

**ANALISIS EPITOP PROTEIN RV3614 SEBAGAI KANDIDAT VAKSIN
TUBERKULOSIS BERBASIS PEPTIDA**

SKRIPSI

**Oleh:
THARISA SABRINA ARDYA GHARINI
NIM. 210602110127**



**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2025**

**ANALISIS EPITOP PROTEIN RV3614 SEBAGAI KANDIDAT VAKSIN
TUBERKULOSIS BERBASIS PEPTIDA**

SKRIPSI

**Oleh:
THARISA SABRINA ARDYA GHARINI
NIM. 210602110127**

**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
2025**

**ANALISIS EPITOP PROTEIN RV3614 SEBAGAI KANDIDAT VAKSIN
TUBERKULOSIS BERBASIS PEPTIDA**

SKRIPSI

Oleh:
THARISA SABRINA ARDYA GHARINI
NIM. 210602110127

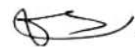
telah diperiksa dan disetujui untuk diuji
tanggal:

Pembimbing I

Pembimbing II



Prof. Dr. drh. Bayyinatul M., M.Si.
NIP. 19710919 200003 2 001



Prof. Dr. H. Munirul Abidin, M.Ag.
NIP. 197204202002121003

Mengetahui,
Ketua Program Studi Biologi



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

**ANALISIS EPITOP PROTEIN RV3614 SEBAGAI KANDIDAT VAKSIN
TUBERKULOSIS BERBASIS PEPTIDA**

SKRIPSI

Oleh:
THARISA SABRINA ARDYA GHARINI
NIM. 210602110127

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

Ketua Penguji	: Fitriyah, M.Si. NIP. 19860725 201903 2 013	
Anggota Penguji I	: Maharani Retna Duhita, PhD.Med.Sc NIP. 19880621 202012 2 003	
Anggota Penguji II	: Prof. Dr. drh. Bayyinatul Muchtarromah, M.Si. NIP. 19710919 200003 2 001	
Anggota Penguji III	: Prof. Dr. H. Munirul Abidin, M.Ag NIP. 197204202002121003	

**Mengesahkan,**
Kerna Program Studi Biologi

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

HALAMAN PERSEMBAHAN

Alhamdulillahirabbil ‘alamin, segala puji syukur atas kehadiran Allah SWT, Rabb semesta alam yang masih memberikan nikmat kesehatan, kesempatan dan kemudahan kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik. Sholawat serta salam semoga selalu tercurah limpahkan kepada baginda Nabi Muhammad SAW, semoga kita semua mendapatkan syafaat beliau dihari akhir, Aamiin. Penulis ingin mempersembahkan kepada:

1. Orang tua tercinta yaitu Bapak Agus Salim dan Ibu Rima Nur Riva Soraya yang senantiasa mendoakan dan mendukung penulis.
2. Prof. Dr. Evika Sandi Savitri, M.P. selaku Ketua Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Fitriyah, M.Si selaku dosen wali yang telah memberikan bimbingan kepada penulis dari awal hingga akhir studi.
4. Prof. Dr. drh. Hj. Bayyinatul Muchtarromah, M.Si selaku pembimbing skripsi yang telah banyak meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran untuk memberikan bimbingan dengan penuh kesabaran.
5. Prof. Dr. H. Munirul Abidin, M.Ag selaku dosen pembimbing agama yang telah banyak memberikan bimbingan terkait integrasi sains dan Islam.
6. Segenap civitas akademika Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang, terutama Jurusan Biologi, terima kasih atas segenap ilmu dan bimbingannya.
7. Teman-teman Angkatan 2021 Newcleus khususnya kelas A yang memberikan semangat kepada penulis hingga mampu menyelesaikan studi dengan baik.
8. Teman-teman PKL King Mongkut's University Technology of Thonburi Thailand, PRKTL, Dimple, Warlok Petungsewu, dan Kamar 29 yang senantiasa menemani dalam mengerjakan skripsi, bermain PS5, karaoke, serta billiard.
9. Perawat hemodialysis Persada Hospital dan RS. Lavalette yang telah membantu dan merawat proses cuci darah sehingga penulis dapat sehat dan bugar kembali.

MOTTO

“Melamban bukanlah hal yang tabu

Kadang itu yang kau butuh

Bersandar hibahkan bebanmu

Tak perlu kau berhenti kurasi

Ini hanya sementara

Bukan ujung dari rencana

Jalanmu kan sepanjang niatmu

Simpan tegar dalam hati

Dua sembilan kau terus mencari

Sebutlah namaNya

Tetap di jalanNya

Kelak kau mengingat

Kau akan teringat”

33x - Perunggu

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Tharisa Sabrina Ardy Gharini
NIM : 210602110127
Program Studi : Biologi
Fakultas : Fakultas Sains dan Teknologi
Judul Penelitian : Analisis Epitop Protein Rv3614 Sebagai Kandidat Vaksin
Tuberkulosis Berbasis Peptida

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

Malang, 2 Juni 2025

Saya membuat pernyataan,


METERAI
TEMPEL
05EE1AJX934472490
Tharisa Sabrina Ardy Gharini
NIM. 210602110127

PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

Skripsi ini tidak dipublikasikan namun terbuka untuk umum dengan ketentuan bahwa hak cipta ada pada penulis. Daftar pustaka diperkenankan untuk di catat, tetapi pengutipan hanya dapat dilakukan seizin penulis dan harus di sertai kebiasaan ilmiah untuk menyebutkannya.

Analisis Epitop Protein Rv3614 Sebagai Kandidat Vaksin Tuberkulosis Berbasis Peptida

Tharisa Sabrina Ardy Gharini, Bayyinatul Muchtarromah, Munirul Abidin

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

ABSTRAK

Tuberkulosis (TB) yang disebabkan oleh *Mycobacterium tuberculosis* masih menjadi masalah kesehatan yang serius, terutama di Indonesia dengan angka kasus yang tinggi. Vaksin BCG yang saat ini digunakan memiliki keterbatasan dalam pencegahan TB. Penelitian ini bertujuan merancang vaksin berbasis protein Rv3614 dari *M. tuberculosis* H37Rv secara in-silico. Data protein diambil dari database NCBI, kemudian dilakukan prediksi epitop sel B menggunakan situs IEDB dengan metode bepiperd 2.0. Epitop yang teridentifikasi diuji antigenisitas (Vaxijen), alergenitas (AllerTOP), dan toksisitas (ToxinPred). Struktur epitop dimodelkan menggunakan SWISS-Model dan PyMol, serta divalidasi melalui Ramachandran Plot. Analisis sifat fisikokimia dan kelarutan dilakukan dengan Expasy ProtParam dan Innovagen. Interaksi epitop dengan reseptor sel B manusia dianalisis melalui docking menggunakan ClusPro 2.0. Hasil penelitian menunjukkan empat epitop utama, yakni MDLPGNDFDSNDFD (posisi 1–14), LWGADGAEGWTAD (posisi 18–30), IIGVGSAATPDTGPDLDNAHGQAETDTEQ (posisi 32–60), dan GETWGLPSPEEAAAA (posisi 147–161). Epitop pada posisi 32–60 memiliki potensi terbaik sebagai kandidat vaksin karena bersifat antigenik, non-alergeni, dan non-toksik, serta memiliki sifat fisikokimia dan kelarutan yang mendukung. Docking menunjukkan energi ikatan terendah sebesar -1305,6, menandakan kompleks yang stabil. Penelitian ini mendukung pengembangan vaksin TB berbasis peptida yang efektif.

Kata kunci: epitop, TBC, vaksin, Rv3614

Analysis of Rv3614 Protein Epitopes as Peptide-Based Tuberculosis Vaccine Candidates

Tharisa Sabrina Ardy Gharini, Bayyinatul Muchtarromah, Munirul Abidin

Department of Biology, Faculty of Science and Technology, Universitas Islam
Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang

ABSTRACT

Tuberculosis (TB), caused by *Mycobacterium tuberculosis*, remains a serious health problem, especially in Indonesia where case numbers are high. The currently used BCG vaccine has limitations in preventing TB. This study aims to design an in-silico vaccine based on the Rv3614 protein from *M. tuberculosis* H37Rv. Protein data were retrieved from the NCBI database, followed by B-cell epitope prediction using the IEDB website with the bepiped 2.0 method. Identified epitopes were evaluated for antigenicity (Vaxijen), allergenicity (AllerTOP), and toxicity (ToxinPred). Epitope structures were modeled using SWISS-Model and PyMol, then validated by Ramachandran Plot analysis. Physicochemical properties and solubility were analyzed using ExPASy ProtParam and Innovagen. Interaction between the epitopes and human B-cell receptors was assessed through docking using ClusPro 2.0. The results identified four main epitopes: MDLPGNDFDSNDFD (positions 1–14), LWGADGAEGWTAD (positions 18–30), IIGVGSAATPDTGPDLDNAHGQAETDTEQ (positions 32–60), and GETWGLPSPEEAAAA (positions 147–161). The epitope at positions 32–60 showed the highest potential as a vaccine candidate due to its antigenic, non-allergenic, and non-toxic properties, as well as favorable physicochemical characteristics and solubility. Docking revealed the lowest binding energy of -1305.6, indicating a stable complex. This study supports the development of an effective peptide-based TB vaccine.

Keyword: epitope, TBC, vaccine, Rv3614

كمرشح للقاح السل القائم على الببتيد Rv3614 تحليل الحواتم البروتينية ترانسة سابرينا أرديا غاريني، بييناتول مختارومة، منير العابدين

قسم الأحياء، كلية العلوم والتكنولوجيا، الجامعة الإسلامية الحكومية مولانا مالك إبراهيم مالانج

الملخص

من المشكلات الصحية *Mycobacterium tuberculosis* الذي تسببه بكتيريا (TB) يُعد مرض السل المستخدم حاليًا يعاني من BCG الخطيرة، خاصة في إندونيسيا التي تشهد معدلات إصابة مرتفعة. لقاح من Rv3614 محدودية في فعاليته للوقاية من السل. يهدف هذا البحث إلى تصميم لقاح قائم على البروتين تم الحصول على (in-silico) باستخدام تقنيات الحوسبة الحيوية *M. tuberculosis H37Rv* سلالة وطريقة IEDB وتم التنبؤ بحواتم الخلايا البائية باستخدام موقع NCBI بيانات البروتين من قاعدة بيانات AllerTOP) والتحسس (Vaxijen) خضعت الحواتم المكتشفة لاختبار المستضدية bepiped 2.0 وتحقق من PyMol و SWISS-Model تم نمذجة بنية الحواتم باستخدام (ToxinPred) والسمية كما أجريت تحليلات للخصائص الفيزيائية والكيميائية Ramachandran صحتها بواسطة مخطط وتم تحليل تفاعل الحواتم مع مستقبلات Innovagen و Expasy ProtParam والذوبانية باستخدام مواقع أظهرت النتائج وجود (Docking) للمحاكاة الجزيئية ClusPro 2.0 الخلايا البائية البشرية باستخدام أداة MDLPGNDFDSNDFD (الموقع 1-14)، LWGADGAEGWTAD (الموقع 32-60)، IIGVGSAAATPDTGPDLDNAHGQAETDTEQ (الموقع 18-30)، (الموقع 147-161). وكانت الحاتمة في الموقع 32-60 الأوفر حظاً GETWGLPSPEEAAAA و كمرشح لقاح نظرًا لخصائصها المستضدية، وغير التحسسية، وغير السامة، فضلاً عن خصائصها الفيزيائية والكيميائية والذوبانية المناسبة. وأظهر الالتحام الجزيئي طاقة ارتباط منخفضة تبلغ -1305.6، مما يشير إلى استقرار المركب الناتج. يدعم هذا البحث تطوير لقاح فعال للسل القائم على الببتيد

Rv3614، الكلمات المفتاحية: حاتمة، السل، لقاح

KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Allah Swt. yang telah menganugraahkan rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir yang berjudul ” Analisis Epitop Protein Rv3614 Sebagai Kandidat Vaksin Tuberkulosis Berbasis Peptida”. Tidak lupa shalawat dan salam disampaikan kepada junjungan Nabi besar Muhammad SAW. Yang telah menegakkan agama Islam yang terpatri hingga akhir zaman. Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada seluruh pihak yang membantu menyelesaikan skripsi ini, terkhusus kepada:

1. Prof. Dr. H. M. Zainuddin, M.A selaku Rektor Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Prof. Dr. Hj. Sri Harini, M.Si selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Prof. Dr. Evika Sandi Savitri, M.P selaku Kepala Program Studi Biologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Fitriyah, M.Si selaku dosen wali yang telah memberikan bimbingan kepada penulis dari awal hingga akhir studi.
5. Prof. Dr. drh. Hj. Bayyinatul Muchtarromah, M.Si selaku pembimbing skripsi yang telah banyak meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran untuk memberikan bimbingan dengan penuh kesabaran.
6. Prof. Dr. H. Munirul Abidin, M.Ag selaku dosen pembimbing agama yang telah banyak memberikan bimbingan terkait integrasi sains dan Islam.
7. Segenap civitas akademika Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang, terutama Jurusan Biologi, terima kasih atas segenap ilmu dan bimbingannya.
8. Bapak Agus Salim dan Ibu Rima Nur Riva Soraya selaku kedua orang tua saya yang telah mendukung semua kegiatan saya.
9. Rekan PKL King Mongkut's University Technology of Thonburi Thailand, PRKTL, Dimple, Warlok Petungsewu, Kamar 29 dan seluruh teman di Glory Class A.

Semoga segala kebaikan yang diberikan oleh beberapa pihak tersebut kepada penulis mendapatkan balasan kebaikan dari Allah Swt. Penulis masih melakukan kesalahan dalam penyusunan skripsi ini, Oleh karena itu, penulis meminta maaf atas kesalahan yang dilakukan penulis dan berharap adanya kritik dan saran yang membangun sehingga skripsi ini dapat bermanfaat bagi pembaca dan dapat dijadikan referensi demi pengembangan ke arah yang lebih baik. Semoga Allah Swt. senantiasa melimpahkan rahmat dan rida-Nya kepada kita semua. Aamiin.

Malang, 2 Juni 2025

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN COVER.....	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSETUJUAN.....	Kesalahan! Bookmark tidak ditentukan.
HALAMAN PENGESAHAN	Kesalahan! Bookmark tidak ditentukan.
HALAMAN PERSEMBAHAN	v
MOTTO	vi
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN.....	Kesalahan! Bookmark tidak ditentukan.
PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI	viii
ABSTRAK.....	ix
ABSTRACT.....	x
المُلخَص.....	xi
KATA PENGANTAR.....	xii
DAFTAR ISI.....	xiii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	10
1.3 Tujuan Penelitian	10
1.4 Manfaat Penelitian	10
1.5 Batasan Masalah	11
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	12
2.1 Tuberkulosis Paru-Paru.....	12
2.2 Bakteri <i>Microbacterium tuberculosis</i>	15
2.3 Epitop Protein	19
2.4 B-Cell Receptor (BCR).....	21
2.5 Vaksin.....	22
2.6 Metode <i>In Silico</i>	28
BAB III METODE PENELITIAN.....	30
3.1 Jenis Penelitian.....	30
3.2 Waktu dan Tempat.....	30
3.3 Alat dan Bahan.....	30
3.4 Prosedur Penelitian	31
3.5 Analisis Data.....	32
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	37
4.1 Pengambilan Sampel.....	37
4.2 Prediksi Epitop Sel B	37
4.3 Uji Antigenisitas, Alergenisitas dan Toksisitas Kandidat Vaksin.....	43
4.4 Pemodelan dan Validasi Struktur Protein.....	45
4.5 Sifat Fisikokimia dan Kestabilan Kandidat Vaksin.....	46
4.6 Uji Kelarutan Kandidat Vaksin	49
4.7 Uji Interaksi Epitop Rv3614 dengan Reseptor Sel B Manusia	50

BAB V PENUTUP	
5.1 Kesimpulan	54
5.2 Saran	54
DAFTAR PUSTAKA	56
LAMPIRAN.....	66

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
4.1 Model <i>predicted linear</i> epitop pada protein RV3614 dari website <i>IEDB Analysis Resource</i>	38
4.2 Model <i>predicted discontinuous</i> epitop pada protein RV3614 dari website <i>IEDB Analysis Resources</i>	39
4.3 Hasil prediksi epitop menggunakan website Ellipro	40
4.4 Hasil prediksi epitop menggunakan website Ellipro yang memiliki rantai asam amino lebih dari 10.....	42
4.5 Visualisasi letak epitop pada protein Rv3614	42
4.6 Hasil uji antigenisitas, alergenitas, dan toksisitas kandidat vaksin.....	43
4.7 Hasil pemodelan dan validasi struktur peptida kandidat vaksin.....	46
4.8 Hasil uji sifat fisikokimia dan kestabilan peptida kandidat vaksin .	46
4.9 Hasil uji kelarutan peptida kandidat vaksin.....	50
4.10 Hasil interaksi epitop Rv3614 dengan reseptor sel B <i>Homo sapiens</i>	51

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	15
2.2 Siklus hidup <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	18
3.1 B-Cell Reseptor <i>Homo sapiens</i>	36
4.1 Visualiasi protein RV3614	39
4.2 Visualisasi lima model <i>predicted linear epitope</i> protein RV3614.....	40
4.3 Visualisasi hasil uji interaksi ligan dengan reseptor	51

DAFTAR LAMPIRAN

1. Prediksi Epitop Linear Sel B.....	56
2. Uji Antigenisitas (Vaxijen 2.0).....	57
3. Uji Alergenisitas (AllerTOP 2.0).....	58
4. Uji Toksisitas.....	59
5. Hasil Pemodelan Struktur Prptide Kandidat Vaksin	60
6. Hasil Validasi Ramachandran Plot	61
7. Hasil Uji Kelarutan Kandidat Vaksin.....	62
8. Proses docking	63
9. Hasil docking	63

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Allah SWT. telah menciptakan segala sesuatu yang ada di dunia ini, termasuk makhluk hidup yang beraneka ragam, baik yang terlihat maupun tidak. Allah berfirman dalam Al-Quran bahwa Dia menciptakan segala sesuatu dengan tujuan yang bermanfaat bagi umat manusia. Setiap makhluk hidup, mulai dari tumbuhan, hewan, hingga mikroorganisme, diciptakan oleh Allah SWT. dengan hikmah dan fungsi tertentu yang memberikan manfaat bagi kelangsungan hidup dan kesejahteraan manusia. Sebagai contoh, mikroorganisme seperti bakteri juga memiliki peran penting dalam proses-proses biologis seperti pencernaan, penguraian sampah organik, dan bahkan dalam pengobatan penyakit.

Allah SWT. tidak hanya menciptakan makhluk hidup sebagai bentuk rahmat-Nya, tetapi juga memberi manusia kemampuan untuk memanfaatkan makhluk hidup tersebut dengan sebaik-baiknya. Allah berfirman dalam Surah Al-Baqarah ayat 164 sebagaimana berikut:

إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ وَاخْتِلَافِ اللَّيْلِ وَالنَّهَارِ وَالْفُلْكِ الَّتِي تَجْرَى فِي الْبَحْرِ بِمَا يَنْفَع النَّاسَ
وَتَصْرِيفِ الرِّيحِ وَمَا أَنْزَلَ اللَّهُ مِنَ السَّمَاءِ مِنْ مَّاءٍ فَأَحْيَا بِهِ الْأَرْضَ بَعْدَ مَوْتِهَا وَبَثَّ فِيهَا مِنْ كُلِّ دَابَّةٍ
وَالسَّحَابِ الْمُسَخَّرِ بَيْنَ السَّمَاءِ وَالْأَرْضِ لَآيَاتٍ لِقَوْمٍ يَعْقِلُونَ (١٦٤)

Artinya: “Sesungguhnya pada penciptaan langit dan bumi, pergantian malam dan siang, kapal yang berlayar di laut dengan (muatan) yang bermanfaat bagi manusia, apa yang diturunkan Allah dari langit berupa air, lalu dengan itu dihidupkan-Nya bumi setelah mati (kering), dan Dia tebarkan di dalamnya bermacam-macam binatang, dan perkisaran angin dan awan yang dikendalikan antara langit dan bumi, (semua itu) sungguh, merupakan tanda-tanda (kebesaran Allah) bagi orang-orang yang mengerti” (Al-Baqarah [2]: 164).

Tafsir Al-Qurthubi pada Al-Baqarah Ayat 164 menegaskan kebesaran Allah melalui tanda-tanda nyata di alam semesta. Penciptaan langit dan bumi yang begitu luas serta keseimbangan antara keduanya menunjukkan keesaan dan kekuasaan Allah. Pergantian malam dan siang yang teratur adalah bukti lain dari ketetapan Allah, yang memberikan manfaat besar bagi kehidupan manusia. Selain itu, keberagaman hewan yang tersebar di muka bumi juga menunjukkan kekuasaan Allah. Setiap makhluk ciptaan-Nya saling melengkapi dalam ekosistem yang telah diatur-Nya dengan sempurna. Begitu pula angin yang bertiup dan awan yang bergerak di antara langit dan bumi menjadi bukti kekuasaan Allah dalam mengatur segala sesuatu. Semua tanda ini adalah pelajaran berharga bagi siapa saja yang mau merenung dan memikirkan kebesaran Sang Pencipta. Melalui tanda-tanda ini, manusia diajak untuk mengenal, memahami, dan mengesakan Allah.

Hubungan antara manusia dengan makhluk hidup lainnya telah berlangsung selama jutaan tahun dan sangat kompleks. Manusia tidak hanya berinteraksi dengan makhluk yang berukuran makro namun juga memiliki interaksi dengan makhluk hidup berukuran mikro. Salah satu makhluk mikro yang berinteraksi dengan manusia yaitu bakteri. Bakteri merupakan mikroorganisme bersel tunggal yang termasuk dalam kelompok prokariota, artinya mereka tidak memiliki inti sel yang tertutup oleh membran (Uluçay, 2023). Menurut Wahyuni & Ramadhani (2020) bakteri memiliki nilai positif dan negatif bagi kehidupan manusia. Interaksi antara manusia dengan bakteri terbagi menjadi dua yaitu interaksi yang menguntungkan (simbiosis mutualisme) dan interaksi yang merugikan (patogen) (Illiano *et al.*, 2020). Bakteri yang memiliki sifat patogen dan merugikan manusia salah satunya

ialah *Mycobacterium tuberculosis* yang dapat menyebabkan penyakit tuberkulosis (Kanabalan *et al.*, 2021).

