

# ANALISIS PROTEIN PLASMODIUM FALCIPARUM MEROZOIT SURFACE PROTEIN-1 (PFMSP-1) *PLASMODIUM FALCIPARUM* UNTUK AKTIVASI SEL T-HELPER SECARA *IN SILICO*

Opik Taufiqurrohman<sup>1</sup>, Eva Nurkholifah<sup>1</sup>, Rizal Maulana Hasby<sup>3</sup>, Ismi Farah Syarifah<sup>4</sup>, Amin Kanda<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Program Studi D-III Analis Kesehatan, Sekolah Tinggi Analis Bakti Asih, Jalan Padasuka Atas No. 233, Bandung 40192, Indonesia

<sup>2</sup>Program Studi S1 Kimia, Sekolah Tinggi Analis Bakti Asih, Jalan Padasuka Atas No. 233, Bandung 40192, Indonesia

<sup>3</sup>Program Studi Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Bina Bangsa, Jalan Raya Seran – Jakarta KM 03 No.1B (Pakupatan) Serang-Banten, Indonesia

<sup>4</sup>Program Studi Kesehatan Masyarakat, Fakultas Ilmu Kesehatan, UPN “Veteran”, Jalan R.S. Fatmawati Raya Pd. Labu, Kecamatan Cilandak, Kota Jakarta Selatan, DKI Jakarta, 12450, Indonesia

E-mail: otaupiqurrohman@gmail.com

## ABSTRAK

Sampai saat ini vaksinasi dianggap sebagai cara paling efektif dalam mencegah malaria. Dewasa ini, dimungkinkan menggunakan informasi genomik untuk mempelajari perancangan vaksin secara *in silico*, tanpa perlu membiakan mikroorganisme patogen. *In silico* adalah istilah yang digunakan untuk proses penelitian dengan memanfaatkan sistem komputer. Protein PFMSP-1 adalah salah satu jenis protein dari penyebab terjadinya malaria yang dapat dijadikan sebagai sumber kandidat vaksin untuk malaria. Tujuan penelitian ini adalah menganalisis protein PFMSP-1 sebagai sumber kandidat vaksin malaria melalui prediksi interaksi protein PFMSP-1 dengan MHC-II secara *in silico*. MHC-II merupakan protein yang bertanggung jawab dalam mengaktivasi sel B dalam menghasilkan antibodi dan sel memori melalui sel T penolong. Bahan utama yang digunakan adalah urutan asam amino protein PFMSP-1 dan perangkat lunak berbasis web IEDB-AR. Hasil analisis menunjukkan bahwa urutan asam amino NFLGISFLLILMLIL (Asparagin, Fenilalanin, Leusin, Glysin, Isoleusin, Serin, Fenilalanin, Leusin, Leusin, Isoleusin, Leusin, Metionin, Leusin, Isoleusin, Leusin). merupakan peptida yang potensial untuk mengaktivasi sel T helper.

**Kata Kunci:** asam amino, *in silico*, protein PFMSP-1, peptida, malaria, vaksin

## ABSTRACT

Recently, vaccination is considered the most effective way to prevent malaria. Today, it is possible to use genomic information to study vaccine design *in silico*, without the need to breed pathogenic microorganisms. *In silico* is a term used for the research process by utilizing a computer system. PFMSP-1 protein is one type of protein that causes malaria that can be used as a source of vaccine candidates for malaria. The purpose of this study was to analyze the PFMSP-1 protein as a source of malaria candidates *in silico*. The principle of this study is to test the quality of peptide bonds of the PFMSP-1 protein with the Major Histocompatibility Complex II protein. The main ingredients used are the PFMSP-1 protein amino acid sequence and the IEDB-AR web-based software. The analysis showed that the amino acid sequence FLGISFLLILMLILY (Phenylalanine, Leucine, Glycine, Isoleucine, Serine, Phenylalanine, Leucine, Leucine, Isoleucine, Leucine, Methionine, Leucine, Leucine, Tyrosine) are vaccine candidates for malaria.

