



**FAKULTAS FARMASI MILITER
PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI**

BOGOR, 2024

LEMBAR PERSETUJUAN SKRIPSI

Nama : Riyas Muhammad Agung Kotta
NIM : 320200201021
Program Studi : Sarjana Farmasi
Fakultas : Farmasi Militer
Judul Skripsi : Desain Vaksin *Multi-epitope Monkeypox*
dengan Metode Imunoinformatika

Dosen Pembimbing 2,



apt. Yogi Ertanto, M.Biotech

Mayor Ckm NRP. 11090008341184

Tanggal: ...*Rabu*...*1.24*...*Juli*...*2024*.

Dosen Pembimbing 1,



apt. Sugindro, M.Si

Kolonel Ckm (Purn) NRP.33008

Tanggal: ...*Rabu*...*1.24*...*Juli*...*2024*

Mengetahui,

Kepala Program Studi

Sarjana Farmasi,



apt. Budi Sumaryono, S.Si., M.Farm., M.Han.

Letnan Kolonel Kes NRP. 527126

Tanggal: ...*Rabu*...*1.24*...*Juli*...*2024*

Dekan

Fakultas Farmasi Militer,



Prof. Dr. apt. Yahdjana Harahap, MS

Pembina Utama IV/e

Tanggal: ...*Rabu*...*1.24*...*Juli*...*2024*

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

Nama : Riyas Muhammad Agung Kotta
NIM : 320200201021
Program studi : Sarjana Farmasi
Fakultas : Farmasi Militer
Judul Proposal : Desain Vaksin *Multi-epitope Monkeypox*
Skripsi : dengan Metode Immunoinformatika

No.	Nama	Tanda Tangan	Tanggal
1.	Dosen Pembimbing 1: apt. Sugindro, M.Si Kolonel Ckm (Purn) NRP. 33008		24/7 24
2.	Dosen Pembimbing 2: apt. Yogi Ertanto, M.Biotech Mayor Ckm NRP. 11090008341184		24/7 24
3.	Ketua Sidang Skripsi: Dr. apt. Yuli Subiakto, M.Si Marsma TNI (Purn) NIDN 4730066401		24/7 24
3.	Dosen Penguji 2: Dr. apt. Bantari W.K. Wardhani, M. Biomed NIDN 4719128501		24/7 24
4.	Dosen Penguji 3: Kolonel Kes Dr. apt. Tedjo Narko, S.Si., M.Si., M.Si (AP) Kolonel Kes NRP. 524343		24/7 24

PERNYATAAN ORISINALITAS

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi ini tidak terdapat karya atau bagian karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan jenjang apapun di suatu Perguruan Tinggi; dan sepanjang sepengetahuan saya juga tidak terdapat istilah, frasa, kalimat, paragraf, subbab atau bab dari karya yang pernah ditulis atau diterbitkan; kecuali yang secara tertulis diajukan dalam naskah ini dan disebutkan dalam Daftar Referensi.

Apabila di kemudian hari terbukti bahwa terdapat plagiat dalam skripsi ini, saya bersedia menerima sanksi sesuai ketentuan peraturan/undang-undang yang berlaku.

Bogor, Juli 2024



Riyas Muhammad Agung Kotta

KATA PENGANTAR

Puji syukur peneliti panjatkan kehadiran Tuhan Yang Maha Esa, karena berkat rahmat dan karunia-Nya penulisan skripsi dengan judul: “Desain Vaksin *Multi-epitope Monkeypox* dengan Metode Imunoinformatika” dapat diselesaikan.

Penyusunan skripsi ini ditujukan sebagai salah satu syarat dalam memperoleh gelar Sarjana pada Program Studi Farmasi Fakultas Farmasi Militer Universitas Pertahanan RI.