Tuberkulosis (TB) merupakan penyakit yang menyerang paru-paru dan disebabkan oleh *Mycobacterium tuberculosis* (Natarajan *et al.*, 2020). Penularan tuberkulosis terjadi melalui udara ketika seseorang yang terinfeksi TB aktif batuk, bersin, atau berbicara, dan melepaskan droplet kecil yang mengandung *Mycobacterium tuberculosis* sehingga orang lain dapat tertular ketika menghirup droplet tersebut (Maulana dkk, 2021). Penularan *Mycobacterium tuberculosis* dapat menjadi lebih parah ketika penyebaran patogen sampai kepada organ atau bagian tubuh lain dalam tubuh, sehingga sulit untuk disembuhkan (Moule & Cirillo, 2020). Oleh karena itu, tuberkulosis menjadi salah satu penyakit yang mematikan (Loddenkemper & Murray, 2021).

Tuberkulosis (TB) tetap menjadi salah satu penyakit infeksi paling mematikan di dunia (Makam & Matsa, 2021). Menurut laporan Organisasi Kesehatan Dunia (WHO, 2023) terdapat 10,6 juta kasus baru TB di seluruh dunia pada tahun 2022. WHO (2023) menjelaskan bahwa sekitar 1,6 juta orang meninggal dunia akibat penyakit ini. Data dari WHO (2023) juga menyebutkan bahwa kasus tuberkulosis paling banyak menyerang negara-negara dengan sumber daya terbatas, terutama di kawasan Asia dan Afrika. Organisasi Kesehatan Dunia (WHO) melaporkan pada tahun 2022, Indonesia menempati posisi ketiga tertinggi di dunia untuk jumlah kasus tuberkulosis (TB). Jumlah ini menempatkan Indonesia sebagai salah satu negara dengan beban TB tertinggi, setelah India dan Cina (WHO, 2023). Kasus tuberkulosis di Indonesia telah mengalami kemajuan melalui berbagai program pemerintah dan dukungan internasional, namun tantangan besar seperti

deteksi dini, resistensi obat, dan pengobatan yang berkelanjutan tetap ada (Raviglione & Sulis, 2016).

Penanganan tuberkulosis (TB) di Indonesia dilakukan secara komprehensif, mencakup langkah-langkah pencegahan, deteksi dini, dan pengobatan (Lestari *et al.*, 2023). Proses diagnosis biasanya melibatkan analisis dahak, pemeriksaan radiologis seperti rontgen dada, serta uji molekuler berbasis genetik (Kabir *et al.*, 2021). Kasus TB yang masih responsif terhadap obat, pengobatan standar berlangsung selama enam bulan dengan kombinasi empat obat utama. Sebaliknya, pada kasus TB yang telah mengalami resistensi obat atau dikenal sebagai *Multidrug-Resistant Tuberculosis* (MDR-TB) dengan waktu terapi selama 9 hingga 24 bulan dan melibatkan obat-obatan seperti bedaquiline dan linezolid (Alsayed & Gunosewoyo, 2023). Sayangnya, munculnya resistensi terhadap obat lini pertama seperti isoniazid dan rifampisin (MDR/RR-TB) menjadi tantangan besar dalam penanganan TB. Berdasarkan laporan WHO, terdapat sekitar 450.000 kasus MDR/RR-TB secara global pada tahun 2021, meningkat sebesar 3,1% dibandingkan tahun sebelumnya. Peningkatan ini diduga dipengaruhi oleh terganggunya layanan deteksi TB akibat pandemi COVID-19. Pada tahun yang sama, kematian akibat MDR/RR-TB diperkirakan mencapai 191.000 jiwa. Distribusi kasus MDR/RR-TB bervariasi antar wilayah, mulai dari kurang dari 4% pada kasus baru di kawasan Afrika, Asia Tenggara, dan Pasifik Barat, hingga mencapai 26% di Eropa. Pasien yang pernah menjalani pengobatan sebelumnya, proporsinya bahkan bisa mencapai 57% di wilayah Eropa Timur dan Asia Tengah. WHO juga melaporkan bahwa sekitar 20% dari kasus MDR/RR-TB tahun 2021 termasuk dalam kategori pra-XDR, yaitu bentuk TB yang juga menunjukkan

resistensi terhadap fluoroquinolone. Data ini berasal dari pemantauan dan survei di 182 negara yang mewakili lebih dari 94% populasi dunia. Selain masalah resistensi, penanganan TB juga menghadapi kendala lain seperti lambatnya pertumbuhan bakteri, kompleksitas mekanisme penyakit dan keberadaan fase dorman di mana bakteri tidak aktif sehingga sulit diserang (Verma *et al.*, 2022). Oleh karena itu, pengembangan vaksin menjadi pendekatan strategis yang menjanjikan. Vaksin TB yang efektif harus mampu mengaktivasi dan menginduksi respon sel B untuk membangun respon imun yang kuat, lengkap, dan tahan lama terhadap infeksi *Mycobacterium tuberculosis* (Xie, *et al.*, 2025).

Vaksin Bacillus Calmette-Guérin (BCG) adalah satu-satunya vaksin TBC yang saat ini disetujui. Vaksin ini dikembangkan dari bakteri *Mycobacterium bovis* yang dilemahkan. Namun, efektivitas BCG bervariasi. Meskipun melindungi anak-anak dari TBC, perlindungannya terhadap TBC pada orang dewasa sangat bervariasi, dari 0 hingga 80 persen. Efektivitasnya juga berkurang setelah 10–20 tahun sejak vaksinasi (Fatima *et al.*, 2020). Studi terbaru menunjukkan bahwa efektivitas vaksin BCG dalam mencegah TB paru pada orang dewasa sangat bervariasi dan sering kali tidak signifikan. Sebuah uji klinis acak yang dilakukan di Brasil terhadap 1985 petugas kesehatan dewasa menunjukkan bahwa pemberian vaksin BCG ulang tidak memberikan perlindungan yang berarti terhadap infeksi *Mycobacterium tuberculosis* sebagaimana dinilai melalui konversi hasil uji QuantiFERON. Hasil studi tersebut menjelaskan proporsi peserta yang mengalami konversi QFT pada kelompok yang menerima BCG adalah sebesar 3,4%, sedangkan pada kelompok plasebo sebesar 3,2% tanpa terdapat perbedaan yang signifikan di antara keduanya. Berdasarkan temuan tersebut, dapat disimpulkan

bahwa revaksinasi BCG tidak efektif dalam mencegah infeksi TB laten pada populasi dewasa. (Dos Santos *et al.*, 2024). Oleh karena itu, vaksin yang dipakai kurang efektif pada beberapa pasien tuberkulosis karena sistem imun yang dibentuk dari materi genetik dalam vaksin tidak mampu memberhentikan laju aktivitas genetika patogen.

Penelitian sebelumnya tentang pengembangan vaksin tuberkulosis (TB) dengan pendekatan *in silico* banyak difokuskan pada antigen ESAT-6 dan CFP-10 yang dianggap memiliki potensi tinggi. Beberapa kandidat vaksin menggunakan bakteri *Mycobacterium tuberculosis* yang dilemahkan, seperti VPM1002 dan MTBVAC. Namun, seperti vaksin BCG, jenis vaksin ini memiliki risiko keamanan dan efektivitasnya bisa menurun jika seseorang sudah pernah terpapar mikobakteri dari lingkungan (Bibi *et al.*, 2021). Selain itu, ada juga vaksin yang dikembangkan menggunakan vektor virus, misalnya dengan virus vaccinia rekombinan dan adenovirus yang membawa antigen seperti 85A, 85B, dan TB10.4. Sayangnya, jika tubuh sudah pernah terpapar virus tersebut, respons terhadap vaksinnya bisa menjadi lemah (Shah *et al.*, 2018).

Jenis vaksin lainnya adalah vaksin subunit, yang hanya menggunakan bagian tertentu dari bakteri, seperti protein atau polisakarida, sebagai antigen. Contohnya meliputi protein 85B, ESAT-6, TB10.4, 39A, dan 32A. Vaksin ini lebih aman karena tidak membawa risiko bakteri hidup yang bisa kembali aktif, namun kekurangannya adalah respons imun yang ditimbulkan sering kali lemah, sehingga perlu diberikan beberapa kali dan dibantu dengan zat tambahan (adjuvan) untuk meningkatkan efektivitasnya (Shah *et al.*, 2018).

Meski begitu, masih ada beberapa tantangan dalam pengembangan vaksin TB. Salah satunya adalah kemampuan *Mycobacterium tuberculosis* untuk menghindari sistem imun dengan mengganggu proses pematangan fagosom, yaitu bagian dalam sel imun yang berfungsi menangkap dan menghancurkan mikroorganisme (Anes et al., 2023; Uribe-Querol & Rosales, 2017). Akibatnya, bakteri bisa tetap bertahan hidup dan sulit diberantas. Selain itu, beberapa antigen juga berisiko memicu peradangan berlebihan yang bisa merusak jaringan tubuh (Anes et al., 2023). Penelitian terhadap antigen baru seperti ERV3614 juga masih sangat terbatas (Jiang et al., 2023). Walaupun teknologi bioinformatika terus berkembang, pemanfaatan data multi-omik untuk memprediksi bagian antigen yang bisa memicu respons imun secara akurat, serta pengujian laboratorium terhadap vaksin yang dihasilkan, masih jarang dilakukan (Chatterjee et al., 2021). Oleh karena itu, penelitian lebih lanjut diperlukan untuk mengeksplorasi potensi antigen ERV3614 dengan pendekatan *in silico* secara lebih menyeluruh.

ERV3614 (*Early Secreted Antigenic Target 3614*) merupakan salah satu protein yang diidentifikasi sebagai antigen potensial dalam studi tuberkulosis. Protein ini menunjukkan ekspresi tinggi selama fase infeksi awal *Mycobacterium tuberculosis*, menjadikannya relevan untuk pengembangan vaksin. ERV3614 memiliki sejumlah kelebihan, yaitu imunogenisitas tinggi sehingga memungkinkan stimulasi respons imun baik pada sel T maupun sel B. Selain itu, ERV3614 memiliki spesifisitas antigenik yang tinggi terhadap *Mycobacterium tuberculosis*, sehingga mengurangi risiko reaktivitas silang dengan mikroorganisme lain. Ekspresinya pada fase awal infeksi juga memungkinkan deteksi dini dan pencegahan progresi penyakit melalui vaksinasi (Ghandadi, 2022). Pendekatan *in silico*, memberikan

peluang besar untuk digunakan dalam vaksin berbasis peptida dapat dilakukan secara efisien.

ERV3614 memiliki beberapa keunggulan yang membuatnya lebih unggul dibandingkan dengan ESAT-6 dan CFP-10 sebagai target pengembangan vaksin tuberkulosis. Salah satu keunggulan utama adalah ekspresinya yang signifikan selama fase awal infeksi *Mycobacterium tuberculosis*, memungkinkan respons imun yang lebih cepat dan efektif untuk mencegah progresi penyakit (Ghandadi, 2022). Selain itu, ERV3614 menunjukkan spesifisitas antigenik yang lebih tinggi terhadap *Mycobacterium tuberculosis* tanpa banyak risiko reaktivitas silang dengan mikroorganisme lain, sehingga menjadi kendala pada ESAT-6 dan CFP-10 (Seele *et al.*, 2023). Selain itu, ERV3614 belum terbukti memiliki keterkaitan langsung dengan mekanisme ini, sehingga sistem imun dapat mengenali dan merespons antigen ini dengan lebih baik. ERV3614 juga memiliki potensi untuk mengurangi imunopatologi karena tidak memicu respons inflamasi yang berlebihan seperti yang sering dikaitkan dengan ESAT-6 (Anes *et al.*, 2023). Pendekatan *in silico* telah mengidentifikasi epitop imunogenik pada ERV3614 yang menjadikannya kandidat ideal untuk vaksin berbasis peptida, yang memberikan fleksibilitas dalam pengembangan vaksin modern. Keunggulan tersebut membuat ERV3614 memiliki potensi besar untuk menjadi target yang lebih efektif dalam pengembangan vaksin TB dibandingkan antigen konvensional seperti ESAT-6 dan CFP-10.

Proses pembuatan vaksin menurut Plotkin *et al.* (2017) terdiri dari beberapa tahap, yaitu pengajuan izin, uji pra-klinis dan klinis awal, uji klinis tahap 1 sampai 3, persetujuan dan pemberian lisensi, pemantauan setelah vaksin digunakan, serta perubahan izin jika diperlukan. Menurut Brouwers *et al.* (2021), tahap eksplorasi

awal (uji pra-klinis dan klinis awal) sangat penting karena menentukan keberhasilan pengembangan vaksin. Tahap ini mencakup pengujian keamanan dan kemampuan antigen atau sel target untuk merangsang respons imun, biasanya dilakukan di laboratorium (kultur sel) dan digunakan untuk menentukan dosis awal yang aman bagi manusia (Plotkin et al., 2017). Hasil dari tahap ini menjadi dasar dalam memilih bahan dan metode pembuatan vaksin yang paling menjanjikan (Tang et al., 2016). Karena itu, analisis struktur protein atau materi genetik secara *in silico* (komputer) sangat membantu dalam merancang epitope untuk vaksin.

Terdapat beberapa komponen penting agar vaksin bekerja dengan baik, aman, dan tahan lama dalam pembuatan vaksin. Komponen utama adalah antigen, yaitu bagian dari virus atau bakteri yang merangsang sistem imun membentuk antibodi. Selain itu, memperkuat respons imun, ditambahkan adjuvan seperti aluminium hidroksida (Bastola *et al.*, 2017). Namun, untuk vaksin TBC berbasis peptida, diperlukan adjuvan yang mampu mengaktifkan respons sel T, khususnya tipe Th1, karena imunitas terhadap *Mycobacterium tuberculosis* sangat bergantung pada aktivasi sel T. Beberapa adjuvan yang sesuai antara lain CpG ODN, yang meniru DNA bakteri dan merangsang produksi IFN- γ melalui aktivasi TLR9, Montanide ISA 51 atau ISA 720 yang membantu pelepasan antigen secara perlahan dan memperpanjang stimulasi imun, serta IC31® yang merupakan kombinasi oligonukleotida dan peptida antimikroba untuk merangsang imunitas seluler (Zhao *et al.*, 2023). Semua adjuvan ini mendukung terbentuknya kekebalan yang kuat terhadap infeksi TBC. Selain itu, vaksin juga memerlukan pengawet seperti thimerosal agar tetap steril, serta stabilisator seperti gula atau gelatin untuk menjaga stabilitas selama penyimpanan. Semua bahan ini dicampur dalam cairan pelarut

seperti larutan garam, yang berfungsi sebagai media pembawa. Kombinasi ini dirancang agar vaksin tetap aman, efektif, dan mudah diberikan kepada tubuh manusia (Kocourkova *et al.*, 2017).

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini adalah bagaimana hasil analisis terhadap sekuens, sifat fisikokimia, dan struktur protein RV3614 dari bakteri *Mycobacterium tuberculosis* yang berpotensi sebagai kandidat vaksin untuk melawan penyakit tuberkulosis?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dalam penelitian ini adalah untuk mengetahui hasil analisis terhadap sekuens, sifat fisikokimia, dan struktur protein RV3614 dari bakteri *Mycobacterium tuberculosis* yang berpotensi sebagai kandidat vaksin untuk melawan penyakit tuberkulosis.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

Manfaat secara teoritis: penelitian ini dapat memberikan informasi mengetahui hasil analisis sekuens protein, karakteristik, dan struktur asam amino serta bentuk 3D modeling dari bakteri *Mycobacterium tuberculosis* yang berpotensi sebagai kandidat vaksin penyakit Tuberkulosis.

Manfaat secara aplikatif: penelitian ini dapat digunakan sebagai dasar uji lanjutan secara *in vitro* atau *in vivo* dalam menguji potensi epitope protein dari *Mycobacterium tuberculosis* sebagai kandidat dalam pengobatan penyakit Tuberkulosis.

1.5 Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Protein yang digunakan adalah Rv3614 dari bakteri *Mycobacterium tuberculosis* strain ATCC yang diperoleh dari NCBI GenPept.
2. Penelitian dilakukan secara *in silico*.
3. Parameter penelitian meliputi susunan asam amino kandidat vaksin anti-TB, antigenisitas, alergenitas, toksisitas, kestabilan, kelarutan kandidat vaksin, dan nilai pengikatan epitop dengan reseptor sel B.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tuberkulosis Paru-Paru

Tuberkulosis (TBC) merupakan penyakit infeksi menular yang disebabkan oleh bakteri *Mycobacterium tuberculosis* (Miggiano *et al.*, 2020). Penyakit ini menyerang organ pernapasan berupa paru-paru (Jadhav *et al.*, 2021). Selain organ pernapasan, tuberkulosis juga dapat menyerang bagian tubuh lain seperti tulang, mata dan pembuluh darah (Leowattana *et al.*, 2023). Tuberkulosis dibedakan menjadi dua macam jenis yaitu *Tuberculosis Pulmonary* (PTB) dan *Extrapulmonary TB* (EPTB). *Tuberculosis Pulmonary* merupakan tuberkulosis yang menyerang atau menginfeksi bagian paru-paru. Sementara *Extrapulmonary TB* adalah tuberkulosis yang menyerang atau infeksi terjadi di organ tubuh selain paru-paru. Contohnya terjadi pada limfa, pleura, kulit dan tulang (Natarajan *et al.*, 2020)

Penularan tuberkulosis terjadi melalui droplet udara yang dihasilkan saat penderita TBC aktif batuk, bersin, atau berbicara (Coleman *et al.*, 2022). Droplet ini dapat terhirup oleh orang sehat, masuk ke saluran pernapasan, dan mencapai alveoli di paru-paru, tempat bakteri *Mycobacterium tuberculosis* mulai menginfeksi. Tuberkulosis memiliki dua bentuk infeksi, yaitu infeksi laten dan TBC aktif (Chaw *et al.*, 2020). Infeksi laten terjadi ketika bakteri berada dalam tubuh dalam keadaan tidak aktif sehingga tidak menimbulkan gejala (Pirofski & Casadevall, 2020). Namun, ketika sistem imun tubuh melemah, bakteri dapat berkembang biak dan menyebabkan TBC aktif. TBC aktif ditandai dengan gejala seperti batuk berkepanjangan, hemoptisis, demam, keringat malam, penurunan

berat badan, dan kelelahan, serta memiliki risiko menular ke orang lain (Davidson *et al.*, 2024).

2.1.1 Pengobatan Tuberkulosis Paru-Paru

Pengobatan tuberkulosis (TBC) dilakukan menggunakan kombinasi obat anti-TBC untuk membunuh bakteri *Mycobacterium tuberculosis* secara efektif. Pengobatan ini biasanya berlangsung selama enam bulan atau lebih, tergantung pada tingkat keparahan penyakit dan respons pasien (Dartois & Rubin, 2022). Obat tahap pertama yang digunakan meliputi isoniazid, rifampisin, pyrazinamid, dan ethambutol yang diminum sesuai jadwal yang ditentukan (WHO, 2022). Penting bagi pasien untuk mengikuti terapi secara konsisten dan lengkap guna mencegah resistensi obat, yang dapat menyebabkan *Multi Drug Resistant Tuberculosis* (MDR-TB) atau bahkan bentuk yang lebih parah seperti *Extensively Drug Resistance Tuberculosis* (XDR-TB). Selain itu, *Directly Observed Treatment Shortcourse* (DOTS) sering diterapkan untuk memastikan kepatuhan pasien dalam minum obat (Peters *et al.*, 2023). Jika pasien menunjukkan resistensi terhadap obat lini pertama, obat lini kedua seperti fluoroquinolone dan injeksi aminoglikosida mungkin diperlukan (Prasad *et al.*, 2021). Dukungan nutrisi, edukasi, dan pemantauan efek samping juga menjadi bagian penting dalam manajemen pengobatan untuk meningkatkan keberhasilan terapi (WHO, 2020).

2.1.2 Vaksin Tuberkulosis Paru-Paru

Vaksin yang saat ini digunakan untuk mencegah tuberkulosis (TB) adalah BCG (*Bacillus Calmette-Guérin*) yang dikembangkan dari bakteri *Mycobacterium bovis* yang dilemahkan. Vaksin ini telah digunakan selama lebih dari satu abad dan diberikan secara intradermal, terutama kepada bayi baru lahir atau anak-anak di

negara dengan angka TB yang tinggi (Setiabudiawan *et al.*, 2022). Efektivitas BCG bervariasi, terutama dalam mencegah TB paru-paru pada orang dewasa, dengan kisaran 0% hingga 80% di berbagai wilayah. Variasi ini dipengaruhi oleh faktor lingkungan, prevalensi bakteri *Mycobacterium non-tuberculosis*, dan status imun individu (Martinez *et al.*, 2022). Meski perlindungannya terhadap TB paru-paru pada orang dewasa kurang efektif, BCG sangat efektif dalam mencegah bentuk TB berat pada anak-anak, seperti meningitis TB dan TB milier dengan tingkat efektivitas mencapai hingga 80%. Efektivitas BCG cenderung lebih rendah di daerah tropis dibandingkan dengan daerah subtropis atau beriklim sedang, kemungkinan karena perbedaan paparan mikobakteri lingkungan dan faktor lainnya. Perlindungan yang diberikan oleh BCG cenderung menurun seiring waktu, dengan efektivitas yang signifikan hanya bertahan hingga sekitar 10-15 tahun setelah vaksinasi. Namun, perlindungan ini tidak berlangsung seumur hidup dan biasanya menurun setelah 10-15 tahun (Ahmed *et al.*, 2021). Selain itu, vaksin BCG tidak sepenuhnya mencegah infeksi laten oleh *Mycobacterium tuberculosis* melainkan lebih efektif dalam mencegah perkembangan infeksi laten menjadi penyakit aktif (Shah *et al.*, 2021). BCG juga memiliki keterbatasan di daerah dengan prevalensi tinggi *Mycobacterium* lingkungan yang dapat memengaruhi respons imun terhadap vaksin. Karena keterbatasan tersebut, penelitian terus dilakukan untuk mengembangkan vaksin TB baru yang lebih efektif, termasuk menggunakan pendekatan *in silico* untuk menemukan antigen baru seperti Rv3614.