**Keywords:** amino acids, *in silico*, PFMSP-1 protein, peptides, malaria, vaccine

## 1. PENDAHULUAN

Malaria menjadi salah satu permasalahan kesehatan di dunia. Pada tahun 2015, tercatat adanya 212 juta kasus baru malaria di seluruh negara. Angka kematian akibat malaria pada tahun 2015 diperkirakan mencapai 429.000 jiwa. Persentase terbesar terjadi di wilayah Afrika (92%), Asia Tenggara (6%) dan

Wilayah Timur Mediterania (3%). Tingkat insidensi malaria dari tahun 2010-2015 terhitung menurun sekitar 21%. Angka kematian akibat malaria pun menurun cukup signifikan, yaitu 58% di Kawasan Pasifik Barat, 46% di Wilayah Asia Tenggara, 37% di Wilayah Amerika dan 6% di Wilayah Mediterania Timur (World Health Organization, 2016).

Malaria disebabkan oleh parasit yang disebut Plasmodium, ditularkan melalui gigitan nyamuk Anopheles yang terinfeksi. Dalam tubuh manusia, parasit berkembang biak dalam hati, kemudian menginfeksi sel darah merah. Gejala malaria diantaranya adalah demam, sakit kepala, dan muntah yang biasanya muncul antara 10 dan 15 hari setelah gigitan. Jika tidak segera diobati, malaria dapat dengan cepat mengganggu aliran darah ke organ vital sehingga dapat mengancam jiwa (World Health Organization, 2015).

Serangkaian upaya pengendalian malaria sesuai rekomendasi World Health Organization (WHO) telah dilakukan secara luas, meliputi pencegahan dengan Long-Lasting Insecticidal Nets (LLIN), kontrol vektor dengan Indoor Residual Spraying (IRS), dan pengobatan dengan Artemisininbased Combination Therapy (ACT). Namun, berbagai program tersebut menghadapi rintangan-rintangan, antara lain penyebaran dan peningkatan jumlah parasit yang resisten terhadap obat antimalaria serta vektor yang resisten terhadap insektisida (Crompton, dkk. 2012). Oleh karena itu, keberadaan vaksin malaria yang efektif mutlak diperlukan dalam rangkaian strategi pengendalian malaria, di samping upaya yang sudah ada (Moorthy dkk., 2004).

Pengembangan vaksin malaria telah berlangsung selama lebih dari enam dekade, tetapi sampai sekarang belum ada vaksin yang mendapat lisensi (Hill, 2011). Riset imunologi molekuler, sebagai salah satu cabang dari biologi molekuler, telah berkembang pesat, telah juga dipatenkan dan hasil risetnya telah dipublikasi dalam banyak jurnal internasional peer reviewed. Adapun, metode yang dilakukan untuk mengembangkan vaksin secara molekuler secara umum adalah memanfaatkan protein/peptida dari mikroorganisme. Dalam rangka mengembangkan vaksin yang aman, diperlukan cara untuk menonaktifkan materi genetik dari virus. Salah satu penemuan bidang imunomolekuler adalah dengan menggunakan protein atau peptida tertentu dari mikroorganisme. Peptida tersebut menghasilkan respon imun untuk menghadapi mikroorganisme yang sesungguhnya (Yolanda, 2013).

Untuk membuat vaksin peptida saat ini berkembang metode imunoinformatika prinsipnya mendeteksi mana sekuen/urutan asam amino yang berfungsi sebagai vaksin peptida. Proses pengerjaan mendeteksi tersebut adalah dengan bantuan komputer (Yolanda, 2013). Bahan yang diperlukan untuk mendeteksi vaksin peptida adalah protein mikroorganisme, termasuk untuk mendeteksi vaksin peptida malaria diperlukan protein plasmodium falciparum.

Plasmodium falciparum memiliki protein Plasmodium falciparum Merozoit Surface Protein-1 (PFMSP- 1), PFMSP-2 dan glutamate rich protein (Glurup). Dibandingkan dengan dua gen lainnya, PFMSP-1 merupakan gen dengan variabilitas terbanyak (Beeson dkk., 2016). Berdasarkan hal tersebut

dilakukan pengujian terhadap protein PFMSP-1 untuk mendeteksi peptida kandidat vaksin malaria.

Vaksin bekerja untuk mengaktifkan sel T. salah satu yang teraktivasi adalah sel T penolong. Sel T penolong mengenali peptida virus yang berasosiasi dengan protein MHC kelas II, biasanya pada permukaan sel penyaji antigen (APC). Interaksi ini menghasilkan aktivasi sel T helper, proliferasi dan diferensiasi, memberikan afinitas pengikatan yang cukup tinggi. Sel-sel T helper yang diaktifkan juga mengeluarkan sitokin yang mengarah pada aktivasi sel-sel T helper lainnya serta mengaktifkan limfosit T dan B. Hasilnya adalah populasi limfosit sitotoksik untuk sel yang terinfeksi dan produksi antibodi (Bratawidjaya, 2012).