Penyusunan skripsi ini dapat diselesaikan berkat bantuan dan dukungan dari berbagai pihak baik secara langsung maupun tidak langsung. Untuk itu, pada kesempatan ini Kadet Mahasiswa mengucapkan terima kasih kepada:

1. Letnan Jenderal TNI Jonni Mahroza, S.I.P., M.A., M.Sc., CIQnR., CIQaR., Ph.D., OBE, selaku Rektor Universitas Pertahanan Republik Indonesia
2. Prof. Dr. apt. Yandiana Harahap, MS, selaku Dekan Fakultas Farmasi Militer, Universitas Pertahanan Republik Indonesia,
3. Laksma TNI Dr. apt. Widyati, M.Clin.Pharm, selaku Wakil Dekan 1 Fakultas Farmasi Militer, Universitas Pertahanan Republik Indonesia,
4. Kolonel Kes Drs. apt. Nur Abdul Goni, M.Si, selaku Wakil Dekan 2 Fakultas Farmasi Militer, Universitas Pertahanan Republik Indonesia,
5. Letnan Kolonel Kes apt. Budi Sumaryono, S.Si., M.Farm., M.Han, selaku Ketua Program Studi Sarjana Farmasi, Fakultas Militer, Universitas Pertahanan Republik Indonesia,
6. Kolonel Ckm apt. Sugindro, M.Si dan Mayor Ckm apt. Yogi Ertanto, M.Biotech, selaku Dosen Pembimbing yang telah memberi masukan, saran, motivasi, dukungan, semangat selama dilakukannya penelitian,

7. Marsma TNI (purn) Dr. apt. Yuli Subiakto, M.Si, Kolonel Kes Dr. apt. Tedjo Narko, S.Si., M.Si., M.Si (AP) dan Dr. apt. Bantari W.K. Wardhani, M. Biomed, selaku Dosen Penguji yang telah memberi saran, kritik, dan masukannya,
8. Keluarga dan sanak saudara, terutama Ayah, Ibu, Faris, dan Putri memberi motivasi, dukungan, dan semangat,
9. Seluruh Rekan-rekan Kadet Mahasiswa Prodi Sarjana Farmasi *Cohort-1*, Fakultas Farmasi Militer, Universitas Pertahanan Republik Indonesia,
10. Sasuh dan adik asuh dari Asetosa yang beberapa saya libatkan untuk membantu saya selama penelitian
11. dan, untuk nomer induk mahasiswa 320220303018 yang tetap sabar menemani dan memberikan dukungan.

Semoga Tuhan yang Maha Esa membalas dengan berkah atas semua bantuan yang diberikan oleh berbagai pihak. Saya sadar bahwa skripsi ini masih memiliki kekurangan, oleh karena itu saya dengan rendah hati meminta kritik dan saran yang membangun untuk meningkatkan kualitasnya. Akhirnya, harapan saya adalah agar skripsi ini dapat memberikan kontribusi dalam pengembangan ilmu pertahanan dan memberi manfaat bagi semua pihak terkait dalam mendukung ketahanan kesehatan nasional.