Hadits riwayat Imam Bukhari dari sahabat Abu Hurairah:

إِنَّ اللَّهَ لَمْ يُنْزِلْ دَاءً إِلَّا أَنْزَلَ لَهُ شِفَاءً

Artinya: “Sesungguhnya Allah tidak menurunkan satu penyakit kecuali diturunkan pula baginya obat” (HR. Imam Bukhari)

Hadits Nabi Muhammad SAW. yang diriwayatkan oleh Imam Bukhari menjelaskan mengenai prinsip dasar dalam Islam bahwa setiap penyakit pasti memiliki solusi atau pengobatan yang telah disediakan oleh Allah, meskipun manusia belum selalu menemukannya. Hal ini menjadi dorongan spiritual sekaligus motivasi ilmiah bagi para peneliti dan tenaga kesehatan untuk terus berusaha menemukan pengobatan dan pencegahan terbaik bagi setiap penyakit, termasuk tuberkulosis (TBC).

2.2 Bakteri *Microbacterium tuberculosis*

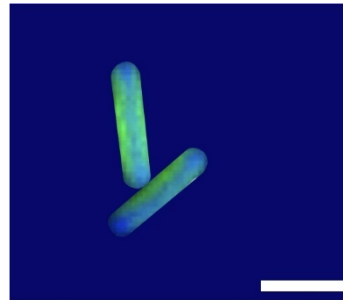
Bakteri merupakan mikroorganisme bersel tunggal yang tidak memiliki membran inti (prokariota) dan dapat ditemukan di berbagai lingkungan, seperti tanah, air, udara, serta di dalam tubuh makhluk hidup. Perannya sangat beragam, dari yang bermanfaat, seperti membantu pencernaan dan proses dekomposisi, hingga yang berbahaya, seperti menyebabkan infeksi dan penyakit. Allah berfirman dalam Surah Al-Baqarah ayat 26 sebagaimana berikut:

إِنَّ اللَّهَ لَا يَسْتَحْيِي أَنْ يَضْرِبَ مَثَلًا مَّا بَعُوضَةً فَمَا فَوْقَهَا ۚ فَأَمَّا الَّذِينَ آمَنُوا فَيَعْلَمُونَ أَنَّهُ الْحَقُّ مِنْ رَبِّهِمْ
وَأَمَّا الَّذِينَ كَفَرُوا فَيَقُولُونَ مَاذَا أَرَادَ اللَّهُ بِهَذَا مَثَلًا ۖ يُضِلُّ بِهِ كَثِيرًا وَيَهْدِي بِهِ كَثِيرًا ۚ وَمَا يُضِلُّ بِهِ إِلَّا
الْفَاسِقِينَ ﴿٢٦﴾

Artinya: “Sesungguhnya Allah tidak segan membuat perumpamaan seekor nyamuk atau yang lebih kecil dari itu. Adapun orang-orang yang beriman, mereka tahu bahwa itu kebenaran dari Tuhan. Tetapi mereka yang kafir berkata, “Apa maksud Allah dengan perumpamaan ini?” Dengan (perumpamaan) itu banyak orang yang disesatkan-Nya,¹ dan dengan itu banyak (pula) orang yang diberi-Nya petunjuk. Tetapi tidak ada yang Dia sesatkan dengan (perumpamaan) itu selain orang-orang fasik” (Al-Baqarah [2]: 26).

Tafsir Al-Qurtubi menjelaskan bahwa Allah SWT. tidak segan membuat perumpamaan, baik berupa nyamuk maupun sesuatu yang lebih kecil darinya. Ayat ini menunjukkan bahwa bahkan makhluk yang sangat kecil sekalipun memiliki

makna dan tujuan dalam penciptaan-Nya. Hal ini sejalan dengan konsep bakteri, yang meskipun tidak terlihat oleh mata telanjang, memiliki peran penting dalam keseimbangan ekosistem dan kehidupan manusia. Dengan demikian, ayat ini mengajarkan bahwa segala ciptaan, sekecil apa pun, memiliki hikmah yang telah ditetapkan oleh Allah.



Gambar 2.1 *Mycobacterium tuberculosis* (Chung *et al.*, 2024)

Mycobacterium tuberculosis merupakan bakteri penyebab penyakit tuberkulosis (Samanovic *et al.*, 2018). Bakteri ini berbentuk basil dan merupakan organisme fototropik (Velayati & Farnia, 2016). *Mycobacterium tuberculosis* bersifat patogen obligat yang berarti tidak dapat memperbanyak diri di luar inang makhluk hidup (Velayati & Farnia, 2016). *Mycobacterium tuberculosis* termasuk dalam mikroorganisme *aerobic* yang berarti tidak membentuk struktur spora dan tidak bergerak secara masif (nonmotil). Bentuknya basil bulat lurus atau kadang melengkung, ukurannya sekitar 0,2-0,6 μm . Koloni bakteri ini bervariasi dari kasar hingga halus, umumnya tidak berpigmen hingga berpigmen (Kuning-Orange) karena kandungan karotenoid. Dinding sel mengandung N-acetyl muramic acid, tinggi akan Mycolic acid, DNA tinggi akan G + C (sekitar 61-71 mol %), lama waktu regenerasinya cenderung lambat berkisar 20-36 jam (Natarajan *et al.*, 2020).

Berdasarkan Velayati & Farnia (2016) *Mycobacterium tuberculosis* di klasifikasikan sebagai berikut:

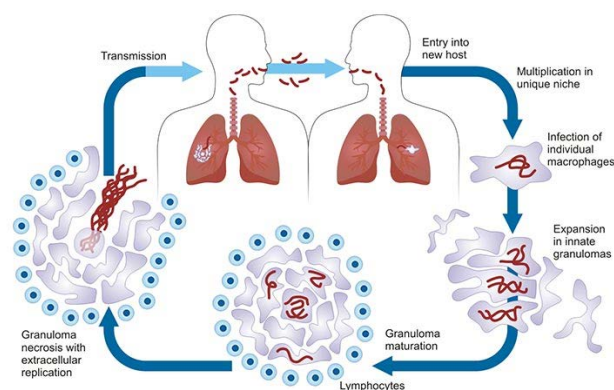
Kingdom : Bacteria
 Phylum : Actinobacteria
 Class : Actinomycetes
 Ordo : Actinomycetales
 Family : Mycobacteriaceae
 Genus : Mycobacterium
 Species : *Mycobacterium tuberculosis*

Mycobacterium tuberculosis (MTB) strain ATCC, khususnya strain H37Rv (ATCC 25618), merupakan salah satu galur referensi paling umum digunakan dalam penelitian tuberkulosis. Strain ini berasal dari isolat klinis manusia dan telah digunakan secara luas sejak awal abad ke-20 sebagai model standar dalam studi patogenesis, uji efektivitas obat, pengembangan vaksin, dan analisis genomik maupun proteomic (Chitale *et al.*, 2022). Karakteristik utama dari H37Rv meliputi kemampuannya untuk menyebabkan infeksi aktif (virulen), stabilitas genetik yang tinggi, serta genomnya yang telah disequens lengkap dan dijadikan acuan global dalam studi bioinformatika. Kelebihan dari strain ini adalah ketersediaannya yang luas, data ilmiah yang melimpah, dan kemampuannya meniru infeksi TB aktif secara representatif dalam berbagai model penelitian. Namun, strain ini juga memiliki beberapa kekurangan, seperti tingkat virulensi yang lebih rendah dibandingkan strain klinis modern yang lebih agresif, serta adanya kemungkinan perbedaan respons imun dibandingkan dengan infeksi alami yang disebabkan oleh strain lokal. Meski demikian, MTB strain H37Rv dari ATCC tetap menjadi pilihan

utama dalam studi TB karena kemudahannya untuk distandarisasi (Modlin *et al.*, 2021).

Mutasi pada *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb) di Indonesia disebabkan oleh tekanan seleksi dari penggunaan antibiotik yang tidak optimal serta penyebaran strain dominan secara klonal. Faktor utama pemicunya adalah ketidakpatuhan pasien dalam menjalani pengobatan, dosis obat yang tidak tepat, dan kualitas obat yang rendah. Mutasi ini menyebabkan timbulnya resistansi terhadap obat, terutama pada kasus TB resisten obat ganda (MDR-TB) dan resisten obat sangat luas (XDR-TB). Berdasarkan studi nasional terbaru, prevalensi resistansi obat TB di Indonesia berkisar antara 38% hingga 40% di wilayah Sumatera, Jawa-Bali, dan Indonesia bagian tengah hingga timur. Studi ini menekankan pentingnya kepatuhan terhadap pengobatan dan kualitas terapi dalam mencegah resistansi. Selain itu, mutasi pada gen *katG* dan *inhA* diidentifikasi sebagai penyebab utama resistansi terhadap isoniazid (INH), salah satu obat utama TB. Mutasi ini umumnya terjadi akibat penggunaan antibiotik yang tidak tepat, seperti dosis yang salah atau pengobatan yang dihentikan sebelum waktunya. (Rukminiati *et al.*, 2025).

2.2.1 Siklus Hidup Bakteri *Microbacterium tuberculosis*



Gambar 2.2 Siklus hidup *Mycobacterium tuberculosis* (Cambier *et al.*, 2015)

Siklus hidup *Mycobacterium tuberculosis* dimulai saat droplet berisi bakteri terhirup dan mencapai alveolus di paru-paru. Bakteri tersebut masuk ke makrofag melalui fagositosis, namun bakteri ini mampu mencegah fagosom bergabung dengan lisosom. *Mycobacterium tuberculosis* tetap hidup di dalam fagosom, bereplikasi, dan memanfaatkan sel inang untuk melindungi diri dari sistem imun (Franco & Rezzani, 2024). *Mycobacterium tuberculosis* dapat bertahan hidup dalam kondisi laten selama bertahun-tahun di dalam granuloma. Ketika sistem imun melemah, bakteri dapat bereplikasi kembali, granuloma pecah, dan infeksi aktif menyebar ke jaringan lain (Elkington *et al.*, 2022).

2.3 Epitop Protein

Epitope merupakan bagian spesifik dari suatu antigen yang dikenali oleh sistem imun, baik oleh antibodi, reseptor sel B, maupun reseptor sel T (Bukhari *et al.*, 2022). Epitope sering kali berupa urutan pendek asam amino pada protein atau struktur tertentu pada karbohidrat yang memungkinkan interaksi dengan molekul imun (Hu & Irving, 2023). Berdasarkan sifatnya, epitope dibagi menjadi dua jenis utama, yaitu epitope linier dan epitope konformasi. Epitope linier terdiri dari urutan asam amino yang berurutan pada antigen, sedangkan epitope konformasi terbentuk dari asam amino yang berjauhan dalam urutan tetapi berdekatan secara spasial dalam struktur tiga dimensi antigen (Zhou *et al.*, 2021). Fungsi utama epitope adalah menjadi titik pengenalan utama bagi sistem imun untuk mengenali antigen sebagai benda asing (Singh, 2022). Epitope pada respon humoral dikenal secara langsung oleh antibodi yang mengikatnya untuk menetralisir atau menandai antigen tersebut. Epitope pada respon seluler diproses dan disajikan oleh molekul MHC (*Major Histocompatibility Complex*) kepada sel T untuk mengaktifasi respons

imun lanjutan (Schaap-Johansen *et al.*, 2021). Epitope memiliki peran penting dalam pengembangan terapi imun, diagnostik, dan desain vaksin, terutama dalam pendekatan modern seperti vaksin multi-epitope yang dirancang untuk memicu respons imun protektif secara spesifik dan efektif. Epitope memiliki peran penting dalam pemahaman dan aplikasi imunologi karena kemampuannya untuk mengenali bagian dari antigen yang paling imunogenik. Hal ini memungkinkan sistem imun untuk merespons secara spesifik dan efektif terhadap patogen atau molekul asing (Chen *et al.*, 2021).

2.3.1 Epitop Rv3614



Gambar 2.3 Visualisasi protein Rv3614 menggunakan Swis-Model

Protein Rv3614 pada *Mycobacterium tuberculosis* adalah salah satu protein yang termasuk dalam keluarga PE/PPE (Proline-Glutamic Acid/Proline-Proline-Glutamic Acid). Protein ini memiliki peran penting dalam patogenesis *Mycobacterium tuberculosis*, terutama terkait dengan penghindaran sistem imun inang dan kemampuan bakteri untuk bertahan hidup di dalam makrofag. Epitope Rv3614 memiliki struktur linier, terdiri dari urutan pendek asam amino yang berurutan, dan terletak pada permukaan protein. Lokasi ini memungkinkan epitope mudah dikenali oleh molekul imun seperti antibodi, reseptor sel B, atau molekul Major Histocompatibility Complex (MHC) yang mempresentasikannya kepada sel

T (Ghandadi, 2022). Sebagai bagian dari protein keluarga PE, epitop RV3614 kemungkinan bersifat hidrofilik, meningkatkan potensi imunogeniknya dalam memicu respons imun adaptif (Tahir ul Qamar, et al., 2019). Epitop Rv3614 merupakan protein yang memainkan peran penting dalam virulensi dan modulasi sistem imun inang, menjadikannya target strategis dalam terapi dan pencegahan TBC (Ghandadi, 2022). Data mengenai *Mycobacterium tuberculosis* yang digunakan berasal dari strain H37Rv dari ATCC (*American Type Culture Collection*) dengan kode PDB P9WJD5 (<https://www.uniprot.org/uniprotkb/P9WJD5/entry>). Panjang asam amino dari protein Rv3614 adalah 184. Protein Rv3614, juga dikenal sebagai EspD, merupakan bagian dari sistem sekresi ESX-1 pada *Mycobacterium tuberculosis* dan berperan penting dalam virulensi bakteri. Studi menunjukkan bahwa gen Rv3614 sangat konservatif, artinya jarang mengalami mutasi signifikan. Hal ini karena fungsinya yang krusial dalam menjaga stabilitas dan fungsi sistem sekresi ESX-1, yang diperlukan untuk kelangsungan hidup dan kemampuan infeksi bakteri. Sebagai contoh, penelitian oleh Lagune *et al.* (2021) mengungkapkan bahwa EspD diperlukan untuk stabilisasi protein lain dalam sistem ESX-1 seperti protein Rv3614 yang penting dalam proses infeksi. Karena sifat konservatif dan perannya dalam virulensi, Rv3614 dianggap sebagai kandidat yang menjanjikan untuk pengembangan vaksin, karena epitop dari protein yang stabil cenderung dikenali oleh sistem imun lintas berbagai strain (Lagune *et al.*, 2021).

2.4 B-Cell Receptor (BCR)

B-cell receptor (BCR) atau reseptor sel B adalah protein yang menempel pada permukaan sel B dan berfungsi sebagai reseptor transmembran. Struktur BCR

terdiri atas molekul imunoglobulin yang melekat pada membran serta komponen yang berperan dalam transduksi sinyal. BCR memiliki peran kunci dalam proses aktivasi, kelangsungan hidup, dan pematangan sel B, dengan mengatur respons sel melalui mekanisme pensinyalan biokimiawi serta menangkap antigen secara langsung di area sinapsis imun. Sebagai sensor utama dalam sistem imun adaptif, interaksi antara BCR dan antigen akan memicu aktivasi sel B, yang selanjutnya berkembang dan berdiferensiasi menjadi sel efektor penghasil antibodi (Tolar & Spillane, 2014).

B-cell receptor (BCR) berperan dalam mengenali dan berikatan dengan antigen asing untuk memicu aktivasi sel B dan produksi antibodi. Proses pensinyalan yang dipandu oleh BCR sangat penting dalam mempersiapkan sel B untuk berdiferensiasi menjadi sel plasma. Aktivasi sel B dimulai saat antigen berikatan dengan BCR, yang kemudian memicu rangkaian sinyal di dalam sel. BCR sendiri merupakan kompleks heterodimerik yang terdiri atas bagian pengikat antigen dan komponen pensinyalan. Mekanisme transduksi sinyal dari BCR ini memiliki keterkaitan erat dengan berbagai fungsi seluler serta kondisi patologis tertentu (Treanor, 2012).

2.5 Vaksin

Vaksin merupakan sediaan biologis yang dikembangkan secara ilmiah untuk menstimulasi sistem kekebalan tubuh agar dapat mengenali, merespons, dan memberikan perlindungan terhadap patogen tertentu seperti virus, bakteri, atau mikroorganisme lainnya, tanpa harus menyebabkan infeksi atau penyakit pada tubuh manusia (Meyer & Zepp, 2022). Dalam formulasi vaksin, umumnya terkandung komponen-komponen yang menyerupai bagian dari patogen tersebut,

baik berupa protein spesifik dari permukaan patogen (seperti protein spike pada virus), mikroorganisme yang telah dilemahkan (atenuasi) atau dimatikan, maupun potongan materi genetik seperti DNA atau RNA yang mengkode antigen dari patogen tersebut (Yada et al., 2020). Ketika vaksin disuntikkan atau diberikan ke dalam tubuh, sistem imun akan menganggap komponen asing ini sebagai ancaman dan segera memulai respons imun adaptif. Proses ini melibatkan pengenalan antigen oleh sel penyaji antigen (APC) aktivasi sel T-helper serta pematangan dan proliferasi sel B untuk memproduksi antibodi spesifik. Selain itu, tubuh juga akan membentuk sel-sel memori baik sel B memori maupun sel T memori yang berfungsi untuk memberikan perlindungan jangka panjang. Artinya, jika tubuh terpapar kembali oleh patogen yang sama di masa mendatang, sistem imun akan mampu merespons dengan lebih cepat dan efektif karena sudah “mengenal” patogen tersebut (Shuja *et al.*, 2022). Mekanisme inilah yang menjadi dasar utama mengapa vaksin dapat mencegah penyakit infeksi dan mengurangi tingkat keparahan gejala apabila infeksi terjadi. Dengan demikian, vaksin tidak hanya menjadi alat perlindungan individu, tetapi juga berkontribusi besar terhadap kesehatan masyarakat melalui konsep kekebalan kelompok (*herd immunity*) (Morens *et al.*, 2022).

Vaksinasi merupakan salah satu bentuk ikhtiar medis yang digunakan sebagai upaya preventif untuk mencegah penyakit yang disebabkan oleh mikroorganisme berukuran sangat kecil, baik yang berskala mikro maupun nano, seperti bakteri dan virus. Pandangan Islam menjelaskan vaksinasi termasuk dalam bentuk usaha menjaga diri dari bahaya penyakit, yang sejalan dengan prinsip maqashid syariah, khususnya dalam menjaga keselamatan jiwa (*hifz an-nafs*). Islam mendorong

umatnya untuk mencari pengobatan dan mencegah penyakit sebagai bagian dari tanggung jawab terhadap kesehatan diri dan masyarakat. Oleh karena itu, vaksin tidak hanya berperan dalam menyembuhkan, tetapi juga sebagai bentuk perlindungan yang diperbolehkan dan dianjurkan secara syar'i. Seiring dengan pesatnya kemajuan di bidang kedokteran dan teknologi, metode serta teknik pengobatan pun terus berkembang. Hal ini mendorong ditemukannya berbagai inovasi, termasuk pengembangan vaksin modern yang lebih aman dan efektif, sehingga vaksinasi menjadi bagian penting dalam sistem kesehatan masyarakat kontemporer sekaligus sesuai dengan prinsip-prinsip etika dan ajaran keagamaan.

Nabi Muhammad bersabda dalam kitab shahih Muslim No. 5705 dijelaskan bahwa:

حَدَّثَنَا هَارُونُ بْنُ مَعْرُوفٍ وَأَبُو الطَّاهِرِ وَأَحْمَدُ بْنُ عِيسَى قَالُوا حَدَّثَنَا ابْنُ وَهْبٍ أَخْبَرَنِي عَمْرُو وَهُوَ ابْنُ الْحَارِثِ عَنْ عَبْدِ رَبِّهِ بْنِ سَعِيدٍ عَنْ أَبِي الزُّبَيْرِ عَنْ جَابِرٍ عَنْ رَسُولِ اللَّهِ صَلَّى اللَّهُ عَلَيْهِ وَسَلَّمَ أَنَّهُ قَالَ لِكُلِّ دَاءٍ دَوَاءٌ فَإِذَا أُصِيبَ دَوَاءُ الدَّاءِ بَرَأَ بِإِذْنِ اللَّهِ عَزَّ وَجَلَّ

Artinya: “Telah menceritakan kepada kami Harun bin Ma'ruf dan Abu Ath Thahir serta Ahmad bin 'Isa mereka berkata; Telah menceritakan kepada kami Ibnu Wahb; Telah mengabarkan kepadaku 'Amru yaitu Ibnu Al Harits dari 'Abdu Rabbih bin Sa'id dari Abu Az Zubair dari Jabir dari Rasulullah shallallahu 'alaihi wasallam, beliau bersabda: "Setiap penyakit ada obatnya. Apabila ditemukan obat yang tepat untuk suatu penyakit, maka akan sembuhlah penyakit itu dengan izin Allah 'azza wajalla.” (HR. Muslim: 5705).

Imam An-Nawawi (2012) dalam Kitab Syarah Shahih Muslim jilid 10 menjelaskan bahwa sabda Rasulullah SAW mengenai adanya obat untuk setiap penyakit merupakan anjuran untuk melakukan pengobatan. Pandangan ini diikuti oleh para sahabat beliau, mayoritas ulama dari kalangan salafus shalih, serta sebagian besar ulama dari generasi sesudahnya. Al-Qadhi juga menambahkan bahwa hadits-hadits terkait pengobatan mengandung berbagai pelajaran penting,

termasuk pengakuan terhadap ilmu pengetahuan baik dalam urusan agama maupun duniawi, serta validitas ilmu kedokteran dan kebolehan menjalani pengobatan secara umum di luar metode ruqyah. Hadits tersebut memberikan penjelasan yang jelas mengenai prinsip dasar pengobatan, yakni bahwa penyakit timbul akibat terganggunya kondisi normal tubuh, sedangkan pengobatan bertujuan untuk mengembalikan tubuh ke keadaan yang seimbang. Menurut para ahli kesehatan, menjaga kesehatan dilakukan melalui pola makan bergizi dan tindakan pencegahan lainnya, sementara pemulihan kondisi tubuh dilakukan dengan penggunaan obat-obatan yang tepat untuk melawan penyebab penyakit.

Merujuk pada pemahaman ini, vaksinasi dapat diposisikan sebagai salah satu bentuk pengobatan dalam Islam, karena merupakan upaya untuk menyembuhkan sekaligus mencegah munculnya penyakit. Vaksinasi bukan hanya bertujuan untuk menyembuhkan, tetapi juga merupakan bentuk pencegahan (preventif) yang sangat penting. Vaksin bekerja dengan merangsang sistem imun tubuh agar mampu mengenali dan melawan patogen tertentu sebelum patogen tersebut menyebabkan penyakit. Mekanisme ini memungkinkan tubuh untuk membentuk antibodi secara alami. Perlu dicatat bahwa vaksin tidak mengandung patogen aktif, melainkan versi yang telah dilemahkan atau dimatikan, sehingga tidak menimbulkan penyakit atau komplikasi serius (Smith, 2022). Dengan demikian, vaksinasi sejalan dengan ajaran Islam mengenai pentingnya menjaga kesehatan dan melakukan pengobatan dengan cara yang ilmiah dan aman.

