2 Kitab Tafsir Dan Jurnal Yang Digunakan Untuk Integrasi

29. AL 'ANKABUUT

وَهُوَ الْعَزِيزُ الْحَكِيمُ ﴿٤٣﴾ وَيَذَكُّ الْأُمَّمَ لِتَنْصُرِيهَا لِلَّذِينَ  
 وَمَا يَعْقِلُهَا إِلَّا الْعَالِمُونَ ﴿٤٤﴾

*Perumpamaan orang-orang yang mengambil pelindung-pelindung selain Allah adalah seperti laba-laba yang membuat rumah. Dan sesungguhnya rumah yang paling lemah ialah rumah laba-laba, seandainya mereka mengetahui. (QS. 29:41) Sesungguhnya Allah mengetahui apa saja yang mereka seru selain Allah. Dan Dia Mahaperkasa lagi Mahabijaksana. (QS. 29:42) Dan perumpamaan-perumpamaan ini Kami buat untuk manusia; dan tidak ada yang memahaminya kecuali orang yang berilmu. (QS. 29:43)*

Ini adalah perumpamaan yang dibuat oleh Allah bagi orang-orang musyrik yang menjadikan (bagi mereka) ilah-ilah lain selain Allah, dimana mereka mengharapkan pertolongannya, meminta rizki dan berpegang pada mereka dalam keadaan sempit. Keadaan mereka itu seperti sarang laba-laba dalam kelemahan dan kerapuhannya. Tidak ada di tangan-tangan ilah mereka itu kecuali seperti orang yang berpegangan dengan sarang laba-laba yang tidak dapat merubah apa-apa. Seandainya mereka mengetahui hal tersebut, niscaya mereka tidak akan mengambil selain Allah sebagai penolong. Ini tentu saja berbeda dengan orang Islam yang hatinya beriman kepada Allah, dan di samping itu dia berbuat amal baik dengan mengikuti syari'at. Dia berpegang dengan buhul tali yang amat kuat yang tidak akan lepas karena begitu kuat dan kokohnya. Kemudian Allah Ta'ala berfirman mengancam orang yang menyembah selain Allah dan menyekutukan-Nya, Allah ﷻ Mahamengetahui perbuatan-perbuatan yang mereka lakukan serta mengetahui tandingan-tandingan yang mereka persekutukan serta akan membalas mereka. Sesungguhnya Dia adalah Mahabijaksana lagi Mahamengetahui. Kemudian, Allah Ta'ala berfirman, ﴿ وَيَذَكُّ الْأُمَّمَ لِتَنْصُرِيهَا لِلَّذِينَ وَمَا يَعْقِلُهَا إِلَّا الْعَالِمُونَ ﴾ "Dan perumpamaan-perumpamaan ini Kami buat untuk manusia dan tidak ada yang memahaminya kecuali orang-orang yang berilmu," yaitu, tidak ada yang dapat memahami dan menungkkannya kecuali orang-orang yang kokoh dalam ilmunya serta men-

Terjemahan QS Al-Ankabut 29:43 berdasarkan kitab tafsir Ibnu Katsir

وَالْأَنْهَابِ وَمِنْ كُلِّ الشَّجَرِ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً لِّقَوْمٍ يَتَفَكَّرُونَ

﴿١١﴾

*Dia-lah yang telah menurunkan air hujan dari langit untuk kamu, sebagiannya menjadi minuman dan sebagiannya menyuburkan tumbuh-tumbuhan, yang (pada tempat tumbuhnya) kamu menggembalakan ternakmu. (QS. 16:10) Dia menumbuhkan bagimu dengan air hujan itu tanaman-tanaman; zaitun, korma, anggur dan segala macam buah-buahan. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar ada tanda (kekuasaan Allah) bagi kamu yang memikirkannya. (QS. 16:11)*

