

Identifikasi *Epitop Sel-T COVID-19* terhadap Reseptor Imun TLR-2 (*Toll-like Receptor-2*) untuk Pengembangan Vaksin Berbasis Peptida

Ridwan Wijaya^{*}, Aulia Fikri Hidayat, Taufik M. Fakhri

Prodi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Bandung, Indonesia.

^{*} wijayaridwan999@gmail.com, aulia.fikri.h@gmail.com, taufikmuhammadf@gmail.com

Abstract. The coronavirus outbreak that is sweeping the world is a serious challenge for the international health system. Overcoming the lack of information regarding experimental data, tools and even understanding of the body's immune response to SARS-CoV2, it is necessary to take effective steps to anticipate the spread and control the COVID-19 pandemic. Therefore, a COVID-19 epitope T-cell protein-peptida docking simulation against the TLR-2 (Toll-like Receptor-2) immune receptor target with the PDB code 2Z80 computationally was carried out in order to add dry laboratory data information, anticipate contact and crowds so as to minimize the spread of the SARS-CoV2 outbreak. There are several bioactive peptidas that are potential candidates for SARS-CoV2 vaccines such as bioactive peptidas FLAFVVFL, FVLAAYRI, FVVLLVTL, VLLFLAFV and YVYSRVKNL. This study aims to identify and evaluate the molecular interactions that occur between bioactive peptida molecules and TLR-2 enzyme macromolecules with PDB code 2Z80 using in-silico protein-peptida-based molecular docking method. Bioactive peptida sequence modeling using PEP-FOLD software. Furthermore, the best conformation was selected to be used in the study of interactions with TLR-2 macromolecules using the HPEPDock software. Further exploration was carried out on the results of molecular interactions formed using the BIOVIA Discovery Studio 2019 software. Based on the results from molecular anchoring, the bioactive peptida FLAFVVFL had the best affinity for TLR-2 macromolecules (PDB code 2Z80) with a bond free energy value of -155,194 kJ/mol. So it can be concluded that the bioactive peptida is predicted to be used as a candidate for TLR-2 enzyme inhibitor.

Keywords: *COVID-19, peptida-based vaccine candidates, T-cell epitopes, TLR-2, 3D modelling, Docking.*

Abstrak. Wabah virus corona yang sedang melanda dunia ini merupakan suatu tantangan yang serius bagi sistem kesehatan internasional. Mengatasi kurangnya informasi mengenai data eksperimental, alat bahkan pemahaman mengenai respons imun tubuh terhadap SARS-CoV2 diperlukan langkah yang efektif agar mengantisipasi penyebaran sekaligus mengendalikan pandemic COVID-19. Maka dari itu dilakukan simulasi docking protein-peptida sel-T epitope COVID-19 terhadap target reseptor imun TLR-2 (Toll-like Receptor-2) dengan kode PDB 2Z80 secara komputasi agar menambahkan informasi data laboratorium kering, mengantisipasi kontak dan kerumunan sehingga meminimalisir penyebaran wabah SARS-CoV2. Terdapat beberapa peptida bioaktif yang berpotensi sebagai kandidat vaksin SARS-CoV2 seperti peptida bioaktif FLAFVVFL, FVLAAYRI, FVVLLVTL, VLLFLAFV dan YVYSRVKNL. Penelitian ini bertujuan mengidentifikasi dan mengevaluasi interaksi molekuler yang terjadi antara molekul peptida bioaktif dengan makromolekul enzim TLR-2 dengan kode PDB 2Z80 menggunakan metode penambatan molekuler berbasis protein-peptida secara in-silico. Pemodelan sekuensi peptida bioaktif dengan menggunakan perangkat lunak PEP-FOLD. Selanjutnya dipilih konformasi terbaik untuk digunakan pada studi interaksi terhadap makromolekul TLR-2 dengan menggunakan perangkat lunak HPEPDock. Dilakukan eksplorasi lebih lanjut terhadap hasil interaksi molekuler yang terbentuk dengan menggunakan perangkat lunak BIOVIA Discovery Studio 2019. Berdasarkan hasil dari penambatan molekuler, ppeptida bioaktif FLAFVVFL memiliki afinitas yang paling baik terhadap makromolekul TLR-2 (kode PDB 2Z80) dengan nilai energi bebas ikatan -155,194 kJ/mol. Sehingga dapat disimpulkan, peptida bioaktif tersebut diprediksi dapat digunakan sebagai kandidat inhibitor enzim TLR-2.