2.5.1 Jenis Vaksin

Jenis-jenis utama utama vaksin yang bekerja dengan cara yang berbeda adalah *live attenuated vaccines*, *inactivated vaccines*, *subunit*, *recombinant*,

conjugate and polysaccharide vaccines, toxoid vaccines, mRNA vaccines dan *viral vector vaccines* (Smith, 2022).

2.5.1.1 Vaksin Inaktif (*Inactivated Vaccines*)

Vaksin ini mengandung virus atau bakteri yang telah dimatikan atau diinaktivasi, sehingga tidak dapat menyebabkan penyakit. Meski patogennya mati, bagian-bagian tertentu dari patogen tersebut masih dapat merangsang sistem imun tubuh untuk menghasilkan respons kekebalan yang akan melindungi tubuh jika terkena infeksi di masa depan. Contohnya adalah vaksin polio inaktif (IPV) dan vaksin rabies (Sanders *et al.*, 2015).

2.5.1.2 Vaksin Hidup yang Dilemahkan (*Live-Attenuated Vaccines*)

Vaksin hidup yang dilemahkan adalah jenis vaksin yang menggunakan bentuk virus atau bakteri yang masih hidup, tetapi telah dilemahkan (atau diattenuasi), sehingga tidak dapat menyebabkan penyakit serius pada individu yang sehat. Meskipun patogen masih hidup, mereka telah dimodifikasi agar kehilangan kemampuan untuk menyebabkan infeksi yang parah, tetapi tetap cukup untuk merangsang sistem kekebalan tubuh. Contoh vaksin ini adalah vaksin campak-gondongan-rubela (MMR), cacar air, dan vaksin demam kuning (Vetter *et al.*, 2018).

2.5.1.3 Vaksin Subunit, Rekombinan, Polisakarida, dan Konjugat (*Subunit, Recombinant, Polysaccharide, and Conjugate Vaccines*)

Vaksin subunit, rekombinan, polisakarida, dan konjugat adalah jenis vaksin yang hanya menggunakan bagian spesifik dari patogen, seperti protein atau polisakarida, untuk merangsang sistem kekebalan tanpa menyebabkan infeksi. Vaksin subunit menggunakan bagian tertentu dari virus atau bakteri, vaksin

rekombinan dibuat dengan teknologi DNA rekombinan, vaksin polisakarida menggunakan gula dari kapsul bakteri, dan vaksin konjugat menggabungkan polisakarida dengan protein untuk meningkatkan efektivitas, terutama pada anak-anak. Jenis vaksin ini aman untuk semua kelompok, termasuk bayi dan orang dengan sistem kekebalan lemah, meski mungkin memerlukan beberapa dosis untuk perlindungan jangka panjang. Contohnya termasuk vaksin hepatitis B, HPV, Hib, dan pneumokokus (Rohokale *et al.*, 2023).

2.5.1.4 Vaksin Toksin (*Toxoid Vaccines*)

Vaksin toksin adalah vaksin yang dibuat dari racun bakteri yang telah dinonaktifkan, sehingga aman tetapi tetap mampu merangsang sistem imun untuk melawan infeksi di masa depan. Vaksin ini melindungi tubuh dari penyakit yang disebabkan oleh racun bakteri, seperti tetanus dan difteri, dengan melatih tubuh mengenali dan menetralkan racun tersebut tanpa menimbulkan infeksi. Contohnya adalah vaksin tetanus dan difteri (Gupta & Pellet, 2023).

2.5.1.5 Vaksin mRNA (*mRNA Vaccines*)

Vaksin mRNA adalah teknologi terbaru yang menggunakan molekul messenger RNA (mRNA) untuk merangsang sistem kekebalan tubuh tanpa menggunakan virus hidup atau mati. Setelah disuntikkan, mRNA menginstruksikan sel tubuh untuk memproduksi protein yang mirip dengan bagian dari virus, seperti protein lonjakan pada vaksin COVID-19. Protein ini memicu respons imun, memproduksi antibodi, dan sel memori yang siap melawan virus asli jika terpapar di masa depan. Vaksin ini memiliki keunggulan seperti pengembangan cepat dan efektivitas tinggi, serta tidak mengandung virus hidup, sehingga aman untuk orang

dengan sistem kekebalan lemah. Namun, vaksin mRNA memerlukan penyimpanan pada suhu sangat rendah dan dapat menyebabkan efek samping sementara seperti demam atau nyeri di tempat suntikan. Vaksin mRNA sangat terkenal dengan penggunaan pada vaksin COVID-19, seperti Pfizer-BioNTech dan Moderna (Xu *et al.*, 2020).

2.5.1.6 Vaksin Vektor Virus (*Viral Vector Vaccines*)

Vaksin vektor virus menggunakan virus yang telah dimodifikasi untuk mengantarkan materi genetik dari patogen ke dalam sel tubuh, sehingga sel dapat memproduksi protein yang menyerupai patogen tersebut dan merangsang respons imun. Virus yang digunakan sebagai vektor ini telah diubah sehingga tidak dapat menyebabkan penyakit. Setelah materi genetik dikirim ke sel, sistem kekebalan tubuh mengenali protein patogen yang dihasilkan dan membentuk antibodi serta sel memori untuk melawan infeksi di masa depan. Vaksin vektor virus efektif dan dapat dikembangkan dengan cepat, namun bisa kurang efektif jika tubuh memiliki kekebalan terhadap vektor itu sendiri. Contoh vaksin ini adalah vaksin AstraZeneca untuk COVID-19 (De Haan *et al.*, 2021).

2.6 Metode *In Silico*

Metode *in silico* merujuk pada pendekatan yang menggunakan simulasi komputer atau model matematis untuk menganalisis dan memprediksi berbagai fenomena biologis, kimia, atau fisika tanpa perlu melakukan eksperimen di laboratorium secara langsung (Gayathiri *et al.*, 2023). Istilah "*in silico*" berasal dari kata "silicon," yang merujuk pada bahan dasar dalam pembuatan chip komputer, menggambarkan analisis yang dilakukan dengan bantuan perangkat komputer. Metode *in silico* dalam biologi dan kedokteran sering digunakan untuk

memodelkan interaksi molekul, struktur protein, atau proses biologis dengan cara yang lebih efisien dan lebih cepat dibandingkan dengan eksperimen laboratorium konvensional (Chua *et al.*, 2023).

Metode *in silico* mencakup teknik seperti *molecular docking*, pemodelan struktur protein, analisis urutan DNA/RNA, dan simulasi dinamika molekuler. Metode *in silico* pada desain vaksin digunakan untuk memprediksi epitop yang dapat dikenali oleh sistem imun dan memilih kandidat vaksin potensial melalui pemodelan interaksi antigen dengan antibodi atau MHC. Selain itu, *in silico* memungkinkan virtual screening ribuan senyawa untuk pengembangan obat secara efisien, menghemat waktu dan biaya. Meskipun sangat menguntungkan, hasil *in silico* sering memerlukan validasi eksperimental melalui pendekatan *in vitro* atau *in vivo* untuk memastikan keakuratannya, menjadikannya langkah awal penting dalam penelitian biomedis (Khasana *et al.*, 2023).

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan yaitu eksploratif berbasis komputer, yaitu studi immunoinformatika desain vaksin menggunakan protein Rv3614 dari bakteri *Mycobacterium tuberculosis* pada permukaan bakteri untuk mengaktifkan respon imun adaptif pada manusia. Penelitian eksploratif pada penelitian ini dilakukan dengan pengambilan data nukleotida yang akan diujikan epitopnya. Epitop bertindak sebagai ligan dan akan diujikan dengan *B-Cell receptor* pada *Homo sapiens*.

3.2 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret sampai Mei 2024 di Laboratorium Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.3 Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

3.3.1 Perangkat Keras

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan perangkat keras berupa sebuah unit personal komputer jinjing merk ASUS VivoBook Ultra 15 OLED M513 berspesifikasi prosesor AMD Ryzen™ 5000 Series, RAM 16 GB, memory internal 252 GB. Komputer jinjing yang digunakan terhubung dengan koneksi internet.

3.3.2 Perangkat Lunak

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan NCBI GenPept Database, *website* Expasy, *website* IEDB Analysis Resources, *website* ELLIPRO, *website* ToxinPred, *website* Vaxijen, *website* AllerTop, *website* UCLA-DOE, PyMOL, *website* Innovagen dan *website* ClushPro

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Pengambilan Sampel

Sampel yang akan diuji diambil dari *website* NCBI (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/WP_003899110.1/) dalam bentuk FASTA.

3.4.2 Prediksi Epitop Sel B

Epitop sel B merangsang kekebalan humoral yang dapat membunuh agen infeksi dengan menciptakan antibodi terhadap antigen yang terpapar ke tubuh manusia. Pada penelitian ini, data FASTA dimasukkan ke *website* IEDB (<http://tools.iedb.org/ellipro/>) dan digunakan *software* prediksi epitop bepiped 2.0.

3.4.3 Uji Antigenisitas, Alergenisitas dan Toksisitas Kandidat Vaksin

Pengujian antigenisitas protein dilakukan menggunakan situs VaxiJen v2.0 (<https://www.ddg-pharmfac.net/vaxijen/VaxiJen/VaxiJen.html>) dengan nilai ambang (threshold) sebesar 0,4. VaxiJen memprediksi potensi antigenik suatu protein berdasarkan analisis sifat fisikokimia dari urutan asam amino, tanpa melakukan pencocokan langsung dengan basis data protein lain. Proses ini melibatkan transformasi urutan protein menjadi vektor numerik melalui algoritma *Auto Cross Covariance* (ACC) yang mengenali pola berdasarkan karakteristik seperti hidrofobisitas, polaritas, dan sifat kimia lainnya. Vektor hasil konversi tersebut kemudian dievaluasi menggunakan model statistik yang telah dilatih

dengan data dari antigen dan non-antigen. Jika skor prediksi melebihi nilai ambang ($\geq 0,4$), protein tersebut diklasifikasikan sebagai "*probable antigen*", yaitu protein yang diperkirakan mampu memicu respons imun dan memiliki potensi sebagai kandidat vaksin (Smiline Girija, 2020).

Pengujian alergenitas dilakukan melalui situs AllerTOP v2.0 (<https://www.ddg-pharmfac.net/AllerTOP/>) yang memprediksi apakah suatu urutan protein bersifat alergen atau tidak. Prediksi ini dilakukan menggunakan kecerdasan buatan dengan algoritma *k-Nearest Neighbors* (k-NN) tanpa perlu mencocokkan langsung urutan dengan protein lain (*alignment-independent*) (Sah *et al.*, 2024). Setiap asam amino dalam sekuens dikonversi menjadi nilai numerik berdasarkan lima sifat fisikokimia utama, yaitu hidrofobisitas, ukuran molekul, kelenturan, volume, dan polaritas. Seluruh urutan kemudian diproses menggunakan metode *Auto Cross Covariance* (ACC) untuk menghasilkan vektor angka yang merepresentasikan pola sifat fisikokimia sepanjang protein (Liu *et al.*, 2016). Vektor ini dibandingkan dengan database protein alergen dan non-alergen menggunakan algoritma k-NN, yang menentukan hasil prediksi berdasarkan kedekatan vektor dengan data pembanding terdekat. Hasil akhirnya berupa klasifikasi sebagai *probable allergen* atau *probable non-allergen*. Metode ini telah terbukti akurat melalui pengujian dengan dataset yang terdiri dari 2.427 protein alergen dan 2.427 non-alergen, dengan tingkat akurasi sekitar 88,7%, divalidasi menggunakan *cross-validation* dan data eksperimen (Kaliyathirum *et al.*, 2018).

Pengujian toksisitas dilakukan menggunakan situs ToxinPred dengan fitur *protein scanning* (<https://webs.iitd.edu.in/raghava/toxinpred/protein.php>). Pengujian ini mensyaratkan panjang minimal peptida sebanyak 10 asam amino.

ToxinPred memprediksi apakah suatu peptida bersifat toksik atau tidak menggunakan pendekatan *machine learning*, khususnya algoritma *Support Vector Machine* (SVM). Prediksi dilakukan berdasarkan ribuan data urutan peptida toksik dan non-toksik yang diambil dari basis data seperti SwissProt dan Swiss-ProtTox. Setiap urutan diubah menjadi format numerik melalui proses ekstraksi fitur, termasuk komposisi asam amino, komposisi dipeptida, dan berbagai sifat fisikokimia seperti muatan, hidrofobisitas, dan polaritas. Fitur tambahan seperti *binary profile* dan prediksi struktur sekunder juga dapat digunakan dalam proses analisis. Algoritma SVM dilatih untuk mengenali perbedaan pola antara peptida toksik dan non-toksik dengan tingkat akurasi yang tinggi. Jika pola dari peptida yang diuji menyerupai karakteristik peptida toksik dalam data pelatihan, maka hasilnya dikategorikan sebagai *toxin*, sedangkan jika tidak, maka diklasifikasikan sebagai *non-toxin* (Rathore *et al.*, 2024.).

3.4.4 Pemodelan dan Validasi Struktur Protein

Pemodelan struktur protein dilakukan menggunakan perangkat lunak PyMOL, dan hasil model 3D kemudian divalidasi melalui situs UCLA-DOE LAB-SAVES v6.0 (<https://saves.mbi.ucla.edu/>) dengan menggunakan alat bantu Ramachandran Plot. Validasi ini berfokus pada persentase residu yang berada di wilayah *favoured*, di mana nilai di atas 80% menunjukkan bahwa struktur protein memiliki kualitas yang baik (Sharma *et al.*, 2015). Ramachandran Plot menampilkan kombinasi sudut phi (ϕ) dan psi (ψ) dari tulang punggung asam amino, dan wilayah *favoured* menunjukkan konfigurasi sudut yang paling stabil secara energi dan tidak mengalami benturan sterik. Semakin banyak residu yang berada di wilayah ini, semakin realistis dan stabil konformasi protein yang

dihasilkan, serta kecil kemungkinan mengalami salah lipat (*misfolding*) (Roy *et al.*, 2022). Baik dalam pemodelan berbasis homologi maupun metode *de novo*, standar >80% residu di wilayah favoured sering digunakan sebagai indikator awal bahwa model 3D dapat diandalkan (Sharma *et al.*, 2015). Standar ini juga banyak dipakai oleh publikasi ilmiah dan basis data seperti *Protein Data Bank* (PDB) sebagai acuan validasi kualitas struktur protein hasil prediksi .

3.4.5 Sifat Fisikokimia Kandidat Vaksin

Analisis sifat fisikokimia dari kandidat vaksin dilakukan menggunakan situs Expasy melalui fitur ProtParam (<https://web.expasy.org/protparam/>). Beberapa parameter penting yang dihitung meliputi berat molekul, pI teoritis (Theoretical pI), indeks alifatik, indeks kestabilan, dan rata-rata hidropatik (GRAVY). ProtParam memprediksi karakteristik fisikokimia suatu protein berdasarkan urutan asam aminonya dengan menghitung nilai-nilai tersebut. Indeks kestabilan dengan nilai di bawah 40 mengindikasikan bahwa protein kemungkinan besar stabil dalam kondisi laboratorium. Nilai GRAVY yang negatif menunjukkan bahwa protein bersifat hidrofilik atau cenderung larut dalam air. Sementara itu, indeks alifatik yang tinggi menandakan bahwa protein memiliki ketahanan yang baik terhadap suhu tinggi, sehingga berpotensi stabil dalam berbagai kondisi lingkungan (Tran *et al.*, 2015).

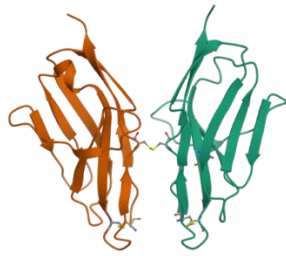
3.4.6 Uji Kelarutan Kandidat Vaksin

Pengujian kelarutan kandidat vaksin dilakukan menggunakan situs Innovagen melalui fitur *proteomic tools* yang tersedia di laman resminya (<http://www.innovagen.com/proteomics-tools>). Kelarutan yang baik penting agar protein dapat dikenali dan diproses secara efektif oleh sistem kekebalan tubuh, serta meningkatkan potensi keberhasilan vaksin dalam penerapan klinis. *Website*

Innovagen memprediksi kelarutan suatu sekuens protein berdasarkan sifat fisikokimianya. Prediksi ini mempertimbangkan beberapa faktor utama, seperti tingkat hidrofobisitas, muatan bersih pada pH netral, dan nilai GRAVY (*Grand Average of Hydropathy*) (Ghosh *et al.*, 2025). Protein yang mengandung banyak asam amino hidrofilik seperti arginin atau glutamat, serta memiliki muatan bersih yang cukup besar, cenderung lebih larut dalam air. Sebaliknya, jika dominan oleh asam amino hidrofobik seperti leusin atau valin, dan muatan bersihnya mendekati nol, maka protein tersebut biasanya kurang larut (Qing *et al.*, 2022). Dengan demikian, semakin hidrofilik dan bermuatan positif atau negatif, semakin besar peluang protein tersebut untuk larut. Meskipun hasil ini hanya merupakan prediksi teoretis, tetap berguna sebagai gambaran awal sebelum dilakukan uji kelarutan secara eksperimental di laboratorium.

3.4.7 Uji Interaksi Ligan dengan *B-Cell Receptors*

Proses *docking* dilakukan menggunakan *website* ClusPro 2.0 (<https://cluspro.bu.edu/login.php>). Server ini menggunakan metode otomatisasi *docking* untuk prediksi kompleks ligan-reseptor. Ligan yang digunakan merupakan urutan peptida dari epitop Rv3614 (<https://www.uniprot.org/uniprotkb/P9WJD5/entry>) dan reseptor yang digunakan merupakan reseptor sel B *Homo sapiens* (<https://www.rcsb.org/structure/3KG5>). Hasil *docking* diperoleh dan yang memiliki nilai terendah menunjukkan pengikatan terbaik. Hasil *docking* kemudian divisualisasikan menggunakan *software* PyMOL (Ahmed *et al.*, 2022).



Gambar 3.1 B-Cell Reseptor Homo sapiens

3.5 Analisis Data

Data yang didapatkan dari hasil analisis oleh beberapa website di analisis secara deskriptif dengan menggunakan studi literatur melalui jurnal dan buku pada tahun 2015-2025. Penyajian data dilakukan dengan menggunakan gambar dan tabel yang informatif serta didukung oleh literatur. Kemudian diambil kesimpulan dari masing-masing data sesuai rumusan dan tujuan penelitian.

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Pengambilan Sampel

Protein Rv3614 (<https://www.uniprot.org/uniprotkb/P9WJD5/entry>) dipilih sebagai kandidat vaksin TBC karena merupakan protein spesifik yang berasal dari *Mycobacterium tuberculosis*. Protein Rv3614 merupakan protein dalam kelompok kompleks ESX-1 (*Type VII Secretion System*) yang berlokasi di luar membran *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv (Chen *et al.*, 2012). Struktur tersebut digunakan oleh bakteri untuk mengekspor ke luar dinding sel guna berinteraksi dengan sel inang. Panjang asam amino dari protein Rv3614 yaitu 184. Urutan asam amino dari protein Rv3614 adalah sebagai berikut:

MDLPGNDFDSNDFDAVDLWGADGAEGWTADPIIGVGSAATPDTGPDLDNAHGQ
AETDTEQEIALFTVTNPPRTVSVSTLMDGRIDHVELSARVAWMSESQLASEILVIA
DLARQKAQSAQYAFILDRMSQQVDADEHRVALLRKTVGETWGLPSPEEAAAAE
AEVFATRYSDDCPAPDDESDPW

4.2 Prediksi Epitop Sel B

Epitop adalah daerah spesifik pada protein yang dikenali oleh sistem kekebalan tubuh dan memicu respons kekebalan tubuh (Yurina & Adianingsih, 2022). Epitop sel B merupakan bagian spesifik dari antigen yang dikenali oleh antibodi yang diproduksi oleh sel B. Epitop ini dicirikan oleh urutan asam amino yang bersebelahan dalam struktur primer protein (El-Manzalawy *et al.*, 2017). Tahap awal pencarian epitop yaitu dengan website Ellipro: *Antibody Epitope Prediction* menggunakan Threshold 0.5. Hal tersebut dipilih karena terbukti secara empiris memberikan akurasinya paling optimal dalam membedakan antara residu

yang benar-benar epitop diskontinu dan yang bukan, sehingga menjadikannya standar yang umum digunakan dalam studi imunoinformatika dan pengembangan vaksin (Zhang *et al.*, 2025).

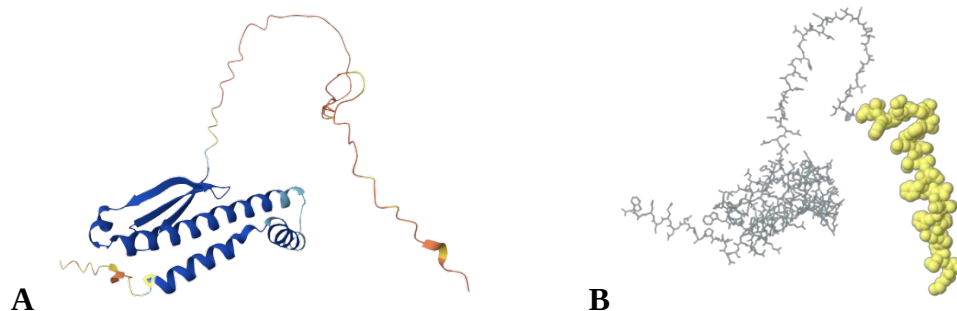
Tahap selanjutnya yaitu pemodelan struktur tiga dimensi dari protein Rv3614 menggunakan website Swiss-Model. Hasil prediksi tersebut menunjukkan bahwa protein Rv3614 memiliki lima model *predicted linear* epitop dan 10 model *predicted discontinuous* epitop. Nilai tertinggi pada model *predicted linear* epitop yaitu 0.779 terletak pada asam amino ke 1-29 sedangkan pada model *predicted discontinuous* epitop yaitu 0.947 terletak pada asam amino ke-8. Hasil dari *predicted linear epitop* dan *predicted discontinuous* epitop menunjukkan bahwa asam amino dari protein Rv3614 yang mudah dikenali oleh sistem imun berada pada urutan awal asam amino yaitu pada asam amino ke 1-29 dengan puncak residu pada asam amino ke-8.