ABSTRAK

DESAIN VAKSIN MULTI-EPITOPE *MONKEYPOX* DENGAN METODE IMUNOINFORMATIKA

Latar belakang : Di tengah pandemi *covid-19* pada tahun 2022 yang lalu, WHO menyatakan lonjakan angka kejadian virus *Monkeypox* di wilayah yang sebelumnya dinyatakan sebagai daerah non-endemik. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia telah mengkonfirmasi bahwa kasus *Monkeypox* telah masuk ke Indonesia pada 20 Agustus 2022. Belum adanya vaksin *Monkeypox* produksi dalam negeri mengharuskan adanya inisiasi pengembangan vaksin dalam negeri. Penelitian ini bertujuan untuk mengembangkan vaksin *multi-epitope* sebagai tahap awal dalam pengembangan vaksin. Langkah awal dari penelitian ini berupa pengambilan sekuens protein dari database PDB (*Protein Data Bank*). Server IEDB kemudian digunakan untuk menganalisis epitope limfosit B dan T. Setelah dilakukan validasi menggunakan parameter seperti antigenesitas, alergenitas, toksisitas, dan imunogenesitas, digunakan *linker* yang tepat untuk merangkai *epitope* yang terpilih dengan *adjuvant*. Selanjutnya dilakukan prediksi struktur sekunder dan tersier terhadap kandidat vaksin. Desain vaksin ini kemudian disempurnakan dan divalidasi untuk memastikan stabilitas protein secara maksimum dalam hal sifat fisik, kimia, dan strukturnya. Setelah itu, *docking* molekuler digunakan untuk mengevaluasi interaksi vaksin dengan reseptor *toll-like receptor* 2, 3 dan 4 (TLR2, TLR3 dan TLR4) kemudian diperiksa nilai energi minimumnya. Pada akhirnya, urutan yang dioptimalkan dimasukkan ke dalam vektor *Escherichia coli* (*E. coli*) pET 28. Hasil analisa secara imunoinformatika menunjukkan bahwa kandidat vaksin yang dihasilkan aman dan stabil dalam berbagai suhu dan kondisi, serta mampu menstimulasi kekebalan bawaan melalui pengikatan pada TLR2, TLR3 dan TLR4.

Kata Kunci: Vaksin *Multi-epitope*, *Monkeypox* virus (MPXV), Molekular *Docking*, Imunoinformatika.

ABSTRACT

MONKEYPOX MULTI-EPITOPE VACCINE DESIGN BY IMMUNOINFORMATICS METHOD

Background: In the midst of the covid-19 pandemic in 2022, WHO declared a spike in the incidence of *Monkeypox* virus in areas previously declared as non-endemic. The Ministry of Health has confirmed that *Monkeypox* cases have entered Indonesia on 20 August 2022. There is no domestically produced *Monkeypox* vaccine so it is necessary to initiate domestic vaccine development. This study aims to develop a multi-epitope vaccine as an initial stage of vaccine development. Methods: The initial step of the study involved retrieving protein sequences from the databank. IEDB was then used to analyse B and T lymphocyte epitopes. After validation using parameters such as antigenicity, allergenicity, toxicity and immunogenicity, appropriate linkers were used to assemble the selected epitopes to the adjuvant. Furthermore, the secondary and tertiary structures of the vaccine were predicted. These vaccine designs were then refined and validated to ensure maximum stability in terms of their physical, chemical and structural properties. Thereafter, molecular docking was used to evaluate the efficacy of the vaccine. The interaction of the vaccine with toll-like receptors 2, 3 and 4 (TLR2, TLR3 and TLR4) was then examined. Ultimately, the optimised sequence was inserted into the *Escherichia coli* (E. coli) pET 28 vector. Conclusion: Immunoinformatics assessment showed that the vaccine is safe, hydrophilic, stable in a wide range of temperatures and conditions, and capable of stimulating innate immunity through binding to TLR2, TLR3 and TLR4.

Kata Kunci: Multi-epitope vaccine, *Monkeypox* virus (MPXV), Molecular Docking, Immunoinformatics

DAFTAR ISI

LEMBAR PERSETUJUAN SKRIPSI.....	ii
LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI	iii
PERNYATAAN ORISINALITAS.....	iv
KATA PENGANTAR	v
ABSTRAK	vii
ABSTRACT.....	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR SINGKATAN	xiv
BAB 1 PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Rumusan Masalah	3
1.3. Tujuan Penelitian.....	3
1.4. Manfaat Penelitian.....	4
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1. Landasan Teori.....	5
2.1.1. Sistem Imun.....	5
2.1.2. Virus Monkeypox (MPVX).....	13
2.1.3. Vaksin	18
2.1.4. Epitope.....	24
2.1.5. Immunoinformatika.....	25
2.2. Hasil Penelitian Terdahulu	29
2.3. Kerangka Berpikir	38
2.4. Hipotesis	38
BAB 3 METODOLOGI PENELITIAN	39
3.1. Metode dan Desain Penelitian	39
3.2. Tempat dan Waktu Penelitian	39
3.3. Alat dan Bahan	40