Tujuan penelitian ini adalah menemukan peptide kandidat vaksin Malaria dari PFMSP-1 yang berfokus dapat mengaktifkan sel T helper menggunakan pendekatan secara imunoinformatika.

## 2. METODE PENELITIAN

### 2.1. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan terdiri dari laptop merk Acer Aspire E14 E5-421 dengan spesifikasi:

- Prosesor: A-Series A6-6310,
- Penyimpanan: 500 GB, RAM: 2 GB,
- Ukuran Layar: 14 inchi.
- Aplikasi berbasis web uniprot.org
- Aplikasi berbasis web IEDB AR

Adapun bahan penelitian yang digunakan terdiri dari: urutan asam amino protein PFMSP-1.

### 2.2. Prosedur Penelitian

Penelitian dilakukan dengan metode komputasi dengan prosedur sebagai berikut:

- Urutan gen PFMSP-1 yang telah ditranslasikan menjadi urutan asam aminonya diperoleh dari website database Uniprot (<http://www.uniprot.org/>).
- Selanjutnya dilakukan prediksi urutan asam amino protein PFMSP-1 sebagai kandidat vaksin, menggunakan aplikasi IEDB-AR.

Prinsip kerjanya adalah mencari urutan asam amino (peptida) dari protein PFMSP- 1 yang terikat kuat dengan MHC II. Perangkat lunak ini menggunakan algoritma konsensus dengan nilai energi afinitas sebagai indikatornya (Kim et al., 2012). Makin rendah energi maka makin kuat ikatannya.

### 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 3.1. Asam Amino Protein Plasmodium Falciparum Merozoit Surface (PFMSP-1)

Berikut ini adalah tampilan hasil pencarian urutan asam amino protein Plasmodium Falciparum Merozoit Surface (PFMSP-1) pada aplikasi uniprot.org

Entry	Entry name	Protein names	Gene names	Organism	Length
Q25976	Q25976_PLAFA	Major merozoite surface protein	MSP1	Plasmodium falciparum	539
A0A5E3	A0A5E3_MOUSE	LOC100046793 protein	LOC100046793	Mus musculus (Mouse)	237
<input checked="" type="checkbox"/>	E5FKY1	Merozoite surface protein 1	MSP-1	Plasmodium falciparum	115
<input type="checkbox"/>	E5FKX9	Merozoite surface protein 1	MSP-1	Plasmodium falciparum	115
<input type="checkbox"/>	E5FKY0	Merozoite surface	MSP-1	Plasmodium	115

Gambar 1. Tampilan Hasil Pencarian Urutan Asam Amino Plasmodium Falciparum Merozoit (PFMSP-1) pada uniprot.org.

UniProt adalah website yang berfungsi untuk menyimpan dan menghubungkan informasi protein dari sumber yang besar dan berbeda, dan katalog urutan protein dan penjelasan fungsional yang paling komprehensif. Uniprot memiliki empat komponen yang dioptimalkan untuk penggunaan yang berbeda. Pertama adalah UniProt Knowledgebase (UniProtKB), yaitu basis data yang dikuratori secara ahli, titik akses sentral untuk informasi protein terintegrasi dengan referensi silang ke berbagai sumber. Kedua Arsip UniProt (UniParc) adalah repositori urutan komprehensif, yang mencerminkan sejarah semua sekuens protein (Leinonen dkk., 2004). Ketiga UniProt Reference Clusters (UniRef) menggabungkan urutan terkait erat berdasarkan identitas urutan untuk mempercepat pencarian. Keempat Basis data UniProt Metagenomic and Environmental Sequences (UniMES) adalah repositori yang khusus dikembangkan untuk area metagenomik dan data lingkungan yang baru berkembang.

Berikut adalah urutan asam amino Plasmodium Falciparum Merozoit Surface (PFMSP-1) berdasarkan uniprot.org (Gambar 1).