Tabel 4.1 Model *predicted linear* epitop pada protein RV3614 dari website IEDB Analysis Resources

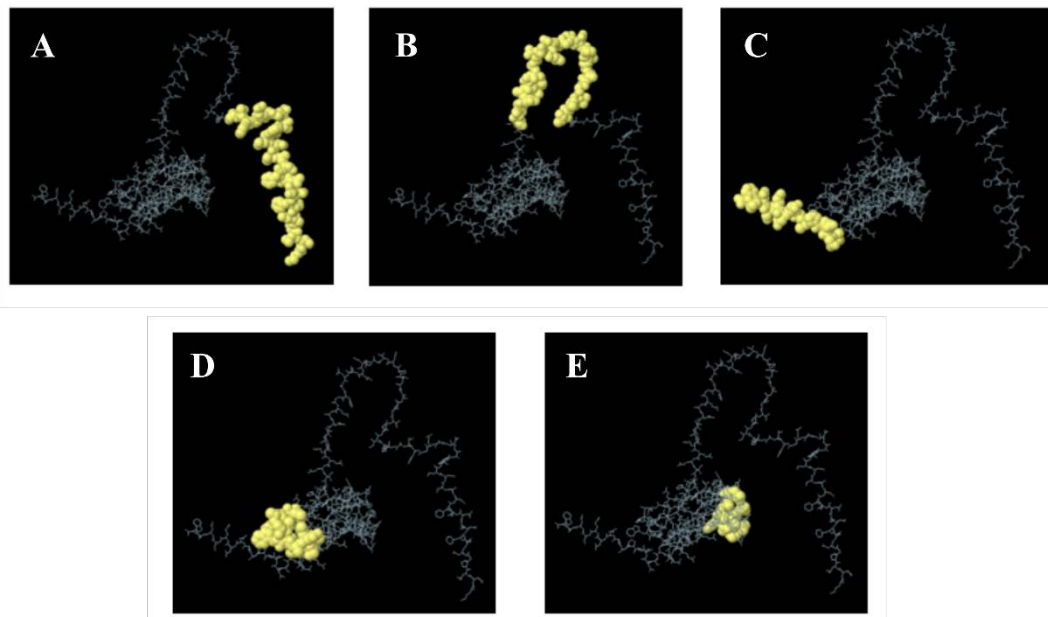
Rantai	Awal	Akhir	Peptida	Jumlah Residu Asam Amino	Nilai
A	1	29	MDLPGNDFDSNDFDLWGAD GAEGWTA	29	0.779
A	32	58	IIGVGSAAATPDTGPDLDNAH GQAETDT	27	0.777
A	171	184	SDDCPAPDDESDPW	14	0.754
A	89	102	LSARVAWMSESQLA	14	0.629
A	132	141	VDADEHRVAL	10	0.608

Tabel 4.2 Model *predicted discontinuous* epitop pada protein RV3614 dari website *IEDB Analysis Resources*

No	Residu Asam Amino	Jumlah Residu Asam Amino	Nilai
1	A:M1, A:D2, A:L3, A:P4, A:G5, A:N6, A:D7, A:F8	8	0.947
2	A:D179, A:E180, A:S181, A:D182, A:P183, A:W184	6	0.882
3	A:D9, A:S10, A:N11, A:D14, A:A15, A:V16, A:D17	7	0.8
4	A:G20, A:A21, A:D22, A:G23, A:A24, A:E25	6	0.756
5	A:D30, A:I32, A:I33, A:G34, A:V35, A:G36, A:S37, A:A38, A:A39, A:T40, A:P41, A:D42, A:T43, A:G44, A:P45, A:D46, A:L47, A:D48, A:N49, A:A50, A:H51, A:G52, A:Q53, A:A54, A:E55, A:T56, A:D57, A:T58, A:E59	29	0.751
6	A:C174, A:P175, A:A176, A:P177, A:D178	5	0.69
7	A:T73, A:L89, A:S90, A:A91, A:R92, A:V93, A:A94, A:W95, A:M96, A:S97, A:E98, A:S99, A:Q100, A:L101, A:A102	15	0.618
8	A:V132, A:D133, A:A134, A:D135, A:E136, A:H137, A:R138, A:V139, A:A140, A:L141	10	0.608
9	A:A167, A:T168, A:S171, A:D172, A:D173	5	0.562
10	A:G26, A:W27, A:T28, A:A29	4	0.505



Gambar 4.1 Visualiasi protein RV3614. A) Struktur tiga dimensi protein RV3614. B) Lokasi residu asam amino yang menjadi epitop dengan nilai prediksi tertinggi dengan nilai 0.779, warna kuning menunjukkan *predicted linear epitop* dari protein RV3614, sedangkan lipoprotein yang lainnya ditunjukkan oleh struktur batang berwarna abu-abu.



Gambar 4.2 Visualisasi lima model predicted linear epitope protein RV3614.

(A) Epitop dengan urutan residu asam amino 1-29, (B) Epitop dengan urutan residu asam amino 32-58, (C) Epitop dengan urutan residu asam amino 171-184, (D) Epitop dengan urutan residu asam amino 89-102, (E) Epitop dengan urutan residu asam amino 132-141.

Langkah selanjutnya dalam pencarian epitop untuk kandidat vaksin TBC yaitu melakukan prediksi epitop sel B pada protein Rv3614 menggunakan website Ellipro. Hasil dari Ellipro menunjukkan prediksi peptida sebagai kandidat epitop. Prediksi epitop tersebut adalah sebagai berikut:

Tabel 4.3 Hasil prediksi epitop menggunakan website Ellipro

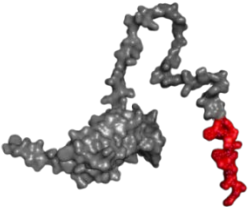
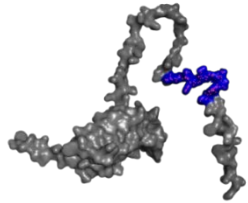
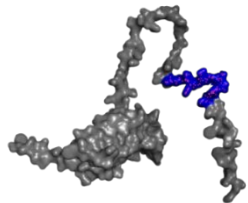
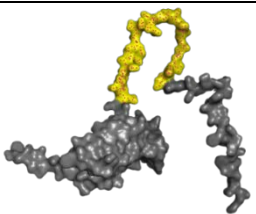
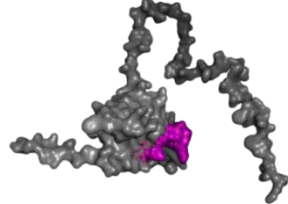
No.	Awal	Akhir	Peptida	Panjang
1.	1	14	MDLPGNDFDSNDFD	14
2.	18	30	LWGADGAEGWTAD	13
3.	32	60	IIGVGSAAATPDTGPDLDNAHGQAETDTEQ	29
4.	68	74	TNPPRTV	7
5.	100	100	Q	1
6.	113	118	RQKAQS	6
7.	130	136	QQVDADE	7
8.	147	161	GETWGLPSPEEAAAA	15

Epitop dengan panjang lebih dari 10 disarankan karena untuk uji toksisitas minimal panjang protein adalah 10. Epitop protein kandidat vaksin dengan panjang setidaknya 10 asam amino (AA) atau lebih cenderung memiliki daerah ikatan yang lebih kuat dengan reseptor sel B. Hal ini karena epitop yang lebih panjang dapat memberikan area permukaan yang lebih luas untuk interaksi dengan reseptor sel B, meningkatkan afinitas pengikatan dan kekhususan interaksi (Kharisma, 2023). Menurut Li *et al.* (2023) panjang minimal sebuah sekuens asam amino yang akan digunakan sebagai kandidat vaksin yaitu 10 asam amino dan panjang maksimalnya yaitu 25 asam amino. Panjang maksimal sekuens sebanyak 25 asam amino diketahui berhasil untuk menghasilkan antibody netralisasi yang efektif (Li *et al.*, 2023). Panjang peptida sangat berpengaruh dalam desain vaksin karena memengaruhi pengenalan oleh sistem imun (Scheiblhofer *et al.*, 2017). Jumlah peptida ideal untuk MHC kelas I yaitu 8–11 asam amino, sedangkan MHC kelas II dapat mengikat peptida lebih panjang, yaitu 13–25 asam amino (Jensen *et al.*, 2018). Sementara itu, epitop sel B linier biasanya memiliki panjang 10–25 asam amino, dengan batas minimal sekitar 6–8 dan maksimal hingga 35 asam amino (Mintaev *et al.*, 2022). Epitop ini dikenali langsung oleh antibodi berdasarkan urutan asam aminonya. Peptida yang lebih panjang dapat meningkatkan pengenalan, tapi jika terlalu panjang justru bisa mengganggu ikatan (Hamley, 2017). Berdasarkan tabel tersebut dapat diketahui bahwa terdapat 5 epitop yang akan dipilih memiliki panjang asam amino yang lebih dari 10, yaitu:

Tabel 4.4 Hasil prediksi epitop menggunakan website Ellipro yang memiliki rantai asam amino lebih dari 10

No.	Awal	Akhir	Peptida	Panjang
1.	1	14	MDLPGNDFDSNDFD	14
2.	18	30	LWGADGAEGWTAD	13
3.	32	60	IIGVGSAATPDTGPDLDNAHGQAETDTEQ	29
4.	147	161	GETWGLPSPEEAAAA	15

Tabel 4.5 Visualisasi letak epitop pada protein Rv3614

No.	Peptida	Letak Epitop
1.	MDLPGNDFDSNDFD	
2.	LWGADGAEGWTAD	
2.	LWGADGAEGWTAD	
3.	IIGVGSAATPDTGPD LDNAHGQAETDTEQ	
4.	GETWGLPSPEEAAAA	

4.3 Uji Antigenisitas, Alergenisitas dan Toksisitas Kandidat Vaksin

Hasil uji antigenisitas, alergenisitas, dan toksisitas kandidat vaksin adalah sebagai berikut:

Tabel 4.6 Hasil uji antigenisitas, alergenisitas, dan toksisitas kandidat vaksin

Sequence	Position	Antigenitas	Alergenitas	Toxicitas
MDLPGNDFDSNDFD	1-14	1.1765 Probable Antigen	Probable Allergen	Non-Toxin
LWGADGAEGWTAD	18-30	0.5767 Probable Antigen	Probable Allergen	Non-Toxin
IIGVGSAAATPDTGPDLD NAHGQAETDTEQ	32-60	0.9106 Probable Antigen	Non-Allergen	Non-Toxin
GETWGLPSPEEAAAA	147-161	0.4286 Non-Antigen	Probable Allergen	Non-Toxin

Ketiga epitop kandidat vaksin memiliki nilai >0.4 yang menunjukkan bahwa epitop tersebut bersifat antigen (tabel 4.4). Antigenisitas suatu protein dipengaruhi oleh berbagai faktor seperti urutan, struktur, dan paparan permukaannya, yang dapat memengaruhi pengenalannya oleh sistem kekebalan tubuh (Chaw *et al.*, 2020). Protein dengan antigenisitas tinggi lebih mungkin menginduksi respons imun yang kuat dan spesifik. Protein antigenik dikenali oleh sistem kekebalan tubuh dan memicu produksi antibodi serta aktivasi sel-sel kekebalan tubuh (Nguyen & Tolia, 2021). Semakin tinggi antigenisitasnya, semakin baik kemampuannya dalam merangsang sel B untuk membentuk antibodi spesifik (Wattimena & Wijanarka, 2022). Epitop pada protein vaksin dengan antigenisitas tinggi dapat menstimulasi respon imun untuk memproduksi sel B memori dan sel B plasma yang beredar dalam darah dan limpa sebagai penguat antigen. Sel B memori kemudian merangsang respon imun segera setelah terinfeksi virus sebenarnya (Safavi *et al.*, 2020).

Ketiga epitop tidak bersifat allergen (tabel 4.4). Prediksi alergenitas perlu dilakukan untuk menguji kandidat vaksin yang dipilih apakah sekuen peptida yang akan digunakan dapat menimbulkan alergi pada tubuh atau tidak. Kemampuan untuk tidak menimbulkan alergi bagi tubuh juga merupakan salah satu sifat yang ideal untuk desain vaksin. Alergi atau reaksi hipersensitivitas terjadi akibat adanya respon yang berlebihan dari tubuh terhadap suatu allergen. Reaksi alergi dapat terjadi hampir seluruh jaringan tubuh non-alergen adalah sifat ideal yang harus dimiliki oleh vaksin anti-virus (Hidayaturahmah, 2021). Peptida memiliki sifat non-alergen jika tidak dikenali atau tidak berikatan dengan antibodi IgE, sehingga tidak memicu reaksi alergi dalam tubuh (Pekar *et al.*, 2018). Hal ini biasanya disebabkan oleh urutan asam amino yang tidak menyerupai allergen yang dikenal, struktur yang sederhana atau mudah terdegradasi oleh enzim, serta tidak memiliki kemiripan (cross-reactivity) dengan protein allergen lain. Selain itu, peptida non-alergen tidak mengaktifkan jalur imun alergi seperti respons T *Helper* 2, sehingga aman digunakan dalam aplikasi seperti pengembangan vaksin (Valenta *et al.*, 2016).

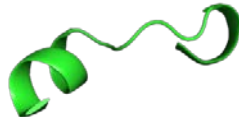
Ketiga epitop bersifat tidak toksik (tabel 4.4). Sifat non-toksin pada vaksin penting karena dapat memicu respons imun tanpa efek berbahaya pada tubuh inang. Toksin dapat menyebabkan reaksi merugikan seperti anafilaksis, yang mengancam jiwa. Sifat non-toksin juga meningkatkan imunogenisitas vaksin dengan memungkinkan fokus pada antigen tertentu sehingga menghasilkan respons imun yang lebih efektif (Gupta & Pellet, 2023). Peptida dikatakan bersifat non-toksik apabila tidak menimbulkan kerusakan pada sel atau jaringan tubuh serta tidak mengganggu fungsi biologis yang normal. Ciri ini umumnya ditentukan oleh urutan asam amino yang tidak mengandung motif atau struktur khas toksin, seperti α -

heliks amfipatik, β -barrel, atau domain enzimatik yang bersifat merusak (Lahiani *et al.*, 2017). Peptida non-toksik juga tidak mengganggu membran sel, tidak mengaktifkan jalur kematian sel seperti apoptosis atau nekrosis, dan tidak memicu reaksi berlebihan terhadap komponen tubuh (Mojsoska & Jenssen, 2015). Stabilitas dan keamanannya menjadikan peptida jenis ini sangat penting dalam pengembangan terapi dan vaksin yang aman. Tidak adanya struktur-struktur toksik tersebut membuat peptida non-toksik dinilai berpotensi dan aman untuk digunakan dalam aplikasi medis dan farmasi.

4.4 Pemodelan dan Validasi Struktur Protein

Pemodelan dan validasi telah dilakukan terhadap epitop dari protein Rv3614 untuk memastikan akurasi dan kualitas struktur tiga dimensi yang dihasilkan. Wlodawer (2017) menjelaskan bahwa validasi struktur ini bertujuan mengevaluasi seberapa tepat model tersebut merepresentasikan bentuk asli protein dalam kondisi biologis. Berdasarkan hasil validasi, seluruh model menunjukkan persentase *favoured regions* di atas 80% (tabel 4.7), yang mengindikasikan bahwa struktur 3D yang dihasilkan memiliki kualitas yang baik dan dapat diterima secara struktural (Sharma *et al.*, 2015). Dalam analisis ini digunakan plot Ramachandran, yang mengelompokkan residu berdasarkan distribusi sudut torsi phi dan psi yang umum ditemukan pada struktur protein beresolusi tinggi. Favoured regions merupakan area di mana sebagian besar residu protein berada, yang menandakan bahwa konformasi tersebut stabil secara energi dan merupakan bentuk yang lazim dijumpai di alam (Sharma *et al.*, 2015).

Tabel 4.7 Hasil pemodelan dan validasi struktur peptida kandidat vaksin

No.	Peptida	Model	Favoured Regions
1.	MDLPGNDFDSNDFD		100.0%
2.	LWGADGAEGWTAD		100.0%
3.	IIGVGSAATPDTGPD LDNAHGQAETDTEQ		100.0%
4.	GETWGLPSPEEAAAA		100.0%

4.5 Sifat Fisikokimia dan Kestabilan Kandidat Vaksin

Hasil uji sifat fisikokimia dan kestabilan peptida kandidat vaksin adalah sebagai berikut:

Tabel 4.8 Hasil uji sifat fisikokimia dan kestabilan peptida kandidat vaksin

Peptida	MW (g/mol)	Th.pI	Alph. Idx.	GRAVY	Stb. Idx.
MDLPGNDFDSNDFD	1601.62	3.24	27.86	-1.143	37.59
LWGADGAEGWTAD	1348.39	3.49	53.08	-0.385	-8.72
IIGVGSAATPDTGPD LDNAHGQAETDTEQ	2880.97	3.66	67.14	-0.652	-4.99
GETWGLPSPEEAAAA	1485.57	3.67	52.67	-0.393	75.67

MW : Molecular weight

Th. pI : Theoretical pI

Alph. Idx : Aliphatic index

GRAVY : Grand average of hydropathicity

Stb. Idx : Instability index

Ketiga epitop memiliki berat molekul rata-rata di bawah 36 kDa (<36.000 g/mol), yang mendukung kemampuannya untuk mudah larut di dalam tubuh serta menunjukkan kestabilan yang baik (Kharisma *et al.*, 2023). Titik isoelektrik teoretis (pI) dari epitop Rv3614 sebagai kandidat vaksin TBC menunjukkan bahwa keempat asam amino penyusunnya memiliki pH fisiologis di atas 3. Nilai pI yang melebihi 3 menunjukkan bahwa protein tidak tergolong sangat asam, sehingga cenderung lebih stabil pada kondisi fisiologis (Pergande & Cologna, 2017). Karakteristik ini penting dalam pengembangan vaksin, karena protein dengan $pI > 3$ umumnya lebih larut dan stabil di lingkungan cair tubuh manusia. Selain itu, nilai pI tersebut juga menurunkan kemungkinan terjadinya agregasi dan degradasi pada kondisi sedikit asam, seperti yang terjadi selama proses internalisasi antigen oleh sel imun (Nagraj *et al.*, 2025). Dengan demikian, epitop yang memiliki $pI > 3$ dianggap berpotensi tinggi untuk dikembangkan sebagai kandidat vaksin TBC.

Indeks alifatik Rv3614 pada ketiga epitop yang dianalisis berturut-turut adalah 27.86, 53.08, 67.14, dan 52.67, sebagaimana tercantum dalam tabel 4.8. Nilai ideal untuk indeks alifatik pada kandidat vaksin berbasis peptida biasanya berada di kisaran 66,5 hingga 84,33. Rentang nilai ini menunjukkan bahwa protein atau peptida tersebut memiliki stabilitas termal yang cukup baik, sehingga mampu bertahan dalam berbagai kondisi suhu tanpa mengalami degradasi atau denaturasi yang signifikan (Droppa-Almeida *et al.*, 2018). Hal ini sangat penting untuk memastikan efektivitas vaksin dalam penyimpanan dan distribusi, serta dalam mempertahankan aktivitas biologisnya selama proses vaksinasi (Sarvmeili *et al.*, 2024).

Keempat epitop Rv3614 memiliki skor *Grand Average of Hydropathicity* (GRAVY) <1 , yang menunjukkan bahwa keempatnya memiliki sifat hidrofilik. Sifat hidrofilik dalam pengembangan kandidat vaksin sangat penting karena menunjang kelarutan epitop dalam lingkungan berair fisiologis seperti cairan tubuh manusia. Protein atau peptida yang bersifat hidrofilik cenderung lebih mudah dikenali oleh sistem imun karena biasanya berada di permukaan molekul (Tahara *et al.*, 2020). Selain itu, nilai GRAVY <1 juga berkontribusi pada stabilitas epitop dalam larutan dan mempermudah formulasi dalam platform vaksin berbasis air, baik dalam bentuk peptida sintesis, protein rekombinan, maupun partikel nano (Khalaj-Hedayati *et al.*, 2023). Sifat ini sangat menguntungkan dalam pengembangan vaksin TBC yang membutuhkan respons imun yang kuat dan terarah terhadap antigen spesifik dari *Mycobacterium tuberculosis*. Dengan demikian, keempat epitop yang memiliki sifat hidrofilik ini dinilai memiliki potensi yang tinggi sebagai kandidat vaksin yang efektif dan stabil.

Indeks ketidakstabilan (Instability Index) merupakan parameter yang digunakan untuk memprediksi stabilitas suatu protein atau peptida dalam kondisi *in vitro* berdasarkan komposisi asam amino serta hubungannya dengan sifat hidrofobitas (GRAVY) dan indeks alifatik. Keempat epitop Rv3614 menunjukkan nilai indeks ketidakstabilan yang bervariasi, dimana peptida pada posisi 147-161 memiliki nilai tertinggi sebesar 75.67, menandakan kestabilan yang rendah, sedangkan peptida pada posisi 18-30 memiliki nilai terendah yaitu -8.72, yang menunjukkan kestabilan sangat baik. Protein dengan nilai indeks ketidakstabilan kurang dari 40 dianggap stabil, artinya protein tersebut mampu bertahan lebih lama tanpa mengalami degradasi atau denaturasi, sehingga lebih ideal untuk

pengembangan vaksin karena daya tahan, umur simpan, dan efektivitasnya yang terjaga (Gamage *et al.*, 2019). Sebaliknya, protein dengan nilai indeks ketidakstabilan lebih dari 40 cenderung tidak stabil, rentan terhadap degradasi, dan perubahan struktur. Sehingga dapat menurunkan aktivitas imunogenik dan efektivitas vaksin.