Kata Kunci: *COVID-19, Kandidat vaksin berbasis peptida, Epitope sel-T, TLR-2, Pemodelan 3D, Docking.*

A. Pendahuluan

Agen penyebab terjangkitnya COVID-19 adalah sindrom pernapasan akut yang parah oleh disebabkan oleh coronavirus 2 (SARS-CoV-2). Hal ini sudah menyebar luas hingga menjadikan kondisi pandemi pada seluruh negara dibelahan dunia ini. Vaksin adeno virusMaka dari itu diperlukan pengembangan vaksin yang efektif dan aman untuk melawan virus ini, sehingga dapat dikumpulkan informasinya mengenai mekanisme SARS-CoV-2 dan bagaimana cara mengatasi virus ini yang menginfeksi sel inang (Singh J, 2021). Studi dilakukan agar pengembangan vaksin yang efektif untuk SARS-CoV-2 dengan menganalisis epitope sel-T COVID-19 yang mampu berikatan dengan reseptor imun Toll-like Receptor-2 (TLR-2) pada tubuh manusia dengan metode docking protein peptida berbasis komputasi. Pemilihan reseptor dan peptida yang digunakan pada penelitian ini berasal dari jurnal penelitian yang berjudul “Prediction and identification of T cell epitopes of COVID-19 with balanced cytokine response for the development of peptide based vaccines”, sehingga dapat dikatakan melanjutkan penelitiannya (Medha, 2021). Penggunaan metode komputasi ini agar mengantisipasi penyebaran COVID-19 sehingga pandemi yang sedang melanda tidak terlalu menjangkit para peneliti karena sebelum dilakukan ke penelitian laboratorium dilakukan terlebih dahulu penelitian in-silico ini secara komputasi. Dimana informasi yang didapatkan dari penelitian ini dap-at dimanfaatkan penelitian laboratorium basah atau langsung secara in-vivo maupun in-vitro.

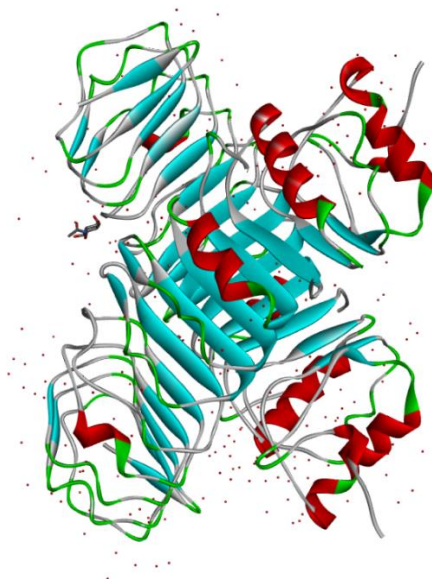
Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan rumusan masalah dalam penelitian ini yaitu “Apakah Reseptor TLR-2 (Kode PDB 2Z80) dapat berikatan dengan peptida FLAFVVFL, FVLAAYRI, FVVFLVTL, VLLFLAFVV dan YVYSRVKNL?”. Kemudian, tujuan dari penelitian ini yaitu meliputi:

1. Mengidentifikasi sisi aktif protein TLR-2 dengan ligand alaminya
2. Memilih peptida yang memiliki afinitas terbaik dari pemodelan 3D
3. Menganalisis interaksi antara TLR-2 dengan peptida yang memiliki nilai afinitas terbaik.