3.4	Variabel Penelitian	42
3.5	Diagram Alir Penelitian	43
3.6	Prosedur Penelitian.....	44
3.6.1.	Pengambilan Data Protein.....	44
3.6.2.	Prediksi <i>epitope</i> Sel T (MHC I dan MHC II)	44
3.6.3.	Prediksi <i>epitope</i> Sel B linier dan diskontinu	46
3.6.4.	Konstruksi Vaksin Multi- <i>epitope</i>	47
3.6.5.	Sifat fisiokimia vaksin, antigenisitas, alergenisitas, toksisitas, dan evaluasi kelarutan.....	48
3.6.6.	Evaluasi cakupan populasi.....	48
3.6.7.	Prediksi struktur sekunder dan tersier konstruksi vaksin	49
3.6.8.	Molekular Docking Vaksin dengan TLRs	49
3.6.9.	Optimasi Kodon dan <i>in silico cloning</i>	50
3.6.10.	Simulasi Imun.....	51
3.6.	Metode Analisis.....	51
BAB 4	HASIL DAN PEMBAHASAN	52
4.1.	HASIL PENELITIAN.....	52
4.1.1.	Pemilihan Gen Protein Virus <i>Monkeypox</i>	52
4.1.2.	Prediksi <i>epitope</i> Sel T (MHC I dan MHC II)	53
4.1.3.	Prediksi <i>epitope</i> Sel B linier dan diskontiu	63
4.1.4.	Konstruksi Vaksin Multi- <i>epitope</i>	66
4.1.5.	Sifat fisikokimia vaksin, antigenesitas, alergenisitas, toksisitas, dan evaluasi kelarutan	69
4.1.6.	Evaluasi Cakupan Populasi.....	70
4.1.7.	Prediksi Struktur sekunder dan tersier kontruksi vaksin ..	72
4.1.8.	Molekuler Doking Vaksin dengan TLRs	74
4.1.9.	Optimasi Kodon dan <i>In Sillico Cloning</i>	75
4.1.10.	Simulasi Imun.....	76
4.2.	Pembahasan	79
BAB 5	KESIMPULAN DAN SARAN	90
5.1.	Kesimpulan.....	90
5.2.	Saran	90

DAFTAR PUSTAKA.....	91
LAMPIRAN.....	104



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Prinsip Mekanisme Imunitas Bawaan dan Adaptif	6
Gambar 2.2 Tipe Imunitas Adaptif	9
Gambar 2.3 Struktur vaksin <i>Monkeypox</i>	16
Gambar 2.4 Replikasi Poxvirus.	16
Gambar 2.5 Struktur Virion Ekstraseluler (EEV) dan intraseluler (IMV) ...	17
Gambar 2.6 Platform Desain Vaksin	20
Gambar 2.7 Kerangka Berpikir	38
Gambar 3.1 Diagram Alir Penelitian	43
Gambar 4.1 Model tiga dimensi <i>epitope</i> sel B terputus-putus.....	66
Gambar 4.2 Representasi skematis desain konstruksi vaksin subunit	68
Gambar 4.3 Analisis struktur sekunder konstruksi vaksin.....	73
Gambar 4.4 (A) Struktur 3D konstruksi vaksin (B) Plot Ramachandran.....	73
Gambar 4.5 Molekular <i>Docking</i> dengan TLR-2, TLR-3, dan TLR-4.....	74
Gambar 4.6 Kloning <i>in silico</i> dari konstruksi vaksin dimasukkan dalam vektor pET-28.....	75
Gambar 4.7 Hasil simulasi imun secara <i>in silico</i> yang mengamati respon imun manusia setelah pemberian vaksin MPXV.....	78