4.6 Uji Kelarutan Kandidat Vaksin

Hasil analisis kelarutan keempat epitop Rv3614 menggunakan website Innovagen menunjukkan bahwa kandidat vaksin tersebut bersifat larut dalam air. Kelarutan merupakan aspek krusial dalam pengembangan vaksin karena memengaruhi berbagai faktor seperti distribusi, stabilitas, efektivitas, formulasi vaksin, metode pemberian, adsorpsi, proses produksi, kondisi penyimpanan, ketersediaan hayati komponen vaksin, serta keberhasilan program vaksinasi secara keseluruhan (Sarvmeili *et al.*, 2024). Protein yang memiliki kelarutan baik cenderung lebih efektif dalam merangsang respons imun, karena mereka lebih mudah diproses dan disajikan kepada sel imun oleh sistem kekebalan tubuh (Mahmoud *et al.*, 2022). Selain itu, protein dengan berat molekul di bawah 36 kDa umumnya lebih mudah larut dan memiliki kestabilan yang lebih baik di dalam tubuh (Kharisma *et al.*, 2023). Nilai titik isoelektrik (pI) juga memiliki pengaruh terhadap kelarutan protein kandidat vaksin, karena protein dengan nilai pI di atas 3 cenderung memiliki muatan yang memungkinkan mereka untuk tetap larut pada pH fisiologis yang netral atau sedikit asam. Hal ini mendukung kelarutan dan stabilitas protein dalam lingkungan biologis, sehingga memperkuat potensi epitop sebagai kandidat vaksin yang efektif dan tahan lama.

Tabel 4.9 Hasil uji kelarutan peptida kandidat vaksin

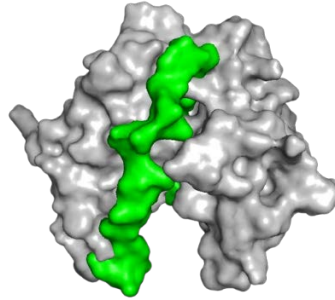
Peptide	Keterangan
MDLPGNDFDSNDFD	Good water solubility
LWGADGAEGWTAD	Good water solubility
IIGVGSAAATPDTGPD LDNAHGQAETDTEQ	Good water solubility
GETWGLPSPEEAAAA	Good water solubility

4.7 Uji Interaksi Epitop Rv3614 dengan Reseptor Sel B Manusia

Hasil analisis sebelumnya menunjukkan bahwa peptida yang paling potensial untuk diuji lebih lanjut dalam interaksi dengan reseptor sel B manusia adalah urutan asam amino pada posisi 32–60, yaitu IIGVGSAAATPDTGPDLDNAHGQAETDTEQ. Peptida ini kemudian dianalisis interaksinya dengan reseptor sel B *Homo sapiens* menggunakan database PDB 3KG5. Proses molecular docking menghasilkan 36 model interaksi dan model dengan nilai energi pengikatan paling rendah yaitu -1305.6 dipilih sebagai model terbaik. Energi pengikatan yang lebih rendah menunjukkan bahwa kompleks peptida dan reseptor yang terbentuk lebih stabil (Kozakov *et al.*, 2017). Hal ini juga mengindikasikan bahwa peptida tersebut memiliki kecenderungan lebih tinggi untuk berinteraksi secara spontan dengan reseptor. Energi pengikatan yang rendah mendukung terbentuknya kompleks molekuler yang kuat dan berkelanjutan (Fu *et al.*, 2018). Nilai energi ini dipengaruhi oleh gaya non-kovalen seperti ikatan hidrogen dan interaksi hidrofobik (Pourseif *et al.*, 2019). Stabilitasnya kompleks antara peptida dan reseptor sel B (BCR) memungkinkan terjadinya aktivasi langsung dari sel B, yang merupakan langkah awal penting dalam memicu respons imun adaptif (Bros *et al.*, 2019).

Tabel 4.10 Hasil interaksi epitop Rv3614 dengan reseptor sel B *Homo sapiens* (kJ/mol)

Peptida	Center	Lowest Energy
IIGVGSAAATPDTGPD LDNAHGQAETDTEQ	-1050.3	-1305.6



Gambar 4.3 Visualisasi hasil uji interaksi ligan dengan reseptor. Warna abu-abu menunjukkan reseptor sel B *Homo sapiens* dan warna hijau menunjukkan epitop protein Rv3614.

Meskipun bakteri sering dianggap sebagai penyebab penyakit, beberapa bagiannya justru memiliki potensi untuk dimanfaatkan sebagai solusi pengobatan. Potensi epitop Rv3614 dari *Mycobacterium tuberculosis* sebagai kandidat vaksin menunjukkan bahwa setiap struktur dalam tubuh bakteri memiliki fungsi tertentu, baik dalam proses infeksi maupun dalam memicu respon sistem imun. Hal ini mencerminkan bahwa segala sesuatu yang ada di langit dan di bumi diciptakan oleh Allah SWT dengan tujuan dan hikmah dan tidak ada yang sia-sia, sebagaimana disebutkan dalam Al-Quran surat Ali-Imran [3]: 190–191:

إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمُوتِ وَالْأَرْضِ وَاخْتِلَافِ اللَّيْلِ وَالنَّهَارِ لَآيَاتٍ لِّأُولِي الْأَلْبَابِ
(١٩٠) الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَامًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ
السَّمُوتِ وَالْأَرْضِ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَذَا بَاطِلًا سُبْحَانَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ (١٩١)

Artinya: “Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi serta pergantian malam dan siang terdapat tanda-tanda (kebesaran Allah) bagi orang yang berakal, (yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri, duduk,

atau dalam keadaan berbaring, dan memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata), “Ya Tuhan kami, tidaklah Engkau menciptakan semua ini sia-sia. Maha Suci Engkau. Lindungilah kami dari azab neraka” (Ali-Imran [3]: 190-191).

Potensi epitop Rv3614 dari *Mycobacterium tuberculosis* sebagai kandidat vaksin menunjukkan bahwa bahkan organisme penyebab penyakit pun menyimpan manfaat yang dapat diolah untuk kebaikan, seperti pengembangan vaksin. Hal ini menegaskan bahwa setiap bagian dari makhluk hidup memiliki peran dan fungsi tertentu dalam sistem biologis, baik dalam proses infeksi maupun dalam pemicu respon imun. Sejalan dengan itu, dalam Tafsir Ringkas Jilid 1 oleh Lajnah Pentashihan Mushaf Al-Qur'an (2016) ditegaskan bahwa Allah tidak menciptakan sesuatu secara sia-sia, melainkan selalu ada hikmah dan tujuan di balik ciptaan-Nya. Az-Zuhaili (2013) dalam Tafsir Al-Munir Jilid 2 juga menegaskan bahwa seluruh ciptaan Allah adalah kebenaran yang mengandung manfaat dan menjadi bukti kebijaksanaan serta kekuasaan-Nya. Seorang mukmin yang merenung dan meneliti ciptaan Allah dengan penuh kesadaran, pada akhirnya akan menghadapi dirinya kepada Allah dengan penuh kerendahan hati, berdoa, dan mengakui bahwa di balik setiap makhluk, terdapat hikmah yang mendalam dan tak ternilai.

Penjelasan mengenai jenis vaksin dalam buku *Jasad Renik* oleh Lajnah Pentashihan Mushaf Al-Qur'an (2015) sejalan dengan arah penelitian ini yang memanfaatkan sebagian komponen dari organisme bakteri. Kitab tersebut menjelaskan bahwa bakteri merupakan makhluk ciptaan Allah yang memiliki berbagai manfaat. Salah satu keunikan bakteri adalah kemampuannya untuk masuk ke dalam sel dan bertahan hidup di dalamnya tanpa merusaknya. Kemampuan tersebut kemudian dimanfaatkan oleh para ilmuwan melalui rekayasa genetika, menjadikan bakteri sebagai alat penghantar DNA ke dalam sel target. Peran bakteri

dalam mentransfer informasi genetik tersebut dapat berkontribusi besar dalam berbagai bidang, seperti terapi gen, kloning DNA, serta studi genetik lainnya.

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan dari penelitian ini menunjukkan bahwa dari hasil prediksi epitop protein Rv3614, ditemukan empat epitop, yaitu: MDLPGNDFDSNDFD pada posisi asam amino 1–14, LWGADGAEGWTAD pada posisi 18–30, IIGVGSAATPDTGPDLDNAHGQAETDTEQ pada posisi 32–60, dan GETWGLPSPEEAAAA pada posisi 147–161. Berdasarkan analisis sebelumnya, epitop pada posisi 32–60 berpotensi sebagai kandidat vaksin TBC karena bersifat antigenik, tidak menimbulkan reaksi alergi, dan tidak bersifat toksik. Epitop ini juga memiliki karakter fisiologis dan kelarutan yang mendukung untuk dikembangkan lebih lanjut hingga tahap *docking*. Hasil uji *docking* antara epitop tersebut dan reseptor sel B *Homo sapiens* menunjukkan energi ikatan paling rendah, yaitu -1305,6. Nilai energi pengikatan yang rendah ini mengindikasikan bahwa kompleks antara peptida dan reseptor terbentuk secara stabil.

5.2 Saran

Penelitian ini masih dapat dikembangkan lebih lanjut dengan menambahkan proses validasi terhadap setiap hasil yang diperoleh. Validasi tersebut bisa dilakukan menggunakan perangkat lunak atau website lain sebagai pembanding, sehingga memungkinkan evaluasi terhadap akurasi dan konsistensi data. Pendekatan ini dapat memperkuat keyakinan bahwa epitop yang dipilih benar-benar memiliki potensi sebagai kandidat vaksin. Selain itu, pengujian lebih lanjut juga dapat mencakup analisis keterikatan epitop terhadap MHC I dan MHC II dan untuk

menilai sejauh mana epitop mampu merangsang respons imun adaptif secara lebih spesifik dan efektif.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmed, A., Rakshit, S., Adiga, V., Dias, M., Dwarkanath, P., D'Souza, G., & Vyakarnam, A. (2021). A century of BCG: Impact on tuberculosis control and beyond. *Immunological reviews*, 301(1), 98-121. DOI: <https://doi.org/10.1111/imr.12968>
- Alsayed, Gunosewoyo H. (2023). Tuberculosis: Pathogenesis, Current Treatment Regimens and New Drug Targets. *Int J Mol Sci.* Mar 8;24(6):5202. PMID: 36982277; PMCID: PMC10049048. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms24065202>
- Anes, E., Pires, D., Mandal, M., & Azevedo-Pereira, J. M. (2023). ESAT-6 a major virulence factor of *Mycobacterium tuberculosis*. *Biomolecules*, 13(6), 968. DOI: <https://doi.org/10.3390/biom13060968>
- Az-Zuhaili, W. (2013). Tafsir Al-Munir. Gema Insani.
- Bastola, R., Noh, G., Keum, T., Bashyal, S., Seo, J. E., Choi, J., ... & Lee, S. (2017). Vaccine adjuvants: smart components to boost the immune system. *Archives of pharmacal research*, 40, 1238-1248.
- Bros, M., Haas, K., Moll, L., & Grabbe, S. (2019). RhoA as a Key Regulator of Innate and Adaptive Immunity. *Cells*, 8(7), 1-30.
- Brouwers, T. J., & Van der Zeijst, B. A. (2021). Vaccine production, safety, and efficacy. *Encyclopedia of Virology*, 281. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814515-9.00121-1>
- Bukhari, S. N. H., Jain, A., Haq, E., Mehbodniya, A., & Webber, J. (2022). Machine learning techniques for the prediction of B-cell and T-cell epitopes as potential vaccine targets with a specific focus on SARS-CoV-2 pathogen: A review. *Pathogens*, 11(2), 146. DOI: <https://doi.org/10.3390/pathogens11020146>
- Cambier C J, Falkow S, Ramakrishnan L. Host Evasion and Exploitation Schemes of *Mycobacterium tuberculosis*[J]. *Cell*, 2015, 159(7).
- Chatterjee, R., Ghosh, M., Sahoo, S., Padhi, S., Misra, N., Raina, V., ... & Son, Y. O. (2021). Next-generation bioinformatics approaches and resources for coronavirus vaccine discovery and development—A perspective review. *Vaccines*, 9(8), 812. DOI: <https://doi.org/10.3390/vaccines9080812>
- Chaw, L., Chien, L. C., Wong, J., Takahashi, K., Koh, D., & Lin, R. T. (2020). Global trends and gaps in research related to latent tuberculosis infection. *BMC Public Health*, 20, 1-10. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12889-020-8419-0>
- Chen JM, Boy-Röttger S, Dhar N, Sweeney N, Buxton RS, Pojer F, Rosenkrands I, Cole ST. 2012. EspD Is Critical for the Virulence-Mediating ESX-1 Secretion System in *Mycobacterium tuberculosis*. *J Bacteriol* 194: <https://doi.org/10.1128/jb.06417-11>
- Chen, Z., Gou, Q., Xiong, Q., Duan, L., Yuan, Y., Zhu, J., Zou, J., Chen, L., Jing, H., Zhang, X., Luo, P., Zeng, H., Zou, Q., Zhao, Z., & Zhang, J. (2021). Immunodominance of Epitopes and Protective Efficacy of HI Antigen Are Differentially Altered Using Different Adjuvants in a Mouse Model of *Staphylococcus aureus* Bacteremia. *Frontiers in immunology*, 12, 684823. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.684823>

- Chitale, P., Lemenze, A. D., Fogarty, E. C., Shah, A., Grady, C., Odom-Mabey, A. R., ... & Alland, D. (2022). A comprehensive update to the *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv reference genome. *Nature communications*, 13(1), 7068.
- Chua, H. M., Moshawih, S., Goh, H. P., Ming, L. C., & Kifli, N. (2023). Insights into the computer-aided drug design and discovery based on anthraquinone scaffold for cancer treatment: A protocol for systematic review. *Plos one*, 18(9), e0290948. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0290948>
- Chung, E. S., Kar, P., Kamkaew, M., Amir, A., & Aldridge, B. B. (2024). Single-cell imaging of the *Mycobacterium tuberculosis* cell cycle reveals linear and heterogenous growth. *Nature Microbiology*, 1-13.
- Coleman, M., Martinez, L., Theron, G., Wood, R., & Marais, B. (2022). *Mycobacterium tuberculosis* transmission in high-incidence settings—New paradigms and insights. *Pathogens*, 11(11), 1228. DOI: <https://doi.org/10.3390/pathogens11111228>
- Dartois, V. A., & Rubin, E. J. (2022). Anti-tuberculosis treatment strategies and drug development: challenges and priorities. *Nature Reviews Microbiology*, 20(11), 685-701. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41579-022-00731-y>
- Davidson, G., Davidson, D. U., Okoye, O. K., Mensah, L. S., Ukaegbu, E. C., Agbor, D. B. A., ... & Uche, C. J. (2024). Overview of Tuberculosis: Causes, Symptoms and Risk Factors. *Asian Journal of Research in Infectious Diseases*, 15(9), 8-19. DOI: <https://doi.org/10.9734/ajrid/2024/v15i9370>
- De Haan, P., Van Diemen, F. R., & Toscano, M. G. (2021). Viral gene delivery vectors: the next generation medicines for immune-related diseases. *Human Vaccines & Immunotherapeutics*, 17(1), 14-21. <https://doi.org/10.1080/21645515.2020.1757989>
- Dos Santos, P. C. P., Messina, N. L., de Oliveira, R. D., da Silva, P. V., Puga, M. A. M., Dalcolmo, M., ... & Croda, J. (2024). Effect of BCG vaccination against *Mycobacterium tuberculosis* infection in adult Brazilian health-care workers: a nested clinical trial. *The Lancet Infectious Diseases*, 24(6), 594-601.
- Droppa-Almeida, D., Franceschi, E., & Padilha, F. F. (2018). Immune-informatic analysis and design of peptide vaccine from multi-epitopes against *Corynebacterium pseudotuberculosis*. *Bioinformatics and Biology Insights*, 12, 1177932218755337.
- Elkington, P., Polak, M. E., Reichmann, M. T., & Leslie, A. (2022). Understanding the tuberculosis granuloma: the matrix revolutions. *Trends in Molecular Medicine*, 28(2), 143-154. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2021.11.004>
- El-Manzalawy, Y., Dobbs, D., & Honavar, V. G. (2017). In Silico Prediction of Linear B-Cell Epitops on Proteins. *Methods in molecular biology* (Clifton, N.J.). 1484, 255–264.
- Franco, C., & Rezzani, R. (2024). Methods and Models for Studying *Mycobacterium tuberculosis* in Respiratory Infections. *International Journal of Molecular Sciences*, 26(1), 18. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms26010018>
- Fu, Y., Zhao, J., & Chen, Z. (2018). Insights into the Molecular Mechanisms of Protein-Ligand Interactions by Molecular Docking and Molecular

- Dynamics Simulation: A Case of Oligopeptide Binding Protein. Computational and Mathematical Methods in Medicine, 1-13.
- Gamage, D. G., Gunaratne, A., Periyannan, G. R., & Russell, T. G. (2019). Applicability of instability index for in vitro protein stability prediction. Protein and peptide letters, 26(5), 339-347.
- Ghandadi, M. (2022). An immunoinformatic strategy to develop new mycobacterium tuberculosis multi-epitope vaccine. International Journal of Peptide Research and Therapeutics, 28(3), 99. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10989-022-10406-0>
- Ghosh, I., Ding, S., & Zhang, Y. (2025). Amphiphilic food polypeptides via moderate enzymatic hydrolysis of chickpea proteins: Bioprocessing, properties, and molecular mechanism. Food Chemistry, 478, 143602.
- Global Tuberculosis Report (2023). Geneva: World Health Organization; 2023. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.
- Gupta, S. & Pellett, S. (2023). Recent Developments in Vaccine Design: From Live Vaccines to Recombinant Toxin Vaccines. Toxins, 15(9), 1-27.
- Gupta, S., & Pellett, S. (2023). Recent developments in vaccine design: from live vaccines to recombinant toxin vaccines. Toxins, 15(9), 563. <https://doi.org/10.3390/toxins15090563>
- Hamley, I. W. (2017). Small bioactive peptides for biomaterials design and therapeutics. Chemical reviews, 117(24), 14015-14041.
- Hidayaturahmah, R. (2021). Penyuluhan Dan Edukasi Terkait Jenis Dan Penatalaksanaan Alergi Pada Masyarakat Di Dusun Temiyang, Desa Pardasuka, Kecamatan Katibung, Lampung Selatan. Jurnal Pengabdian Farmasi Malahayati, 4(2), 76-86.
- Hu, D., & Irving, A. T. (2023). Massively-multiplexed epitope mapping techniques for viral antigen discovery. *Frontiers in Immunology*, 14, 1192385. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1192385>
- Illiano, P., Brambilla, R., & Parolini, C. (2020). The mutual interplay of gut microbiota, diet and human disease. The FEBS journal, 287(5), 833-855. DOI: <https://doi.org/10.1111/febs.15217>
- Jadhav, S. P., Singh, H., Hussain, S., Gilhotra, R., Mishra, A., Prasher, P., ... & Gupta, G. (2021). Introduction to lung diseases. Targeting cellular Signalling pathways in lung diseases, 1-25. DOI: https://doi.org/10.1007/978-981-33-6827-9_1
- Jensen, K. K., Andreatta, M., Marcatili, P., Buus, S., Greenbaum, J. A., Yan, Z., ... & Nielsen, M. (2018). Improved methods for predicting peptide binding affinity to MHC class II molecules. Immunology, 154(3), 394-406.
- Jiang, F., Han, Y., Liu, Y., Xue, Y., Cheng, P., Xiao, L., & Gong, W. (2023). A comprehensive approach to developing a multi-epitope vaccine against Mycobacterium tuberculosis: from in silico design to in vitro immunization evaluation. *Frontiers in Immunology*, 14, 1280299. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1280299>
- Kabir, S., Parash, M. T. H., Emran, N. A., Hossain, A. T., & Shimmi, S. C. (2021). Diagnostic challenges and Gene-Xpert utility in detecting Mycobacterium tuberculosis among suspected cases of Pulmonary tuberculosis. PLoS One, 16(5), e0251858. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0251858>

- Kaliamurthi, S., Selvaraj, G., Junaid, M., Khan, A., Gu, K., & Wei, D. Q. (2018). Cancer immunoinformatics: A promising era in the development of peptide vaccines for human papillomavirus-induced cervical cancer. *Current pharmaceutical design*, 24(32), 3791-3817.
- Kanabalan, R. D., Lee, L. J., Lee, T. Y., Chong, P. P., Hassan, L., Ismail, R., & Chin, V. K. (2021). Human tuberculosis and Mycobacterium tuberculosis complex: A review on genetic diversity, pathogenesis and omics approaches in host biomarkers discovery. *Microbiological research*, 246, 126674. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.micres.2020.126674>
- Khalaj-Hedayati, A., Moosavi, S., Manta, O., Helal, M. H., Ibrahim, M. M., El-Bahy, Z. M., & Supriyanto, G. (2023). Identification and In Silico Characterization of a Conserved Peptide on Influenza Hemagglutinin Protein: A New Potential Antigen for Universal Influenza Vaccine Development. *Nanomaterials*, 13(20), 2796.
- Kharisma, V. D., Dian, F. A., Burkov, P., & Scherbakov, P. (2023). Molecular Simulation of B-Cell Epitop Mapping from Nipah Virus Attachment Attachment Protein to Construct Peptide-Based Vaccine Candidate: A Reverse Vaccinology Approach. *Makara Journal of Science*, 27(2), 106-114.
- Khasana, A. S. N., Hartono, N. L. S., Permatasari, V. O., Ramadhan, D. L., & Sumadi, F. A. N. (2023). In Silico Design Of B-Cell Epitope Based Peptide Vaccine For Varicella Zoster Virus. *Indonesian Journal of Biotechnology and Biodiversity*, 7(1), 1-11.
- Kocourkova, A., Honegr, J., Kuca, K., & Danova, J. (2017). Vaccine ingredients: components that influence vaccine efficacy. *Mini reviews in medicinal chemistry*, 17(5), 451-466.
- Kozakov, D., Hall, D. R., Xia, B., Porter, K. A., Padhorny, D., Yueh, C., ... & Vajda, S. (2017). The ClusPro web server for protein–protein docking. *Nature protocols*, 12(2), 255-278.
- Lagune, M., Petit, C., Sotomayor, F. V., Johansen, M. D., Beckham, K. S., Ritter, C., ... & Herrmann, J. L. (2021). Conserved and specialized functions of Type VII secretion systems in non-tuberculous mycobacteria. *Microbiology*, 167(7), 001054.
- Lahiani, A., Yavin, E., & Lazarovici, P. (2017). The molecular basis of toxins' interactions with intracellular signaling via discrete portals. *Toxins*, 9(3), 107.
- Lajnah Pentashihan Mushaf Al-Qur'an, Badan Litbang dan Diklat Kementerian Agama RI, & Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI). (2015). *Tafsir Ilmi: Jasad Renik Dalam Perspektif Al-Qur'an*. Jakarta: Lajnah Pentashihan Mushaf Al-Qur'an.
- Lajnah Pentashihan Mushaf Al-Qur'an. (2016). *Tafsir Ringkas Jilid 1*. Jakarta: Lajnah Pentashihan Mushaf Al-Qur'an.
- Leowattana, W., Leowattana, P., & Leowattana, T. (2023). Tuberculosis of the spine. *World Journal of Orthopedics*, 14(5), 275. DOI: <https://doi.org/10.5312/wjo.v14.i5.275>
- Lestari, T., Fuady, A., Yani, F. F., Putra, I. W. G. A. E., Pradipta, I. S., Chaidir, L., ... & Probandari, A. (2023). The development of the national tuberculosis research priority in Indonesia: A comprehensive mixed-method approach.