Ketika Allah ﷻ telah menyebarkan apa yang telah Dia berikan nikmat kepada mereka, yaitu berupa binatang-binatang ternak, dan binatang-binatang melata, mulailah Dia menyebarkan nikmat-Nya yang diberikan kepada mereka yaitu berupa turunan hujan dari langit, yang di dalam hujan itu ada air minum dan kenikmatan dunia untuk mereka dan binatang-binatang mereka. Maka Allah ﷻ berfirman, ﴿ وَالشَّجَرِ مِنْ أَمْشَقِمْ ﴾ "Dan antarkamu sebagiannya menjadi minuman." Maksudnya, Allah menjadikannya tawar lagi cair, yang mudah bagimu meminumnya, dan Allah tidak menjadikannya asin lagi pahit. ﴿ وَبِهِ خَيْرٌ مِّمَّا تُشْرَبُونَ ﴾ "Dan sebagiannya (menyuburkan) tumbuh-tumbuhan yang (pada tempat tumbuhnya) kamu menggembalakan ternakmu." Maksudnya, Allah menumbuhkan tumbuh-tumbuhan dari hujan itu untukmu, yang kamu semua menggembalakan ternak-ternakmu di tempat itu, seperti apa yang dikatakan oleh Ibnu 'Abbas, 'Ikrimah, ad-Dhahhak, Qatadah dan Ibnu Zaid dalam Fihman Allah, ﴿ وَفِي السُّبْحِ ﴾ "Di tempat itu kamu menggembalakan ternakmu." Tustimiyun ( السُّبْحِ ) yaitu menggembalakan, dari lafaz itu pula disebut ( السُّبْحِ ) artinya, Unta yang digembalakan. Akar kata dari kata tersebut ( السُّبْحِ ) artinya penggembalaan.

Dan firman Allah, ﴿ وَبِهِ خَيْرٌ مِّمَّا تُشْرَبُونَ ﴾ "Dan sebagiannya (menyuburkan) tumbuh-tumbuhan yang (pada tempat tumbuhnya) kamu menggembalakan ternakmu." Maksudnya, Allah menumbuhkan tumbuh-tumbuhan dari hujan itu untukmu, yang kamu semua menggembalakan ternak-ternakmu di tempat itu, seperti apa yang dikatakan oleh Ibnu 'Abbas, 'Ikrimah, ad-Dhahhak, Qatadah dan Ibnu Zaid dalam Fihman Allah, ﴿ وَفِي السُّبْحِ ﴾ "Di tempat itu kamu menggembalakan ternakmu." Tustimiyun ( السُّبْحِ ) yaitu menggembalakan, dari lafaz itu pula disebut ( السُّبْحِ ) artinya, Unta yang digembalakan. Akar kata dari kata tersebut ( السُّبْحِ ) artinya penggembalaan.

### Terjemahan QS An-Nahl 16:11 berdasarkan kitab tafsir Ibnu Katsir

وَرِيَاءَ وَرِيَاءِ فِئَةٍ عَلَى ثَلَاثِ وُجُوْءٍ

"Kuda itu untuk tiga orang. Bagi seseorang kuda itu akan menjadi pahala, bagi seorang lagi akan menjadi *isatar* (penutup), dan bagi seorang yang lainnya akan menjadi dosa. Adapun orang yang mendapatkan pahala adalah orang yang mengikat kuda itu di jalan Allah, lalu dia membiarkannya di tempat penggembalaan atau taman dalam waktu yang lama, maka apa terjadi selama masa penggembalaannya di tempat penggembalaan dan taman itu' maka ia akan

322

Tafsir Ibnu Katsir Juz 30

99. AL ZALZALAH

menjadi kebaikan baginya. Dan jika dia menghentikan masa penggembalaannya lalu kuda itu melangkah satu atau dua langkah, maka jejak kaki dan juga kotorannya akan menjadi kebaikan baginya. Dan jika kuda itu menyeberangi sungai lalu ia minum air dari sungai tersebut, maka yang demikian itu menjadi kebaikan baginya, dan kuda itu pun bagi orang tersebut adalah pahala. Dan orang yang mengikat kuda itu karena untuk memperkaya diri dan demi kehormatan diri tetapi dia tidak lupa hak Allah dalam pemeliharaannya, maka kuda itu akan menjadi *isatar* baginya. Serta orang yang mengikatnya karena perasaan bange dan riya', maka ia hanya akan menjadi dosa baginya."

Kemudian Rasulullah ﷺ ditanya tentang keledai, maka beliau bersabda: ﴿ سَأَلَكَ اللَّهُ فِيمَا حَسِبَ إِلَّا هَذِهِ الْإِلَآءُ الْفَالِدَةُ الْجَمَاعَةُ ﴾ "Tanya Allah kepadamu tentang apa yang engkau kira kecuali ini, yaitu kelompok yang menggembalakan ternak."

