

## Prediksi Epitop OMP 36 kDa *Brucella abortus* Isolat Lokal terhadap Respon Imun Seluler

Wiwiek Tyasningsih<sup>1\*</sup>, Fedik A. Rantam<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga

\*E-mail koresponden: witya\_kh@yahoo.com

**Key Words:** epitop, OMP 36 kDa, *Brucella abortus*

### PENDAHULUAN

Brucellosis pada hewan disebut Bang's Disease atau Penyakit Keluron Menular disebabkan oleh bakteri yang tergolong genus *Brucella*, bersifat fakultatif intraselular sehingga pengobatan pada hewan yang terserang Brucellosis tidak efektif (Quinn *et al.*, 2002). Brucellosis bersifat zoonosis dan pada sapi disebabkan oleh *Brucella abortus*. Brucellosis merupakan salah satu penyakit penting pada dunia peternakan, karena Brucellosis dapat mengakibatkan kerugian ekonomi yang besar berupa abortus (keguguran) pada hewan yang sedang bunting (*gravid*), penurunan produksi susu, bahkan dapat mengakibatkan gangguan reproduksi baik yang bersifat temporer maupun permanen (Noor, 2006). Menurut Hidayat (2010) Brucellosis menyebabkan kerugian ekonomi sebesar Rp. 385 miliar per tahun karena adanya keguguran, kematian pedet, sterilitas, infertilitas dan penurunan produksi susu.

Kejadian Brucellosis di Indonesia cenderung semakin meningkat baik dari segi jumlah (tingkat prevalensi) maupun dalam penyebarannya (distribusi). Hal ini terjadi karena adanya perpindahan ternak dari satu daerah ke daerah lainnya, sehingga pada akhirnya dapat menjadi ancaman yang merugikan bagi perkembangan dibidang peternakan khususnya sapi perah.

Penggunaan vaksin *Brucella abortus* S19 selama ini belum mencapai hasil yang optimal dalam upaya penanggulangan kasus Brucellosis pada sapi perah (Noor, 2006), diduga tingkat proteksi vaksin yang digunakan masih jauh dari harapan yaitu hanya sekitar 65 - 70%. Hal tersebut berdasarkan dari hasil evaluasi di lapangan, menunjukkan bahwa masih banyak ditemukan adanya kasus Brucellosis yang sangat tinggi pada peternakan sapi perah di Indonesia.

OMP merupakan antigen potensial yang secara langsung dapat menginduksi respon imun humoral sehingga lebih cepat dapat memacu terbentuknya antibodi (Forestier *et al.* 2005). OMP *Brucella abortus* yang terdiri dari kompleks asam amino merupakan peptida yang dapat bersifat

sebagai epitop atau *antigenic determinant*, sehingga dapat dikembangkan sebagai kandidat vaksin untuk pemberantasan penyakit Brucellosis (Macedo *et al.*, 2011).

Cloeckaert *et al.*,(2002) dan Salehi *et al.*, (2003) melaporkan bahwa gen yang menyandi OMP 36 sampai 38 kDa adalah *Omp2*. OMP pada bakteri Gram negatif bersifat imunogenik karena mampu menginduksi respon imun sehingga dapat digunakan sebagai komponen pengembangan vaksin subunit (Shomshekar *et al.*, 2014). Penggunaan bakteri *Brucella abortus* yang berasal dari isolat lokal baik untuk seed vaksin maupun bahan diagnostik saat ini sedang dikembangkan karena selain untuk mengurangi ketergantungan impor juga sama dengan penyebab penyakit di lapangan. OMP 36 kDa *Brucella abortus* isolat lokal mempunyai sifat sebagai bahan yang imunogenik dan protektif seperti yang dilaporkan oleh Handijatno dan Tyasningsih (2014) bahwa OMP *Brucella abortus* isolat lokal yang mempunyai reaktivitas tinggi adalah OMP dengan berat molekul 36 kDa. Berdasarkan latar belakang di atas maka perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui prediksi epitop yang merupakan faktor virulensi pada OMP 36 kDa *Brucella abortus* isolat lokal.

### MATERI DAN METODE

Isolat bakteri adalah *B. abortus* isolat local diperoleh dari Balai Besar Veteriner Maros Sulawesi Selatan.

Tahapan penelitian meliputi analisis gen *Omp2 B. abortus* Isolat Lokal, sequencing hasil PCR, analisis epitope dan prediksi ikatan terhadap sel T yang bertanggung jawab pada respon imun seluler. Analisis gen *Omp2 Brucella abortus* Isolat Lokal dengan teknik PCR menggunakan primer JPF 5' GCG CTC AGG CTG CCG ACG CAA 3' dan JPR 5' CAT TGC GGT CGG TAC CGG AG 3' ,diawali dengan ekstraksi DNA, amplifikasi DNA pada thermocycler dengan denaturasi awal selama 45 detik pada suhu 95°C diikuti dengan denaturasi selama 30 detik pada suhu 95°C, annealing selama 60 detik pada suhu 66°C, ekstension selama 60 detik pada suhu 72°C, sebanyak 35 siklus dan di akhiri dengan ekstension akhir selama 7 menit pada suhu 72°C.