- PloS one, 18(2), e0281591. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0281591>
- Li, L., Zhao, Z., Yang, X., Su, Z., Li, W., Chen, S., Wang, L., Sun, T., Du, C., Li, Z., Yang, Z., Li, M., Wang, T., Wang, Y., Fan, Y., Wang, H., & Zhang, J. (2023). A Newly Identified Spike Protein Targeted Linear B-Cell Epitope Based Dissolvable Microneedle Array Successfully Eliciting Neutralizing Activities against SARS-CoV-2 Wild-Type Strain in Mice. *Advanced science* (Weinheim, Baden-Wurttemberg, Germany), 10(20), e2207474. <https://doi.org/10.1002/advs.202207474>
- Liu, B., Wang, S., Dong, Q., Li, S., & Liu, X. (2016). Identification of DNA-binding proteins by combining auto-cross covariance transformation and ensemble learning. *IEEE transactions on nanobioscience*, 15(4), 328-334.
- Loddenkemper, R., Murray, J.F. (2021). History of Tuberculosis. In: Migliori, G.B., Raviglione, M.C. (eds) *Essential Tuberculosis*. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-030-66703-0_1
- Machlaurin, A., Dolk, F. C. K., Setiawan, D., van der Werf, T. S., & Postma, M. J. (2020). Cost-effectiveness analysis of BCG vaccination against tuberculosis in Indonesia: a model-based study. *Vaccines*, 8(4), 707. DOI: <https://doi.org/10.3390/vaccines8040707>
- Mahmoud, A. W. M., Ayad, A. A., Abdel-Aziz, H. S., Williams, L. L., El-Shazoly, R. M., Abdel-Wahab, A., & Abdeldaym, E. A. (2022). Foliar application of different iron sources improves morpho-physiological traits and nutritional quality of broad bean grown in sandy soil. *Plants*, 11(19), 2599.
- Makam, P., & Matsa, R. (2021). “Big Three” infectious diseases: tuberculosis, malaria and HIV/AIDS. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 21(31), 2779-2799. DOI: <https://doi.org/10.2174/1568026621666210916170417>
- Maulana, N., Handriyanto, N. T., Yuarsa, T. A., Wisnubroto, A. P., Esmayanti, R., & Kurnia, N. M. (2024). The Relationship of Parent Knowledge as Closed Contact about Tuberculosis with Behavior to Prevent Tuberculosis Transmission. *Indonesian Journal of Global Health Research*, 6(4), 2377-2384. DOI: <https://doi.org/10.37287/ijghr.v6i4.3545>
- Meyer, C. U., & Zepp, F. (2022). Principles in Immunology for the Design and Development of Vaccines. *Vaccine Design: Methods and Protocols*, Volume 1. Vaccines for Human Diseases, 27-56. DOI: https://doi.org/10.1007/978-1-0716-1884-4_2
- Miggiano, R., Rizzi, M., & Ferraris, D. M. (2020). Mycobacterium tuberculosis pathogenesis, infection prevention and treatment. *Pathogens*, 9(5), 385. DOI: <https://doi.org/10.3390/pathogens9050385>
- Mintaev, R. R., Glazkova, D. V., Bogoslovskaya, E. V., & Shipulin, G. A. (2022). Immunogenic epitope prediction to create a universal influenza vaccine. *Heliyon*, 8(5).
- Modlin, S. J., Elghraoui, A., Gunasekaran, D., Zlotnicki, A. M., Dillon, N. A., Dhillon, N., ... & Valafar, F. (2021). Structure-aware Mycobacterium tuberculosis functional annotation uncloaks resistance, metabolic, and virulence genes. *MSystems*, 6(6), e00673-21.
- Mojsoska, B., & Jenssen, H. (2015). Peptides and Peptidomimetics for Antimicrobial Drug Design. *Pharmaceuticals* (Basel, Switzerland), 8(3), 366–415. <https://doi.org/10.3390/ph8030366>

- Morens, D. M., Folkers, G. K., & Fauci, A. S. (2022). The concept of classical herd immunity may not apply to COVID-19. *The Journal of Infectious Diseases*, 226(2), 195-198.
- Moule, M. G., & Cirillo, J. D. (2020). Mycobacterium tuberculosis dissemination plays a critical role in pathogenesis. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 10, 65. DOI: <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.00065>
- Nagraj, A. K., Patel, R., Gavade, A., Pais, R., Verma, P., & Patil, J. (2025). Isoelectric point, net charge and amino acid analysis of experimentally validated therapeutic antibodies. *In Silico Pharmacology*, 13(2), 1-9.
- Natarajan, A., Beena, P. M., Devnikar, A. V., & Mali, S. (2020). A systemic review on tuberculosis. *Indian Journal of Tuberculosis*, 67(3), 295-311. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijtb.2020.02.005>
- Natarajan, A., Beena, P. M., Devnikar, A. V., & Mali, S. (2020). A systemic review on tuberculosis. *Indian Journal of Tuberculosis*, 67(3), 295-311. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijtb.2020.02.005>
- Natarajan, A., et al. (2020). A Systematic Review On Tuberculosis. *Indian Journal of Tuberculosis*, 67(3), 295-311
- Nguyen, B. & Tolia, N. H. (2021). Protein-based antigen presentation platforms for nanoparticle vaccines. *NJP Vaccines*, 70, 1-11.
- Pekar, J., Ret, D., & Untersmayr, E. (2018). Stability of allergens. *Molecular immunology*, 100, 14-20.
- Pergande, M. R., & Cologna, S. M. (2017). Isoelectric point separations of peptides and proteins. *Proteomes*, 5(1), 4.
- Peters, G. E., Ekpeyong, A. U., Nabuk, N. M., & Peters, E. J. (2023). Compliance with directly-observed therapy short course regimen and recovery from pulmonary tuberculosis among clients of an infectious disease hospital. *Ibom Medical Journal*, 16(2), 190-195. DOI: <https://doi.org/10.61386/imj.v16i2.317>
- Pirofski, L. A., & Casadevall, A. (2020). The state of latency in microbial pathogenesis. *The Journal of Clinical Investigation*, 130(9), 4525-4531. DOI: <https://doi.org/10.1172/JCI136221>
- Plotkin, S., Robinson, J. M., Cunningham, G., Iqbal, R., & Larsen, S. (2017). The complexity and cost of vaccine manufacturing—an overview. *Vaccine*, 35(33), 4064-4071. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2017.06.003>
- Pourseif, M. M., Yousefpour, M., Aminianfar, M., Moghaddam, M. G., Nematollahi A. (2019). A multi-method and structure-based in silico vaccine designing against *Echinococcus granulosus* through investigating enolase protein. *Bioimpacts*, 9, 131-144.
- Prasad, R., Singh, A., & Gupta, N. (2021). Adverse drug reactions with first-line and second-line drugs in treatment of tuberculosis. *Annals of the National Academy of Medical Sciences (India)*, 57(01), 15-35. DOI: 10.1055/s-0040-1722535
- Qian, J., Chen, R., Wang, H., & Zhang, X. (2020). Role of the PE/PPE family in host–pathogen interactions and prospects for anti-tuberculosis vaccine and diagnostic tool design. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 10, 594288. DOI: <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.594288>

- Qing, R., Hao, S., Smorodina, E., Jin, D., Zalevsky, A., & Zhang, S. (2022). Protein design: From the aspect of water solubility and stability. *Chemical Reviews*, 122(18), 14085-14179.
- Rathore, A. S., Choudhury, S., Arora, A., Tijare, P., & Raghava, G. P. (2024). ToxinPred 3.0: An improved method for predicting the toxicity of peptides. *Computers in Biology and Medicine*, 179, 108926.
- Raviglione, M., & Sulis, G. (2016). Tuberculosis 2015: burden, challenges and strategy for control and elimination. *Infectious disease reports*, 8(2). DOI: <https://doi.org/10.4081/idr.2016.6570>
- Rohokale, R., & Guo, Z. (2023). Development in the concept of bacterial polysaccharide repeating unit-based antibacterial conjugate vaccines. *ACS infectious diseases*, 9(2), 178-212. <https://doi.org/10.1021/acsinfecdis.2c00559>
- Roy, S., Ghosh, P., Bandyopadhyay, A., & Basu, S. (2022). Capturing a crucial ‘disorder-to-order transition’ at the heart of the coronavirus molecular pathology—triggered by highly persistent, interchangeable salt-bridges. *Vaccines*, 10(2), 301.
- Rukminiati, Y., Sudarmono, P. P., Mesak, F., & Lolong, D. B. (2025). Assessment of Antibiotic Resistance and Associated Factors in Patients with Tuberculosis: A Nationwide Cross-Sectional Study of Indonesian TB-DRS. *medRxiv*, 2025-04.
- Safavi, A., Kefayat, A., Mahdevar, E., Abiri, A., & Ghahremani, F. (2020). Exploring the out of sight antigens of SARS-CoV-2 to design a candidate multi-epitop vaccine by utilizing immunoinformatics approaches. *Vaccine*, 38(48), 7612–7628.
- Sah, S. N., Gupta, S., Bhardwaj, N., Gautam, L. K., Capalash, N., & Sharma, P. (2024). In silico design and assessment of a multi-epitope peptide vaccine against multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *In Silico Pharmacology*, 13(1), 7.
- Samanovic, M.L., et al. (2018). Cytokinin signaling In *Myobacterium tuberculosis*. *mBio*, 9(3), 1-16
- Sanders, B., Koldijk, M., & Schuitemaker, H. (2015). Inactivated viral vaccines. Vaccine analysis: strategies, principles, and control, 45-80. https://doi.org/10.1007/978-3-662-45024-6_2
- Sarvmeili, J., Kohnhrouz, B. B., Gholizadeh, A., Shanehbandi, D., & Ofoghi, H. (2024). Immunoinformatics design of a structural proteins driven multi-epitop candidate vaccine against different SARS-CoV-2 variants based on fynomer. *Scientific Reports*, 14(10297), 1-26.
- Schaap-Johansen, A. L., Vujović, M., Borch, A., Hadrup, S. R., & Marcatili, P. (2021). T cell epitope prediction and its application to immunotherapy. *Frontiers in Immunology*, 12, 712488. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.712488>
- Scheiblhofer, S., Laimer, J., Machado, Y., Weiss, R., & Thalhamer, J. (2017). Influence of protein fold stability on immunogenicity and its implications for vaccine design. *Expert review of vaccines*, 16(5), 479-489.
- Seele, P. P., Dyan, B., Skepu, A., Maserumule, C., & Sibuyi, N. R. S. (2023). Development of gold-nanoparticle-based lateral flow immunoassays for

- rapid detection of TB ESAT-6 and CFP-10. *Biosensors*, 13(3), 354. DOI: <https://doi.org/10.3390/bios13030354>
- Setiabudiawan, T. P., Reurink, R. K., Hill, P. C., Netea, M. G., van Crevel, R., & Koeken, V. A. (2022). Protection against tuberculosis by *Bacillus Calmette-Guérin* (BCG) vaccination: A historical perspective. *Med*, 3(1), 6-24. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.medj.2021.11.006>
- Shah, M., & Dorman, S. E. (2021). Latent tuberculosis infection. *New England Journal of Medicine*, 385(24), 2271-2280. DOI: 10.1056/NEJMcp2108501
- Sharma, A. D., Kaur, G. R. I., & Kocher, G. S. (2015). Molecular modeling and in-silico characterization of alkaline protease from *Bacillus circulans* MTCC 7906. *Online Journal of Bioinformatics*, 16(1), 61-87.
- Shuja, A., Qureshi, J. A., & Shuja, N. (2022). Traditional and recent approaches for the development of animal vaccines. A Review. *Pakistan Journal of Medical & Health Sciences*, 16(12), 460-460.
- Singh, P. (2022). Antigens. In *An Interplay of Cellular and Molecular Components of Immunology* (pp. 97-108). CRC Press. ISBN: 9781003286424
- Smiline Girija, A. S. (2020). Delineating the immuno-dominant antigenic vaccine peptides against *gacS*-sensor kinase in *Acinetobacter baumannii*: an in silico investigational approach. *Frontiers in Microbiology*, 11, 2078.
- Tahara, Y., Morita, K., Wakabayashi, R., Kamiya, N., & Goto, M. (2020). Biocompatible ionic liquid enhances transdermal antigen peptide delivery and preventive vaccination effect. *Molecular pharmaceutics*, 17(10), 3845-3856.
- Tahirul Qamar, M., Saleem, S., Ashfaq, U. A., Bari, A., Anwar, F., & Alqahtani, S. (2019). Epitope-based peptide vaccine design and target site depiction against Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus: an immunoinformatics study. *Journal of translational medicine*, 17, 1-14. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12967-019-2116-8>
- Tang, J., et al. (2016). Mycobacterium Tuberculosis Infection and Vaccine Development. *Tuberculosis*, 98, 30-41. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tube.2016.02.005>
- Tedjokusumo, L. I., Goenawan, Y. A., & Wahjudi, M. (2023). Desain vaksin In Silico berdasarkan Epitope Protein Mammalian Cell Entry Associated Membrane Rv1973 untuk Tuberculosis (TBC) paru-paru. *Indonesian Journal of Biotechnology and Biodiversity (IJOBB)*, 7(1), 22-33. DOI: <https://ijobb.esaunggul.ac.id/index.php/IJOBB/article/view/168>
- Tran, N. T., Jakovlić, I., & Wang, W. M. (2015). In silico characterisation, homology modelling and structure-based functional annotation of blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*) Hsp70 and Hsc70 proteins. *Journal of Animal Science and Technology*, 57, 1-9.
- Uluçay, O. (2023). Microorganisms and Diversity of Bacteria. In: Akpınar, A. (ed.), *Research on Mathematics and Science*. Özgür Publications. DOI: <https://doi.org/10.58830/ozgur.pub81.c476>
- Uribe-Querol, E., & Rosales, C. (2017). Control of phagocytosis by microbial pathogens. *Frontiers in immunology*, 8, 1368. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.01368>
- Valenta, R., Campana, R., Focke-Tejkl, M., & Niederberger, V. (2016). Vaccine development for allergen-specific immunotherapy based on recombinant

- allergens and synthetic allergen peptides: lessons from the past and novel mechanisms of action for the future. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 137(2), 351-357.
- Velayati, A.A., & Farnia, P. (2012). *Understanding Tuberculosis-Deciphering The Secret Life of The Bacilli*. Rijeka: InTech
- Verma A, Ghoshal A, Dwivedi VP and Bhaskar A (2022) Tuberculosis: The success tale of less explored dormant *Mycobacterium tuberculosis*. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 12:1079569. doi: 10.3389/fcimb.2022.1079569
- Vetter, V., Denizer, G., Friedland, L. R., Krishnan, J., & Shapiro, M. (2018). Understanding modern-day vaccines: what you need to know. *Annals of medicine*, 50(2), 110-120. <https://doi.org/10.1080/07853890.2017.1407035>
- Wahyuni & Ramadhani, I. (2020). *Mikrobiologi dan Parasitologi*. Banyumas: CV. Pena Persada.
- Wattimena, M. N. & Wijanarka, W. (2022). In Silico Analysis Prediction of B-Cell Epitop as a Vaccine Candidate for SARS-CoV-2 B.1.617.2 (Delta) Variant. *Journal of Biomedicine and Translational Research*, 8(1), 7-15.
- Wlodawer A. (2017). Stereochemistry and Validation of Macromolecular Structures. *Methods in molecular biology* (Clifton, N.J.). 1607, 595–610.
- World Health Organization. (2020). WHO operational handbook on tuberculosis. Module 1: prevention-tuberculosis preventive treatment. World Health Organization. ISBN: 978-9-24-000290-6.
- World Health Organization. (2022). WHO consolidated guidelines on tuberculosis. Module 4: treatment-drug-resistant tuberculosis treatment, 2022 update. World Health Organization. ISBN: 978-9-24-006312-9.
- Xie M, Tsai C-Y, Woo J, Nuritdinov F, Cristaldo M, Odjourian NM, Antilus-Sainte R, Dougher M and Gengenbacher M (2025) BAFF and APRIL immunotherapy following Bacille Calmette-Guérin vaccination enhances protection against pulmonary tuberculosis in mice. *Front. Immunol.* 16:1551183. doi: 10.3389/fimmu.2025.1551183
- Xu, S., Yang, K., Li, R., & Zhang, L. (2020). mRNA vaccine era—mechanisms, drug platform and clinical prospection. *International journal of molecular sciences*, 21(18), 6582. <https://doi.org/10.3390/ijms21186582>
- Yadav, D. K., Yadav, N., & Khurana, S. M. P. (2020). Vaccines: present status and applications. In *Animal biotechnology* (pp. 523-542). Academic Press. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811710-1.00024-0>
- Yurina, V., & Adianingsih, O. R. (2022). Predicting epitops for vaccine development using bioinformatics tools. *Therapeutic advances in vaccines and immunotherapy*, 10, 1-12.
- Zhang, J., Luo, W., Cui, Y., & Sun, B. (2025). B-cell epitope peptide immunotherapy alleviates chitin-binding protein-induced type 2 airway inflammation in a *Blomia tropicalis*-murine model. *Respiratory Research*, 26(1), 129. <https://doi.org/10.1186/s12931-025-03207-8>
- Zhao, T., Cai, Y., Jiang, Y., He, X., Wei, Y., Yu, Y., & Tian, X. (2023). Vaccine adjuvants: mechanisms and platforms. *Signal transduction and targeted therapy*, 8(1), 283.
- Zhou, F., He, S., Sun, H., Wang, Y., & Zhang, Y. (2021). Advances in epitope mapping technologies for food protein allergens: A review. *Trends in Food*

Science & Technology, 107, 226-239. DOI:
<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.10.035>

LAMPIRAN

Lampiran 1. Prediksi Epitop Linear Sel B

1. Daerah Konservasi

Input Sequences: filedpwar0au.pdb

Chain A
1 MDLPNDQFDSDNDFDAVLWGADGAEQWTA
63 EIALFTVNTPTVTSTSTUN DKKDQWELS ARHWPSESQ LASELLVSDQ LANKQDQSQ
121 YAFILORPSQ QVADDEHRLV LLRTVGETR GLPSPPEAAA AEAFFATRY SDQCPAPDE
181 SDPW

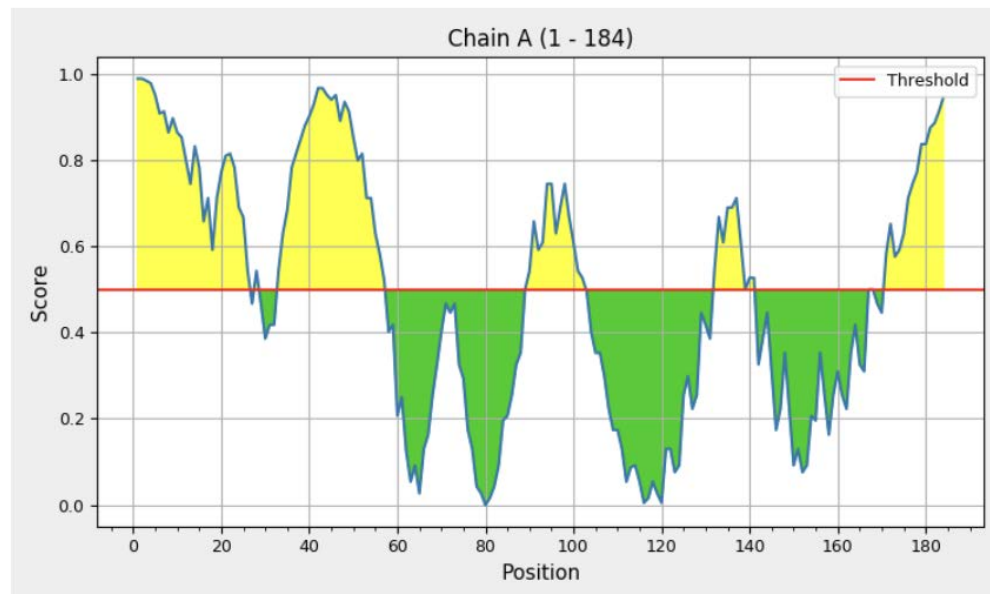
Predicted Linear Epitope(s):

No.	Chain	Start	End	Peptide	Number of residues	Score	3D structure
1	A	1	29	MDLPNDQFDSDNDFDAVLWGADGAEQWTA	29	0.779	View
2	A	32	58	IGVGSAATPTGTGPDNAHQGAETDT	27	0.777	View
3	A	171	184	SDQCPAPDESDPW	14	0.754	View
4	A	89	102	LSARVHMSESLA	14	0.629	View
5	A	132	141	VDADENHRLV	10	0.608	View

Predicted Discontinuous Epitope(s):

No.	Residues	Number of residues	Score	3D structure
1	A.M1, A.D2, A.L3, A.P4, A.Q5, A.N6, A.D7, A.F8	8	0.947	View
2	A.D179, A.E180, A.S181, A.D182, A.P183, A.W184	6	0.882	View
3	A.D9, A.S19, A.N11, A.D14, A.A15, A.V16, A.D17	7	0.8	View
4	A.Q20, A.A21, A.D22, A.Q23, A.A24, A.E25	6	0.756	View
5	A.D30, A.Q32, A.I33, A.Q34, A.V35, A.Q36, A.S37, A.A38, A.A39, A.T40, A.P41, A.D42, A.T43, A.Q44, A.P45, A.D46, A.L47, A.D48, A.N49, A.A50, A.H51, A.Q52, A.Q53, A.A54, A.E55, A.T56, A.D57, A.T58, A.E59	29	0.751	View
6	A.C174, A.P175, A.A176, A.P177, A.D178	5	0.69	View
7	A.T73, A.L89, A.S90, A.A91, A.R92, A.V93, A.A94, A.W95, A.M96, A.S97, A.E98, A.S99, A.Q100, A.L101, A.A102	15	0.618	View
8	A.V132, A.D133, A.A134, A.D135, A.E136, A.H137, A.R138, A.V139, A.A140, A.L141	10	0.608	View
9	A.A167, A.T168, A.S171, A.D172, A.D173	5	0.562	View
10	A.Q26, A.W27, A.T28, A.A29	4	0.505	View

ElliPro: 2D Score Chart(s) for filedpwar0au.pdb



Lampiran 2. Uji Antigenisitas

VaxiJen v2.0

VaxiJen RESULTS

Model selected: bacteria

Threshold for this model: 0.5

Your Sequence:
MDLPGNDFDSNDFD

Overall Prediction for the Protective Antigen = 1.1765 (Probable **ANTIGEN**).