### Terjemahan QS Al-Zalzalah 99:7-8 berdasarkan kitab tafsir Ibnu Katsir

#### b. Sunnah

*Ditanyakan dari Abu ra. Bahwa Rasulullah saw melewati suatu kam yang mengering karena lalu rasul memukulnya agar tidak dilakikan. Namun ternyata setelah sekian beberapa waktu karena itu berubah namun kemudian keci' tidak mungkin. Perkaru itu dilaporkan kembali kepada rasul. Lalu Rasulullah saw berkata: kamu sekalian lebih mengetahui tentang perkara-perkara kalian! (HR. Muslim)*<sup>8</sup>

Hadis ini merupakan hadis yang tegas tentang kebolehan melakukan penelitian dan riset. Rasul menega petakawian buatan yang dilakukan para petani karena tidak akan membuahkan hasil yang maksimal, ternyata hipotesanya salah dan yang benar justru pengalaman para petani karena tersebut yang telah bertahuntakan melakukan hal tersebut sebelumnya.

Dalam Shahih Bukhari juga diwayangkan tentang upaya Fatimah binti Rasulullah saw untuk mengobati luka sayanya Rasulullah saw dalam perang Uhud abb:

حدثنا سعيد بن عفرو: حدثنا يعقوب بن عبد الرحمن، عن أبي حازم، عن سهل بن صالح، عن كسرت بن عذبة، التي كلف على رأسه، وأبى وجهه، وكسرت راسه، وكان على خلف، بأداء في أبيه، وكانت فاضة لغضاه، فلما رأته لم يده على الماء، كبره، عمدت إلى حمير فأمرقها، وأكفها على جرحه، فردا<sup>9</sup>.

Artinya: Telah bercerita kepada kami Sa'ud bin 'Utsir telah bercerita kepada kami Ya'qub bin 'Abdur Rahman dari Abu Hazim dari Sahal berkata: Ketika tepi baya di atas kepala Nabi shallallahu 'alaihi wasallam pecah dan wajah Beliau berdarah darah serta gigi-garoham Beliau pecah. 'Ali binti masuk membawakan air dengan perisai sebagai wadahnya. Adalah Fatimah ketika melihat darah terus menggali semakan hayak dalam air basuhan dia menambal akar yang terbit dari daun barhy) lalu membawanya (sampai menjadi debu) kemudian menempelkannya pada luka Beliau hingga darah berhenti mengalir.

Upaya yang dilakukan Fatimah menggunakan daun barhy yang dibakar lalu ditempelkan pada luka Rasulullah adalah percobaan yang belum dilakukan sebelumnya dalam mengobati luka dan juga bukan atas petunjuk rasul saw. Namun usaha itu ternyata membuahkan hasil, sehingga darah yang tadinya mengalir terus

menjadi terhenti. Percobaan yang dilakukan Fatimah dihadapan Rasulullah ini dapat dikategorikan sebagai dalil hadis taqiri atau percobaan mencari segala walahid demi penyembuhan luka dan penyakit. Dengan demikian, hadis taqiri ini dapat dijadikan salah satu dalil nyata' bagi penemuan obat baru dan perqisiannya terhadap manusia.

Mamam dianjurkan untuk mencari berbagai obat dari penyakit yang diternyata sebagaimana dalam hadis tersebut dan hadis lainnya seperti berikut ini:

عن أبي هريرة عن النبي ﷺ : ما أتت له داء إلا أتت له داء (رواه البخاري)

Artinya: Dari Abu Hurairah ra. Dari nabi saw: "Allah swt tidak menurunkan penyakit kecuali Allah menurunkan pula penawarnya." (HR. Bukhari)

عن حارون بن أبي ﷻ : لكل داء دواء فإذا أصيب دواء فما يزال له عومل (رواه مسلم)

Artinya: Dari Ashir ra. dari nabi saw: "Setiap penyakit ada obatnya. Jika obat itu mengenai penyakit maka ia akan sembuh dengan izin Allah azza wa jalla." (HR. Muslim)

عن عبد الله بن مسعود يلع به النبي ﷺ : ما أتت له داء إلا أتت له دواء منه من عهد وجهه من حبه (رواه أحمد)

Artinya: Dari Abdullah bin Mas'ud dari nabi saw: "Allah swt tidak menurunkan penyakit kecuali Allah menurunkan pula penawarnya yang diketahui oleh siapa saja yang mengetahuinya, dan tidak diketahui (sehar itu) siapa saja yang tidak mengetahuinya." (HR. Ahmad)

Hadis-hadis ini memberi kesimpulan bahwa setiap penyakit pasti ada obatnya. Haray saja untuk memperoleh obat yang tepat untuk setiap penyakit tersebut dibutuhkan kerja keras, percobaan dan penelitian agar setiap dapat diketahui efeknya secara aman dan manfaatnya secara maksimal.