<p>Urutan Asam Amino PFMSP-1</p> <p><i>LNISQHQCCKKQCPENSGCFRHLDER EECKLLNYKQEGDKCVENPNPTCNE NNGGCDADAKCTEEDSGSNGKKITCE CTKPDSYPFFDGIFCSSNFLGISFLLIL MLILYSFI</i></p>
--

Gambar 2. Urutan asam amino PFMSP-1

Berdasarkan Gambar 2. PFMSP-1 memiliki residu asam amino sebanyak 115 asam amino yaitu Leusin, Asparagin, Isolesin, Serin, Glutamin, Histidin, Glutamin, Cystin, Valin, Lysin, Lysin, Glutamin, Cystin, Prolin,

Glutamic Acid, Asparagin, Serin, Glysin, Cystin, Penylalanin, Arginin, Histidin, Leusin, Aspartic Acid, Glutamic Acid, Arginin, Glutamic Acid, Glutamic Acid, Cystin, Leusin, Leusin, Asparagin, Tyrosin, Lysin, Glutamin, Glutamic Acid, Glysin, Aspartic Acid, Lysin, Cystin, Valin, Glutamic Acid, Asparagin, Prolin, Asparagin, Prolin, Threonin, Cystin, Asparagin, Grulamic Acid, Asparagin, Asparagin, Glycin, Glycin, Cystin, Aspartic Acid, Alanin, Aspartic Acid, Alanin, Lysin, Cystin, Threonin, Glutamic Acid, Glutamic Acid, Aspartic Acid, Serin, Glysin, Serin, Asparagin, Glysin Lysin, Lysin, Isoleusin, Threonin, Cytin, Glutamic Acid, Cystin, Threonin, Lysin, Prolin, Aspartic Acid, Serin, Tyrosin, Prolin, Phenylalanin, Phenylalanin, Aspartic Acid, Glysin, Isoleunin, Phenylalanin, Cystin, Serin, Serin, Serin, Asparagin, Phenylalanin, Leusin, Glysin, Isoleunin, Serin, Phenylalanin, Leusin, Leusin, Isoleusin, Leusin, Methionin, Leusin, Isoleusin, Leusin, Tyrosin, Serin, Phenylalanin, Isoleusin.

#### 3.2. Urutan Asa Amino Kandidat Aktivator Sel T Penolong

Berikut ini adalah tampilan awal aplikasi IEDB AR.



Gambar 3. Tampilan aplikasi IEDB AR

Pada gambar 3. Terlihat ada kotak yang disediakan untuk menginputkan urutan asam amino PFMSP-1 untuk diprediksi interaksinya dengan MHC-II. Selain itu, disajikan juga polimorfisme dari MHC-II (untuk orang asia digunakan kode polimorfisme MHC-II HLA-DRB1\*01:01). Selain itu, tersaji juga pilihan panjang urutan asam amino yang akan berinteraksi dengan MHC-II, umumnya panjang asam amino yang berinteraksi dengan MHC-II adalah 15 residu asam amino. Setelah semua terisi, dibagian paling bawah tersedia menu submit, untuk dilakukannya proses prediksi.

Tabel 1. Urutan asam amino kandidat aktivator sel-T penolong

No	Posisi Residu		Urutan Asan Amino
	Mulai	Akhir	
1	98	112	FLGISFLLILMLILY
2	100	114	GISFLLILMLILYSF
3	99	113	LGISFLLILMLILYS
4	97	111	NFLGISFLLILMLIL
5	101	115	ISFLLILMLILYSFI

Nilai Align IC <sub>50</sub>		
Comb.lib	SMM-align	NN-align
0,01	11	1011,2
0,01	11	3349,2
0,01	11	3385,1
0,01	11	419,1
0,01	12	3427

Tabel 1. menampilkan hasil prediksi interaksi antara protein PFMSP-1 dengan MHC II. Berdasarkan tabel 1 peptida (urutan asam amino) keempat (NFLGISFLLILMLIL) merupakan peptida yang memiliki potensi sebagai aktivator sel T penolong. Hal ini dikarenakan peptida tersebut menghasilkan nilai IC<sub>50</sub> paling kecil yaitu 419,1 nM berdasarkan metode NN align. Nilai rendah menunjukkan afinitas yang lebih tinggi (Peter & Sette, 2005; Sidney et al., 2005).