MDLPGNDFDSNDFD

VaxiJen v2.0

VaxiJen RESULTS

Model selected: bacteria

Threshold for this model: 0.5

Your Sequence:
LWGADGAEGWTAD

Overall Prediction for the Protective Antigen = 0.5767 (Probable **ANTIGEN**).

LWGADGAEGWTAD

VaxiJen v2.0

VaxiJen RESULTS

Model selected: bacteria

Threshold for this model: 0.5

Your Sequence:
IIGVGSAAATPDTGPD
LDNAHGQAETDTEQ

Overall Prediction for the Protective Antigen = 0.9106 (Probable **ANTIGEN**).

IIGVGSAAATPDTGPD
LDNAHGQAETDTEQ

VaxiJen v2.0

VaxiJen RESULTS

Model selected: bacteria

Threshold for this model: 0.5

Your Sequence:
GETWGLPSPEEAAAA

Overall Prediction for the Protective Antigen = 0.4286 (Probable **NON-ANTIGEN**).

GETWGLPSPEEAAAA

Lampiran 3. Uji Alergenisitas

Home Datasets AllerTOP v2.1 Method description Hello, Tharisa

Results for your protein:
MDLPGNDFDSNDFD

- Most similar protein: sp|P01552|ETXB_STAAU Enterotoxin type B OS=Staphylococcus aureus GN=entB PE=1 SV=1
- Classification based on the most similar protein: Probable ALLERGEN

MDLPGNDFDSNDFD

Home Datasets AllerTOP v2.1 Method description Hello, Tharisa

Results for your protein:
LWGADGAEGWTAD

- Most similar protein: sp|P49455|TPM4_DROME Tropomyosin-1, isoforms 33/34 OS=Drosophila melanogaster GN=Tm1 PE=2 SV=2
- Classification based on the most similar protein: Probable ALLERGEN

LWGADGAEGWTAD

Home Datasets AllerTOP v2.1 Method description Hello, Tharisa

Results for your protein:
IIGVGSAATPDTGPDLDNAHGQAETDTEQ

- Most similar protein: sp|Q8NFD5|JARI1B_HUMAN AT-rich interactive domain-containing protein 1B OS=Homo sapiens GN=ARID1B PE=1 SV=2
- Classification based on the most similar protein: Probable NON-ALLERGEN

IIGVGSAATPDTGPDLDNAHGQAETDTEQ

Home Datasets AllerTOP v2.1 Method description Hello, Tharisa

Results for your protein:
GETWGLPSPEEAAAA

- Most similar protein: sp|P49455|TPM4_DROME Tropomyosin-1, isoforms 33/34 OS=Drosophila melanogaster GN=Tm1 PE=2 SV=2
- Classification based on the most similar protein: Probable ALLERGEN

GETWGLPSPEEAAAA

Lampiran 4. Uji Toksisitas

Mouse over the amino acids of query protein to see the POSITION

MDLPGNDFDSNDF

Residues in red color represent the starting residue of toxic stretch for selected window length and those in blue color represent the trailing residues falling in toxic stretch.

Peptides Scanned from Original Protein							
Peptide Sequence	SVM score	Prediction	Hydrophobicity	Hydropathicity	Hydrophilicity	Charge	Mol wt
MDLPGNDFDS	-1.60	Non-Toxin	-0.16	-0.83	0.39	-3.00	1110.29
DLPGNDFDSN	-1.41	Non-Toxin	-0.25	-1.37	0.54	-3.00	1093.20
LPGNDFDSND	-1.20	Non-Toxin	-0.25	-1.37	0.54	-3.00	1093.20
PGNDFDSNDF	-1.26	Non-Toxin	-0.24	-1.47	0.47	-3.00	1127.21
GNDFDSNDFD	-1.20	Non-Toxin	-0.30	-1.66	0.77	-4.00	1145.18

Mouse over the amino acids of query protein to see the POSITION

LWGADGAEGWTA

Residues in red color represent the starting residue of toxic stretch for selected window length and those in blue color represent the trailing residues falling in toxic stretch.

Peptides Scanned from Original Protein							
Peptide Sequence	SVM score	Prediction	Hydrophobicity	Hydropathicity	Hydrophilicity	Charge	Mol wt
LWGADGAEGW	-0.56	Non-Toxin	0.09	-0.26	-0.36	-2.00	1061.26
WGADGAEGWT	-0.65	Non-Toxin	0.02	-0.71	-0.22	-2.00	1049.20
GADGAEGWTA	-0.59	Non-Toxin	0.01	-0.44	0.07	-2.00	934.06
ADGAEGWTAD	-0.63	Non-Toxin	-0.06	-0.75	0.37	-3.00	992.09

Mouse over the amino acids of query protein to see the POSITION

IIGVGSAAATPDTGPDLDNAHQQAETDTE

Residues in red color represent the starting residue of toxic stretch for selected window length and those in blue color represent the trailing residues falling in toxic stretch.

Peptides Scanned from Original Protein							
Peptide Sequence	SVM score	Prediction	Hydrophobicity	Hydropathicity	Hydrophilicity	Charge	Mol wt
IIGVGSAAATP	-1.06	Non-Toxin	0.23	1.29	-0.62	0.00	885.17
IGVGSAAATPD	-1.20	Non-Toxin	0.09	0.49	-0.14	-1.00	887.09
GVGSAAATPDT	-1.05	Non-Toxin	-0.00	-0.03	-0.00	-1.00	875.03
VGSAAATPD TG	-0.98	Non-Toxin	-0.01	-0.03	-0.00	-1.00	875.03
QSAATPD TG P	-0.80	Non-Toxin	-0.07	-0.61	0.15	-1.00	873.01
SAATPD TG PD	-0.81	Non-Toxin	-0.15	-0.92	0.45	-2.00	931.04
AATPD TG PDL	-0.69	Non-Toxin	-0.07	-0.46	0.24	-2.00	967.13
ATPD TG PDL D	-0.72	Non-Toxin	-0.17	-0.99	0.59	-3.00	1001.14
TPD TG PDL DN	-0.70	Non-Toxin	-0.26	-1.52	0.66	-3.00	1044.17
PD TG PDL DNA	-0.66	Non-Toxin	-0.22	-1.27	0.65	-3.00	1014.14
DTGPDL DNAH	-0.59	Non-Toxin	-0.25	-1.43	0.60	-2.50	1054.17
TGPDL DNAHQ	-0.84	Non-Toxin	-0.16	-1.12	0.30	-1.50	996.14
GPDL DNAHQQ	-0.89	Non-Toxin	-0.21	-1.40	0.36	-1.50	1023.17
PDL DNAHQQA	-1.02	Non-Toxin	-0.20	-1.18	0.31	-1.50	1037.19
DL DNAHQQAE	-0.92	Non-Toxin	-0.26	-1.37	0.61	-2.50	1069.19
LDNAHQQAET	-0.87	Non-Toxin	-0.21	-1.09	0.27	-1.50	1055.21
DNAHQQAETD	-0.63	Non-Toxin	-0.33	-1.82	0.75	-2.50	1057.13
NAHQQAETDT	-0.61	Non-Toxin	-0.28	-1.54	0.41	-1.50	1043.15
AHQQAETDTE	-0.92	Non-Toxin	-0.28	-1.54	0.69	-2.50	1058.16
HQQAETDTEQ	-1.19	Non-Toxin	-0.37	-2.07	0.76	-2.50	1115.22

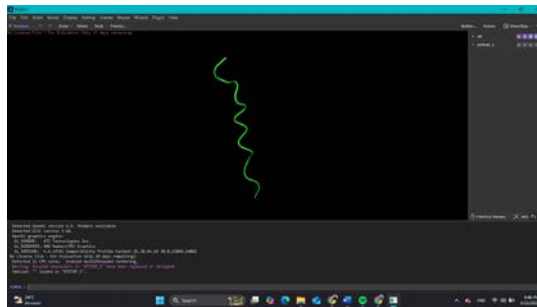
Mouse over the amino acids of query protein to see the POSITION

GETWGLSPPEAAA

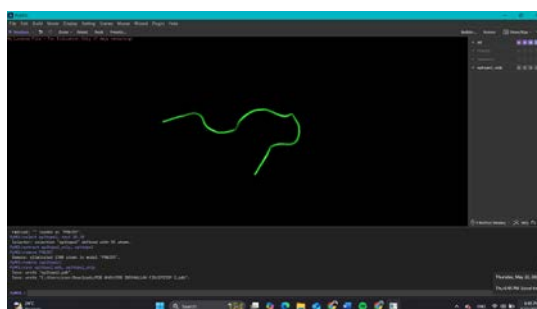
Residues in red color represent the starting residue of toxic stretch for selected window length and those in blue color represent the trailing residues falling in toxic stretch.

Peptides Scanned from Original Protein							
Peptide Sequence	SVM score	Prediction	Hydrophobicity	Hydropathicity	Hydrophilicity	Charge	Mol wt
GETWGLSPPE	-1.38	Non-Toxin	-0.06	-0.96	0.07	-2.00	1072.28
ETWGLSPPEE	-1.04	Non-Toxin	-0.14	-1.27	0.37	-3.00	1144.34
TWGLSPPEEA	-1.04	Non-Toxin	-0.05	-0.74	0.02	-2.00	1086.30
WGLSPPEEAA	-1.22	Non-Toxin	-0.01	-0.49	0.01	-2.00	1056.27
GLSPPEEAAA	-1.24	Non-Toxin	-0.02	-0.22	0.30	-2.00	941.13
LSPPEEAAAA	-1.32	Non-Toxin	-0.01	-0.00	0.25	-2.00	955.15

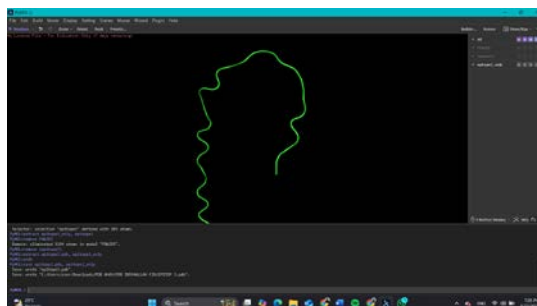
Lampiran 5. Hasil Pemodelan Struktur Peptide Kandidat Vaksin



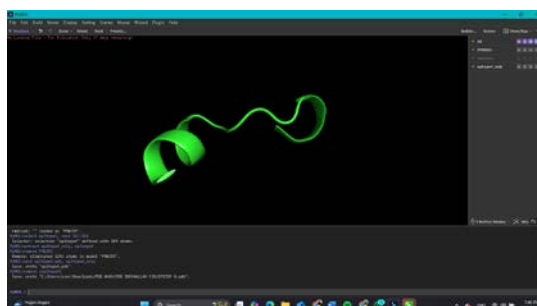
MDLPGNDFDSNDFD



LWGADGAEGWTAD

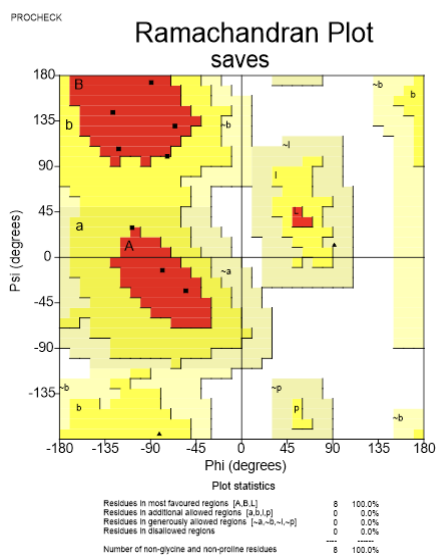


IIGVGSAAATPDTGPDLDNAHGQAETDTEQ

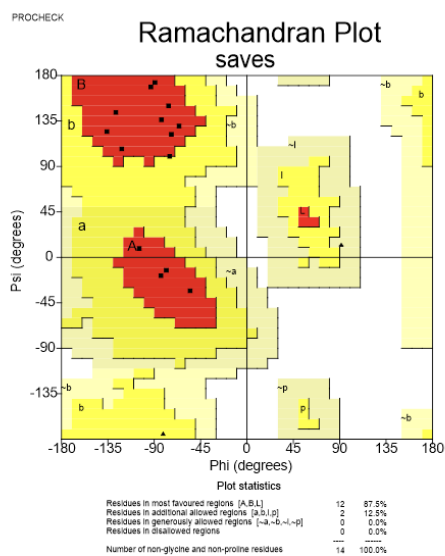


GETWGLPSPEEAAAA

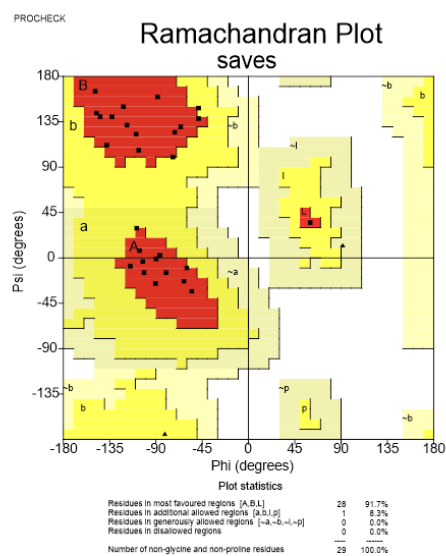
Lampiran 6. Hasil Validasi Ramachandran Plot



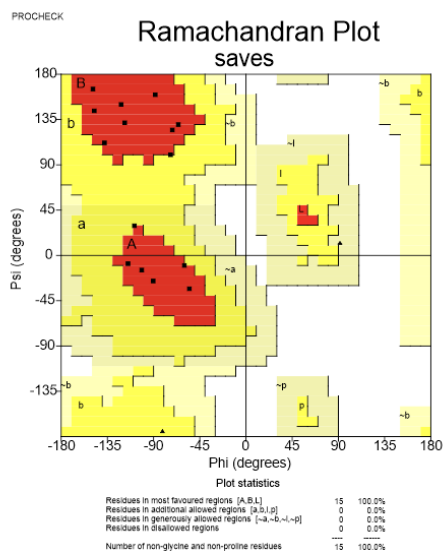
MDLPGNDFDSNDFD



LWGADGAEGWTAD



IIGVGSAA TPDTGPDL
DNAHGQAETDTEQ



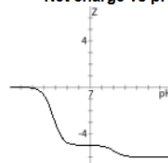
GETWGLPSPEEAAA

Lampiran 7. Hasil Uji Kelarutan Kandidat Vaksin

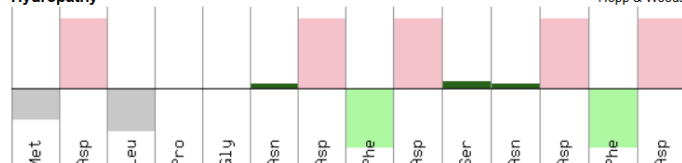
Physicochemical properties

Number of residues:	14	
Molecular weight:	1601.6 g/mol	<i>notes on MW</i>
Extinction coefficient:	0 M ⁻¹ cm ⁻¹	<i>notes on Ext. Coefficient</i>
Iso-electric point:	pH 0.53	<i>notes on pI</i>
Net charge at pH 7:	-5	<i>notes on net charge</i>
Estimated solubility:	Good water solubility.	<i>notes on solubility</i>

Net charge vs pH



Hydropathy

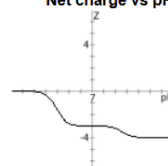


Hopp & Woods

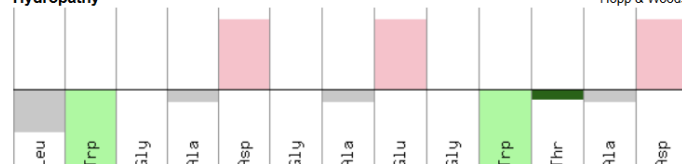
Physicochemical properties

Number of residues:	13	
Molecular weight:	1348.37 g/mol	<i>notes on MW</i>
Extinction coefficient:	11380 M ⁻¹ cm ⁻¹	<i>notes on Ext. Coefficient</i>
Iso-electric point:	pH 0.69	<i>notes on pI</i>
Net charge at pH 7:	-3	<i>notes on net charge</i>
Estimated solubility:	Good water solubility.	<i>notes on solubility</i>

Net charge vs pH



Hydropathy

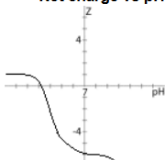


Hopp & Woods

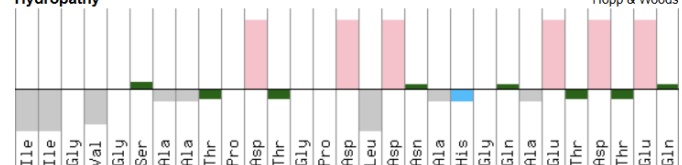
Physicochemical properties

Number of residues:	29	
Molecular weight:	2880.94 g/mol	<i>notes on MW</i>
Extinction coefficient:	0 M ⁻¹ cm ⁻¹	<i>notes on Ext. Coefficient</i>
Iso-electric point:	pH 3.12	<i>notes on pI</i>
Net charge at pH 7:	-5.9	<i>notes on net charge</i>
Estimated solubility:	Good water solubility.	<i>notes on solubility</i>

Net charge vs pH



Hydropathy

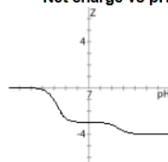


Hopp & Woods

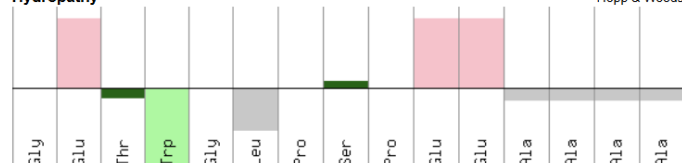
Physicochemical properties

Number of residues:	15	
Molecular weight:	1485.55 g/mol	<i>notes on MW</i>
Extinction coefficient:	5690 M ⁻¹ cm ⁻¹	<i>notes on Ext. Coefficient</i>
Iso-electric point:	pH 0.67	<i>notes on pI</i>
Net charge at pH 7:	-3	<i>notes on net charge</i>
Estimated solubility:	Good water solubility.	<i>notes on solubility</i>

Net charge vs pH



Hydropathy



Hopp & Woods



KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
PROGRAM STUDI BIOLOGI

Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp./ Faks. (0341) 558933
Website: <http://biologi.uin-malang.ac.id> Email: biologi@uin-malang.ac.id

Form Checklist Plagiasi

Nama : Tharisa Sabrina Ardy Gharini
NIM : 210602110127
Judul : Analisis Epitop Protein Rv3614 Sebagai Kandidat Vaksin Tuberkulosis Berbasis Peptida

No	Tim Check plagiasi	Skor Plagiasi	TTD
1	Azizatur Rohmah, M.Sc		
2	Berry Fakhry Hanifa, M.Sc		
3	Bayu Agung Prahardika, M.Si		
4	Tyas Nyonita Punjungsari, M.Sc	16 2	
5	Maharani Retna Duhita, M.Sc., PhD.Med.Sc		



Mengetahui,
Ketua Program Studi Biologi

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

11:33 AM

Sistem Informasi Akademik Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang 2.0

KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
Jalan Gajayana Nomor 50, Telepon (0341)551354, Fax: (0341) 572533
Website: <http://www.uin-malang.ac.id> Email: info@uin-malang.ac.id

JURNAL BIMBINGAN SKRIPSI/TESIS/DISERTASI

IDENTITAS MAHASISWA

NIM : 210602110127
 Nama : THARISA SABRINA ARDYA GHARINI
 Fakultas : SAINS DAN TEKNOLOGI
 Jurusan : BIOLOGI
 Dosen Pembimbing 1 : Prof. Dr. drh. Hj. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si
 Dosen Pembimbing 2 : Prof. Dr. H. MUNIRUL ABIDIN, M.Ag
 Judul Skripsi/Tesis/Disertasi : ANALISIS EPITOP PROTEIN RV3614 SEBAGAI KANDIDAT VAKSIN TUBERKULOSIS BERBASIS PEPTIDA

IDENTITAS BIMBINGAN

No	Tanggal Bimbingan	Nama Pembimbing	Deskripsi Proses Bimbingan	Tahun Akademik	Status
1	15 Oktober 2024	Prof. Dr. drh. Hj. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si	Bimbingan mengenai judul skripsi dan topik riset yang akan dipilih	Ganjil 2024/2025	Sudah Dikoreksi
2	06 November 2024	Prof. Dr. drh. Hj. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si	Bimbingan Bab I skripsi	Ganjil 2024/2025	Sudah Dikoreksi
3	24 Desember 2024	Prof. Dr. drh. Hj. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si	Bimbingan Bab II dan Bab III skripsi	Ganjil 2024/2025	Sudah Dikoreksi
4	23 Januari 2025	Prof. Dr. drh. Hj. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si	Bimbingan mengenai revisi dari Bab I, Bab II, dan Bab III	Ganjil 2024/2025	Sudah Dikoreksi
5	13 Februari 2025	Prof. Dr. H. MUNIRUL ABIDIN, M.Ag	Bimbingan mengenai integrasi pada Bab I	Genap 2024/2025	Sudah Dikoreksi
6	14 Februari 2025	Prof. Dr. H. MUNIRUL ABIDIN, M.Ag	Bimbingan mengenai revisi integrasi pada Bab I dan Bab II	Genap 2024/2025	Sudah Dikoreksi
7	02 Juni 2025	Prof. Dr. H. MUNIRUL ABIDIN, M.Ag	Bimbingan agama pada Bab IV	Genap 2024/2025	Sudah Dikoreksi
8	02 Juni 2025	Prof. Dr. drh. Hj. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si	Bimbingan mengenai Bab IV dan Bab V	Genap 2024/2025	Sudah Dikoreksi

Telah disetujui
 Untuk mengajukan ujian Skripsi/Tesis/Desertasi

Dosen Pembimbing 2



Prof. Dr. H. MUNIRUL ABIDIN, M.Ag

Malang, _____
 Dosen Pembimbing 1


 Prof. Dr. drh. Hj. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si