B. Metodologi Penelitian

Preparasi dan Identifikasi Sisi Aktif Protein TLR-2

Makromolekul Protein TLR-2 yang digunakan adalah protein reseptor imun Toll-like Receptor-2 (TLR-2) yang diperoleh dari web Protein Data Bank (<https://www.rcsb.org/structure/2Z80>) dengan kode PDB 2Z80 yang memiliki resolusi 1,80 Å (gambar 1).

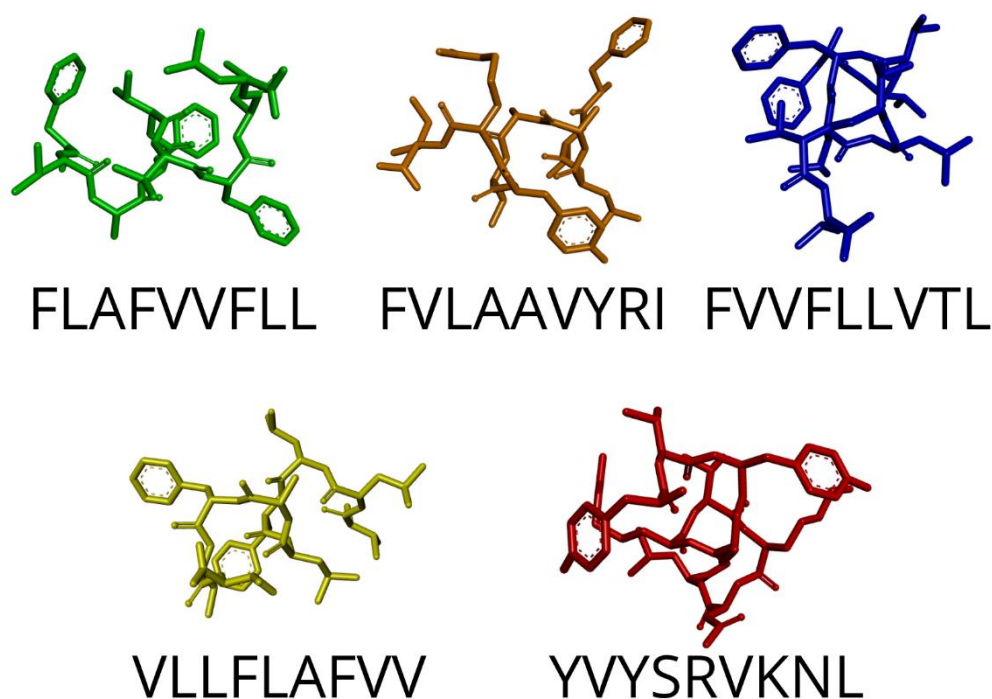


Gambar 1. Struktur Protein Reseptor TLR-2

Struktur protein TLR-2 ini yang telah didownload kemudian dipreparasi menggunakan aplikasi Biovia Discovery Studio Visualizer v19.1.0.18287. preparasi protein dengan cara menghilangkan molekul air dan dan semua ligan selain ligan alaminya. Kemudian dilihat *ligand binding site atom* dan *non-bond interactions*. Dihasilkan nilai reseptor binding site residue yang perlu dicantumkan nanti pada saat docking di HPEPDOCK (Fakih, 2020). Makromolekul protein TLR-2 ini dipreparasi untuk mengidentifikasi sisi aktif yang berikatan dengan ligan alaminya yaitu NAG801.

Pemodelan Molekul Peptida Bioaktif

Molekul peptida yang digunakan yaitu FLAFVVFL, FVLAAYRI, FVVLLVTL, VLLFLAFV dan YVYSRVK (Medha et al., 2021). Kemudian dilakukan pemodelan terhadap kelima molekul peptida tersebut menggunakan software PEP-FOLD (<https://bioserv.rpbs.univ-paris-diderot.fr/services/PEP-FOLD3/>) (Gambar 2). PEP-FOLD merupakan perangkat lunak pemodelan sequencing peptida bioaktif menjadi konformasi struktur 3D.