#### c. Kaedah Fiqhiyah

Pengujian obat sejawatnya bertujuan untuk mencari solusi terhadap berbagai penyakit yang diderita umat manusia. Tujuan ini sejalan dengan salah satu tujuan penyelaratan yaitu *Hiflu an Nafli*. Dengan demikian, secara tidak langsung pengujian obat adalah sesuatu yang diperintahkan oleh agama demi tercapainya maksud dan perobatan yang diperintahkan.

Hal ini juga sesuai dengan kaedah fiqh:

## Terjemahan HR Bukhari

### LAMPIRAN 3 Bukti Konsultasi Bimbingan Skripsi



KEMENTERIAN AGAMA  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
PROGRAM STUDI BIOLOGI  
Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp (0341) 558933, Fax. (0341) 558933

#### KARTU KONSULTASI SKRIPSI

Nama : Fahmi Alief Afifudin  
NIM : 17620047  
Program Studi : S1 Biologi  
Semester : Ganjil TA 2021/2022  
Pembimbing : Dr. Kiptiyah, M.Si  
Judul Skripsi : Pemetaan Epitope Sel T Pengkode Protein Spike SARS-CoV-2 Menggunakan Pendekatan Immunoinformatika Sebagai Kandidat Vaksin SaRNA (*Self-Amplifying*)

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
1	1 Maret 2021	Simulasi Seminar Proposal	f
2	23 Maret 2021	Konsultasi BAB I, II dan III	f f
3	29 Maret 2021	Revisi BAB I, II dan III	f f
4	1 Juni 2021	Acc Proposal Skripsi	f f
5	25 Oktober 2021	Konsultasi BAB IV	f
6	11 November 2021	Konsultasi BAB IV dan revisi	f
7	22 November 2021	Acc Naskah Skripsi	f

Malang, 24 November 2021

Pembimbing Skripsi,

Dr. Kiptiyah, M.Si  
NIP. 19731005 200212 2 003

Ketua Program Studi,



Dr. Evika Sandi Savitri, M.P  
NIP. 19741018 200312 2 002

**LAMPIRAN 4 Bukti Konsultasi Bimbingan Agama**

KEMENTERIAN AGAMA  
 UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG  
 FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
 PROGRAM STUDI BIOLOGI  
 Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp (0341) 558933, Fax. (0341) 558933

**KARTU KONSULTASI AGAMA SKRIPSI**

Nama : Fahmi Alief Affudin  
 NIM : 17620047  
 Program Studi : S1 Biologi  
 Semester : Ganjil TA 2021/2022  
 Pembimbing : Mujahidin Ahmad, M.Sc  
 Judul Skripsi : Pemetaan Epitope Sel T Pengkode Protein Spike SARS-CoV-2 Menggunakan Pendekatan Immunoinformatika Sebagai Kandidat Vaksin SaRNA (*Self-Amplifying*)

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
1	10 Maret 2021	Integrasi BAB I dan BAB II	
2	31 Maret 2021	Revisi Integrasi BAB I dan BAB II	
3	8 November 2021	Konsultasi Integrasi BAB IV	
4	24 November 2021	Konsultasi Integrasi dan Acc Naskah Skripsi	

Malang, 24 November 2021

**Pembimbing Skripsi,**

**Mujahidin Ahmad, M.Sc**  
 NIP. 19860512 201903 1 002

**Ketua Program Studi,**



**Dr. Evika Sandi Savitri, M.P**  
 NIP. 19741018 200312 2 002

LAMPIRAN 5 *Checklish* Plagiasi

KEMENTERIAN AGAMA  
 UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG  
 FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
 PROGRAM STUDI BIOLOGI  
 Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp (0341) 558933, Fax. (0341) 558933

## Form Checklist Plagiasi

Nama : Fahmi Alief Affudin  
 NIM : 17620047  
 Judul Skripsi : Pemetaan Epitope Sel T Pengkode Protein  
 Spike SARS-CoV-2 Menggunakan  
 Pendekatan Immunoinformatika Sebagai  
 Kandidat Vaksin SaRNA (*Self-Amplifying*)

No	Tim Check Plagiasi	Skor Plagiasi	Tanggal	TTD
1	Azizatur Rohmah, M.Sc			
2	Berry Fakhry Hanifa, M.Sc			
3	Bayu Agung Prahardika, M.Si			
4	Maharani Retna Duhita, M.Sc., PhD.Med.Sc	22%	18 Nov 2021	



Mengetahui  
 Ketua Program Studi Biologi

Dr. Evika Sandi Savitri, M. P  
 NIP. 19741018 200312 2 002