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Taksonomi <i>Monkeypox</i>	18
Tabel 4.1 Protein yang berpotensi sebagai kandidat vaksin.....	52
Tabel 4.2 Analisa Karakteristik dan Validasi Sekuens Protein.....	53
Tabel 4.3 <i>Epitope</i> CTL diprediksi untuk konstruksi vaksin multi- <i>epitope</i> ..	55
Tabel 4.4 <i>Epitope</i> HTL diprediksi untuk konstruksi vaksin multi- <i>epitope</i> ..	59
Tabel 4.5 <i>Epitope</i> sel B linier dipilih untuk desain vaksin multi- <i>epitope</i>	63
Tabel 4.6 <i>Epitope</i> Sel B Linier.....	65
Tabel 4.7 Desain akhir vaksin multi- <i>epitope</i> virus cacar monyet	67
Tabel 4.8 Karakteristik dasar struktur vaksin yang dirancang	69
Tabel 4.9 Cakupan populasi <i>epitope</i> MHC I yang dipilih untuk keseluruhan populasi dunia.....	70
Tabel 4.10 Cakupan populasi <i>epitope</i> MHC II terpilih untuk keseluruhan populasi dunia.....	71



DAFTAR SINGKATAN



AA	: <i>Amino Acid</i>
ACC	: <i>Auto Cross Covariance</i>
ACIP	: <i>Advisory Committee on Immunization Practices</i>
ADCC	: <i>Antibody-Dependent Cellular Cytotoxicity</i>
APC	: <i>Antigen Presenting Cell</i>
BLASTP	: <i>Basic Local Alignment and Search Tool Protein</i>
BCR	: <i>B-Cell Receptors</i>
CAI	: <i>Codon Adaptation Index</i>
CBRNE	: <i>Chemical, Biological, Radiological, Nuclear, and Explosives</i>
CTB	: <i>Cholera Toxin B</i>
CTL	: <i>Cytotoxic T Cells</i>
DC	: <i>Dendritic Cell</i>
EEV	: <i>Extracellular Enveloped Virus</i>
ER	: <i>Retikulum Endoplasma</i>
FDA	: <i>Food and Drug Administration</i>
HLA	: <i>Human Leukocyte Antigens</i>
HTL	: <i>Helper T Cells</i>
ICTV	: <i>International Committee on the Taxonomy of Viruses</i>
IEDB	: <i>The Immune epitope Database</i>
IG	: <i>Igmunoglobulin</i>
IFN	: <i>Interferon</i>
ILC	: <i>Lymphoid Cells</i>
IMV	: <i>Intracellular Mature Virus</i>
MHC	: <i>Major Histo Compatibility</i>
MPXV	: <i>Monkeypox Virus</i>
MPOX	: <i>Monkeypox</i>
NCBI	: <i>National Center of Biotechnology Information</i>
NK Cell	: <i>Natural Killer Cell</i>
PDB	: <i>Protein Data Bank</i>
TAP	: <i>Transporter Antigen Processing</i>

TCR : *T-Cell Receptor*
TLR : *Toll Like Reseptor*
VACV : *Vaccinia Virus*
WHO : *World Health Organization*



**LEMBAR PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH
UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai sivitas akademik Universitas Pertahanan Republik Indonesia, saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Riyas Muhammad Agung Kotta
NIM : 320200201021
Program Studi : Sarjana Farmasi
Fakultas : Farmasi Militer
Jenis Karya : Skripsi

demikian pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Pertahanan Republik Indonesia **Hak Bebas Royalti Noneksklusif (*Non-exclusive Royalty-Free Right*)** atas karya ilmiah saya yang berjudul:

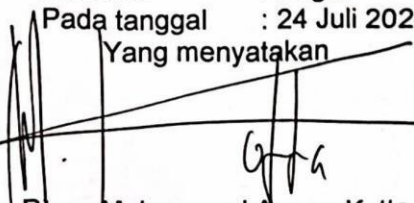
Desain Vaksin *Multi-Epitope* Monkeypox dengan Metode Immunoinformatika

beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Pertahanan Republik Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat, dan memublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya

Dibuat di : Bogor
Pada tanggal : 24 Juli 2024

Yang menyatakan


Riyas Muhammad Agung Kotta
NIM. 320200201021