Gambar 2. Pemodelan 3D Sekuensing Peptida

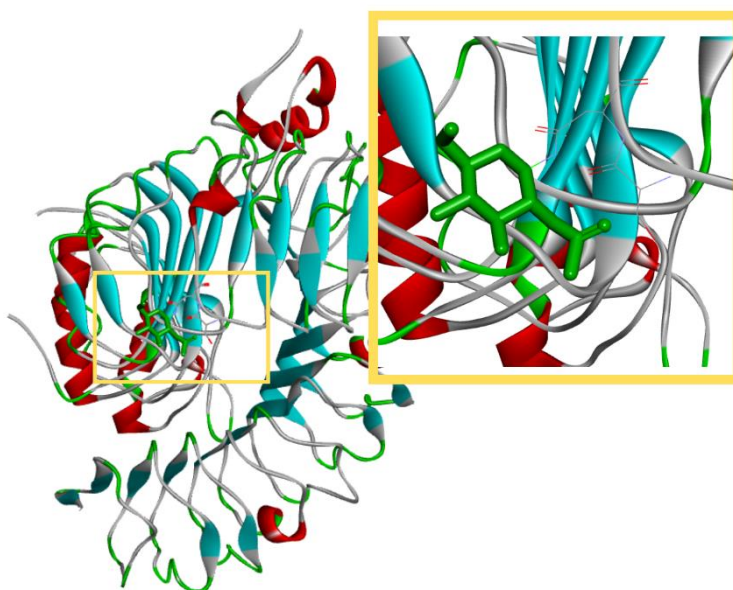
Penambatan dan Analisis Molekuler Berbasis Protein-Peptida

Metode penambatan molekuler protein peptida secara *in-silico* ini menggunakan software HPEPDock (<http://huanglab.phys.hust.edu.cn/hpepdock/>) untuk mengidentifikasi afinitas dan interaksi molekuler antara makromolekul protein reseptor TLR-2 dengan kelima peptida yang digunakan. Receptor binding site residue yang dibatasi yaitu “113:A, 801:A”. Nilai tersebut didapatkan saat preparasi di BIOVIA Discovery Studio Visualizer 2019 agar dapat merepresentasikan bentuk molekul, sisi aktif reseptor protein, pemilihan dan penilaiannya. Dilakukan pengamatan residu asam amino yang berperan dalam interaksi molekuler pada sisi aktif makromolekul protein TLR-2 menggunakan software BIOVIA Discovery Studio Visualizer 2019 (Fakih, 2020).

C. Hasil Penelitian dan Pembahasan

Pengujian penambatan molekuler protein-peptida ini untuk memprediksi potensi peptida sebagai pengembangan vaksin COVID-19 agar dapat memprediksi afinitas dan aktivitasnya secara *in-silico*. Preparasi protein TLR-2 dilakukan agar dapat memastikan target

molekul peptida tepat pada sisi aktif reseptornya sehingga membentuk interaksi yang stabil. Ligan alami (NAG) ini membentuk kompleks dengan TLR-2 sebagai pembanding untuk mengamati interaksi dan afinitas tersebut.



Gambar 3. Ikatan antara protein TLR-2 dengan NAG

Dilakukan identifikasi bagian sisi aktif makromolekul protein TLR-2 dengan ligand alami NAG sesuai dengan (gambar 3) di aplikasi BIOVIA Discovery Studio Visualizer agar terlihat interaksi molekuler yang terjadi yaitu hanya 1 ikatan hidrogen antara SER113 dengan NAG801 pada *non-bond*. Sehingga dapat diprediksi residu asam amino tersebut yang berperan sebagai penyusun sisi aktif dari makromolekul protein TLR-2.