IC<sub>50</sub> adalah konsentrasi peptida yang menyebabkan 50% MHC terinhibisi. Pengklasifikasian afinitas hasil prediksi ikatan peptida-MHC pada program IEDB-AR adalah sebagai berikut: tinggi (IC<sub>50</sub> <50 nM), menengah (<500 nM) dan rendah (<5000 nM) (Vita et al., 2014). Skor presentil kecil menandakan bahwa nilai IC<sub>50</sub> yang dihasilkan oleh metode-metode tersebut dimiliki oleh sebagian kecil urutan peptida dari bagian genom PFMSP-1 yang diprediksi, oleh karena itu maka makin kecil skor persentil makin kuat ikatan.

Akurasi prediksi dengan menggunakan tiga metode diketahui lebih baik jika dibandingkan dengan hanya satu metode saja (Vita et al., 2014). Urutan residu peptida yang ditampilkan pada Tabel 1. merupakan urutan-urutan yang memiliki nilai skor persentil terkecil. Karena posisi asam amino dari urutan ke-97 sampai akhir sifatnya antigenik artinya mampu mengaktifkan respon imun dilihat dari mampu berikatan dengan MHC II. Asam amino pada tabel urutan pertama digunakan sebagai pencegahan infeksi *Plasmodium falciparum* protein PFMSP-1.

#### 4. KESIMPULAN

Urutan asam amino penyusun peptida kandidat aktivator sel T penolong dari protein *Plasmodium falciparum* Merozoit Surface Protein-1 (PFMSP-1) adalah NFLGISFLLILMLIL (Asparagin, Fenilalanin, Leusin, Glysin, Isoleusin, Serin, Fenilalanin, Leusin, Leusin, Isoleusin, Leusin, Metionin, Leusin, Isoleusin, Leusin).

#### 5. DAFTAR PUSTAKA

- Arsunan. 2012. *Malaria Di Indonesia Tinjauan Aspek Epidemiologi*. Edisi 1, Makasar: Masagena Press, Hal 1.
- Beeson JG, Drew DR, Boyle MJ, Feng G, Fowkes FJI, Richards JS. 2016. Merozoite surface proteins in red blood cell invasion, immunity and vaccines against malaria. *FEMS Microbiology Reviews*. 40(3):343–72.
- Bratawidjaya K G. *Imunologi Dasar Edisi ke-10*. Jakarta: Badan Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia; 2012.
- Crompton PD, Pierce SK, Miller LH. *Advances and Challenges in Malaria Vaccine Development*. *J Clin Invest* 2012; 129(12): 4168-4178.
- Hastings J., de Matos P., Dekker A., Ennis M., Harsha B., Kale N., Muthukrishnan V., Owen G., Turner S., Williams M., Et al. The ChEBI reference database and ontology for biologically relevant chemistry: enhancements for 2013. *Nucleic Acids Res*. 2013;41:D456-D463. [PMC free article] [PubMed] [Google Scholar]
- Hill AVS. Vaccines against Malaria *Phil Trans R Soc Biol Sci* 2011; 366: 2806-2814.
- Leinonen, R.; Diez, F. G.; Binns, D.; Fleischmann, W.; Lopez, R.; Apweiler, R. (2004). "UniProt Archive". *Bioinformatics*. 20(17): 3236-3237.
- Moorthy VS, Good MF, Hill AVS. Malaria Vaccine Development. *The Lancet* 2004; 363: 150-156.
- Peters B, Sette A (2005) Generating quantitative models describing the sequence specificity of biological processes with the stabilized matrix method. *BMC Bioinformatics* 6: 132.
- Sidney, et al. (2005) The immune epitope database and analysis resource: from vision to blueprint. *PLoS Biol* 3: e91. doi:10.1371/journal.pbio.0030091.
- Vita R, Overton JA, Greenbaum JA, Ponomarenko J, Clark JD, Cantrell JR, et al. 2014. The immune epitope database (IEDB) 3.0. *Nucleic Acids Res*. 43: D405-D412.
- WHO. *World Health Statistics 2015*. World Health Organization; 2015
- World Health Organization. 2016. *World malaria report 2016*. Geneva: World Health Organization.
- 5.1. 14. Yolanda Uly Artha S. 2013. *Imunoinformatika: Gabungan antara Bioinformatika dan Immunologi*. [diunduh Februari 2019]. Tersedia dari <http://sciencebiotech.net/immunoinformatika-gabungan-antara-bioinformatika-dan-immunologi/>