Kemudian dilakukan pemodelan 3D kelima peptida menggunakan software PEP-FOLD yang menghasilkan konformasi terbaik berdasarkan sOPEP (*Optimized Potential for Efficient Structure Prediction*) yang menjelaskan struktur molekul peptida telah mendekati keadaan aslinya dan stabil terhadap makromolekul protein TLR-2. Berdasarkan sOPEP diprediksi peptida yang mampu berikatan dengan reseptor protein TLR-2 pada area sisi aktif Ligand alami (NAG) tertera pada table 1 dibawah:

Tabel 1. Energi sOPEP molekul peptida pemodelan 3D

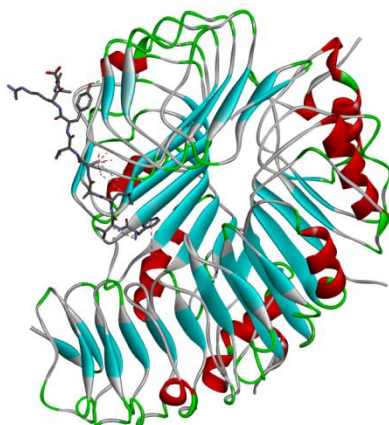
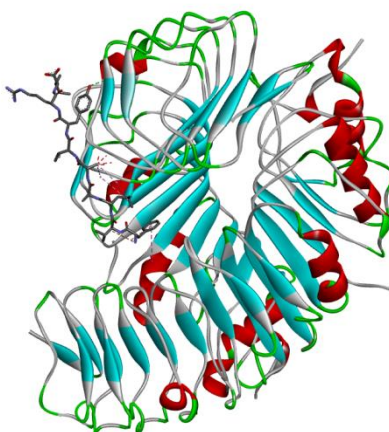
Sekuensing Peptida	Energi sOPEP
FLAFVVFL	-19.8687
FVLAAYRI	-16.0876
FVVLLVTL	-19.4941
VLLFLAFVV	-20.8596
YVYSRVKNL	-11.6655

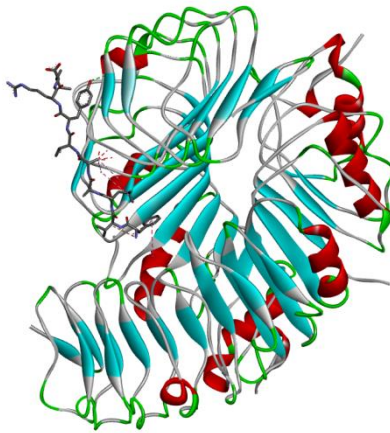
Penambatan molekul protein-peptida dilakukan dengan software HPEPDock untuk mengamati afinitas terbaik diantara kelima peptida yang diuji. Berikut hasil penambatan molekuler berbasis protein-peptida sesuai dengan tabel 2 dibawah:

Tabel 2. Energi bebas ikatan molekul uji

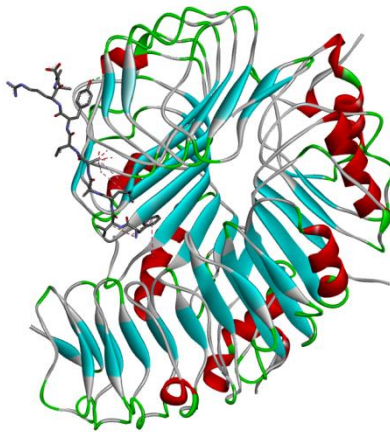
Molekul Uji	Energi Bebas Ikatan (kJ/mol)
Ligand Alami (NAG)	-24.747
FLAFVVFL	-155.194
FVLAADVRI	-145.355
FVVFLVTL	-136.547
VLLFLAFVV	-139.294
YVYSRVKNL	-152.894

Berdasarkan tabel 2 yang tertera dapat dilihat molekul peptida FLAFVVFL memiliki afinitas terbaik dibandingkan dengan ligan alami (NAG) maupun molekul peptida yang lain nilai energi bebas sebesar -155.194 kJ/mol. Kemudian berdasarkan gambar 4 dapat diprediksikan tempat terikatnya peptida FLAFVVFL dengan ligan alami (NAG) berada ditempat yang dekat atau bahkan sama terhadap reseptor TLR-2.

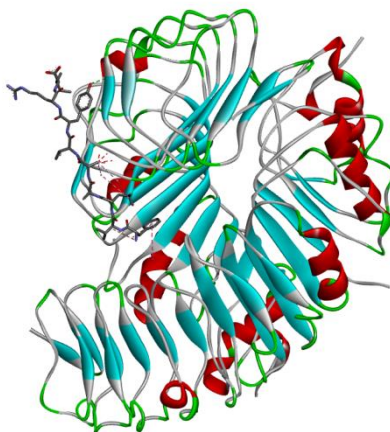
**Gambar 4.** Ikatan antara protein TLR-2 dengan FLAFVVFL**Gambar 5.** Ikatan antara protein TLR-2 dengan FVLAADVRI



Gambar 6. Ikatan antara protein TLR-2 dengan FVVFLLVTL



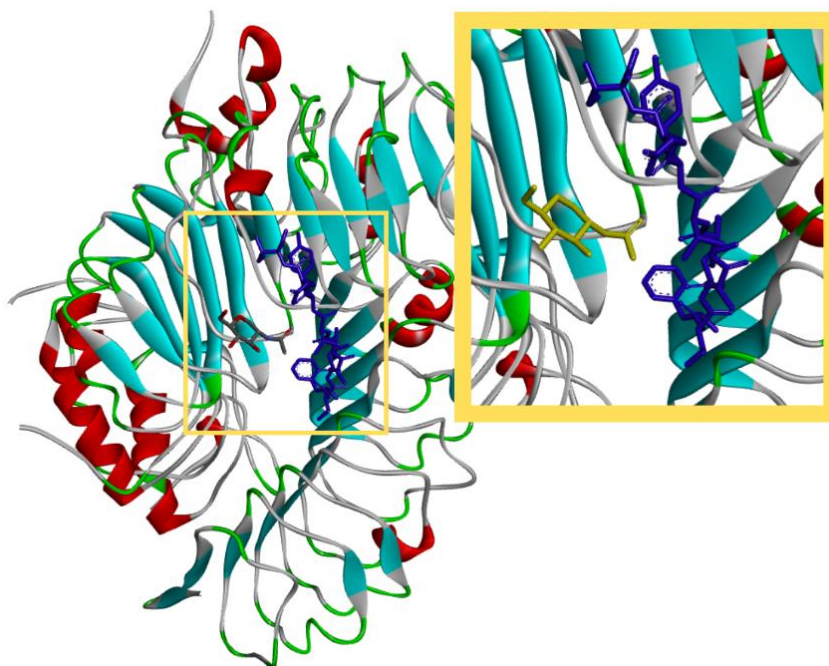
Gambar 7. Ikatan antara protein TLR-2 dengan VLLFLAFVV



Gambar 8. Ikatan antara protein TLR-2 dengan YVYSRVKNL

Kemudian dianalisis interaksi yang terbentuk antara reseptor protein TLR-2 dengan peptida FLAFVVFL (Gambar 4) yang membentuk 1 ikatan elektrostatik (PHE1-ASP160), 1 ikatan hidrogen (TYR7-ILE91) dan 6 ikatan hidrofobik (TYR109-PHE1, PRO135-LEU3, ALA5-PRO135, TYR111-LEU3, TYR111-ALA5 dan PHE1-MET159). Interaksi yang terbentuk antara reseptor protein TLR-2 dengan peptida FVLAAYRI (Gambar 5) yang membentuk 1 ikatan elektrostatik (PHE1-ASP160), 1 ikatan hidrogen (TYR7-ILE91) dan 6

ikatan hidrofobik (TYR109-PHE1, PRO135-LEU3, ALA5-PRO135, TYR111-LEU3, TYR111-ALA5 dan PHE1-MET159). Interaksi yang terbentuk antara reseptor protein TLR-2 dengan peptida FVVFLVTL (Gambar 6) yang membentuk 2 ikatan hidrogen (THR161-PHE4, VAL2-TYR111) dan 4 ikatan hidrofobik (VAL7-TYR111, TYR109-PHE1, PRO135-VAL7 dan PHE4-PRO135). Interaksi yang terbentuk antara reseptor protein TLR-2 dengan peptida VLLFLAFVV (Gambar 7) yang hanya membentuk 3 ikatan hidrofobik (ASN89-PHE7, ASN114-LEU3 dan ASN89-PHE7). Interaksi yang terbentuk antara reseptor protein TLR-2 dengan peptida YVYSRVKLN (Gambar 8) yang membentuk 2 ikatan hidrogen (TYR1-ASP160 dan ASN114-VAL6) dan 3 ikatan hidrofobik (TYR111-TYR3, ARG5-LYS137 dan TYR1-PRO135). Dilihat dari kelima interaksi protein-peptida diatas yang paling banyak memiliki ikatan dan terdapat ikatan elektrostatik terbanyak yaitu peptida FLAFVVFL dan FVLAAYRI.



Gambar 9. Perbandingan posisi lokasi pengikatan ligand alami(NAG) (warna kuning) dengan TLR-2 dan peptida FLAFVVFL(warna biru) dengan TLR-2

Jika dilihat dari perbandingan diatas (Gambar 9) terlihat tempat lokasi antara ligan alami dengan peptida FLAFVVFL hampir berdekatan. Selain itu diperkuat juga dengan nilai afinitas energi bebas ikatan yang terbaik dibandingkan dengan ligan alaminya dan peptida lain yang diuji dengan nilai -155.194 kJ/mol (Tabel 2). Sehingga dapat disimpulkan peptida FLAFVVFL diprediksi dapat berpotensi sebagai kandidat vaksin SARS-COV-2 berbasis peptida serta dapat memberikan sistem kekebalan tubuh terhadap infeksi SARS-COV-2.

D. Kesimpulan

Berdasarkan pembahasan yang telah diuraikan diatas, peneliti menyimpulkan yang meliputi:

1. Terdapat interaksi molekuler antara reseptor TLR-2 (2Z80) dengan ligan alaminya (NAG) yaitu 1 ikatan hydrogen antara SER113 dengan NAG801 pada *non-bond*.
2. Peptida terbaik yang dipilih yaitu peptida FLAFVVFL dengan nilai energi bebas ikatan sebesar -155,194kJ/mol.
3. Interaksi yang terbentuk antara reseptor TLR-2 (2Z80) dengan FLAFVVFL yaitu 1 ikatan hidrogen (TYR7-ILE91), 1 ikatan elektrostatik (PHE1-ASP160) dan 6 ikatan hidrofobik (TYR109-PHE1, PRO135-LEU3, ALA5-PRO135, TYR111-LEU3, TYR111-ALA5 dan PHE1-MET159).

Acknowledge

Saya ucapkan terima kasih banyak kepada seluruh pihak yang telah membantu penulis menyelesaikan penelitian ini baik sebelum penelitian, ketika penelitian serta setelah penelitian berlangsung.

Daftar Pustaka

- [1] Fakih Taufik M., Dewi Mentari L. *Identifikasi Peptida Bioaktif dari Protein Kedelai sebagai Inhibitor Enzim α -glukosidase untuk Kandidat Antidiabetes*. Bandung : Bandung Islamic University; 2020.
- [2] Medha, Bhatt P., Priyanka, Sharma M., Sharma S. *Prediction and identification of T cell epitopes of COVID-19 with balanced cytokine response for the development of peptida based vaccines*. Delhi: University of Delhi; 2021.
- [3] Singh J., Malik D., Raina A. *Immuno-informatics approach for B-cell and T-cell epitope based peptide vaccine design against novel COVID-19 virus*. Chandigarh: Post Graduate Institute of Medical Education and Research; 2021.
- [4] Nurjanah, Eka, Kurniaty, Nety. (2021). *Sintesis Tetrapeptida Linear Phe-Leu-Ala-Pro (FLAP) sebagai Kandidat Antioksidan dengan Metode Solid Phase Peptide Synthesis (SPPS)*. Jurnal Riset Farmasi. 1(2). 89-96.