Selanjutnya produk PCR dimasukkan ke dalam es dan disimpan pada suhu -20°C sebelum dilakukan proses elektroforesis untuk mengetahui panjang amplicon gen target yaitu 162 bp.

Sekuensing gen *Omp2* dilakukan dengan mesin *ABI PRISM 3130 XI Capillary Sequencer* untuk mengetahui urutan nukleotida yang terbentuk. Hasil sekuen kemudian di-loading dalam mesin *sequencer* dan hasil dibaca melalui monitor dalam bentuk grafik berupa elektroforegram (Grunstein and Hugness, 1975).

**Analisis software hasil sekuensing menggunakan Bioedit dan BLAST (Basic Local Alignment Search Tool):** analisis hasil *Bioedit* yaitu program *Sequence Aignment Editor* yang bertujuan untuk menganalisa bioinformatika terhadap sekuens DNA, RNA maupun protein. Salah satu tahapannya yaitu tata cara melakukan sequence alignment untuk hasil pembacaan sekuens suatu fragmen DNA yang dibaca secara dua arah (*forward-reverse*).

Hasil sekuensing yang diperoleh berupa urutan basa nukleotida selanjutnya dilakukan tranlate ke asam amino dan dianalisis untuk mengetahui prediksi *determinant antigenic* atau epitop isolat lokal dengan program *Kolastar and Tongaonkar Antigenicity Prediction*. Setelah diketahui prediksi epitopnya, selanjutnya dilakukan prediksi ikatan masing-masing epitop dengan sel T yang berperan pada respon imun selular.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil sequensing gen *Omp2 Brucella abortus* isolat lokal diperoleh urutan basa sebagai berikut:

```

10   20   30   40   50   60
...|...| ...|...| ...|...| ...|...| ...|...|
GGCTGCCACC CAAACTTGAT ATGTCCCGCG
TTTGCACGC TTACGGCGCT GGCTACTTCT

70   80   90   100  110  120
...|...| ...|...| ...|...| ...|...| ...|...|
ACATTCCGGG CACCGAAACC TGCCTGCGCG
TCCATGGTTA CGTCCGTTAC GACGTAAGG

130  140  150  160
...|...| ...|...| ...|...| ..
GCGGCGATGA CGTTTACTCC GGTACCGACC
GCAATGATTT TT

```

Prediksi epitop hasil sequencing gen OMP 36 kDa pada *B. abortus* isolat lokal.

Hasil analisis sequensing gen *Omp2* produk PCR yang mengkode OMP 36 kDa *B. abortus* isolate lokal menggunakan sepasang primer JPF dan JPR dihasilkan urutan asam amino sebagai berikut:

XLPPKLDMSRVCDAYGAGYFYIPGTETCLRHHGYVR  
YDVKGGDDVYSGTDRNDX dengan prediksi epitop  
**MSRVCDAYGAGYFYIP** dan **TETCLRHHGYVR**.

Hasil prediksi epitop OMP 36 kDa *Brucella abortus* isolat lokal dengan uji in silico adalah MSRVCDAYGAGYFYIP yang terletak pada asam amino urutan ke 8 sampai 23 dan TETCLRHHGYVR pada asam amino urutan 25 sampai 38.

Prediksi epitop dianalisis dengan *Immune Epitop Data Base* (IEDB) untuk mengetahui ikatan antara epitop dengan sel T (MHC I dan MHC II).

Hasilnya menunjukkan asam amino yang menyusun epitop OMP 36 kDa *Brucella abortus* isolat lokal mampu berikatan dengan baik pada sel T molekul MHC I pada peptida urutan asam amino ETCLRHHGY dan YGAGYFYI, sedangkan prediksi ikatan epitop dengan sel T molekul MHC II pada peptida yang tersusun asam amino MSRVCDAYGAGYFYI.

(E = Glutamic Acid , T = Threonine , C = Cystein, L = Leucine, R = Arginine, V = Valine, H = Histidine, G = Glicine, Y = Tyrosine, A = Alanine, F = Phenylalanine, I = Isoleucine)

Kemampuan epitop dalam mengikat sel limfosit T melalui ikatan dengan MHC I dan MHC II akan menentukan respon imun seluler yang dihasilkan oleh suatu antigen.

## SIMPULAN

Epitop pada OMP 36 kDa *Brucella abortus* isolat lokal bersifat imunogenik karena mampu berikatan dengan sel T MHC I dan MHC II serta sel B (*Kolastar and Tongaonkar Antigenicity Prediction*).

## UCAPAN TERIMA KASIH

Bagoes Poermadjaja, drh., PhD. mantan Kepala Balai Besar Veteriner Maros Sulawesi Selatan.

## DAFTAR PUSTAKA

- [1] Cloeckert, A., N. Vizcaino, J.Y. Paquet, R.A. Bowden, and P.H. Elzer. 2002. Major outer membrane proteins of *Brucella* spp. : past, present and future. *Veterinary Microbiology J.* 90:229-247
- [2] Grunstein, M. And Hogness, D. 1975. Colony Hybridization a Method for The Isolation of clonal DNA that contain a specific gene. *Proceeding of the National Academy of Science. USA, 72 : 3961*
- [3] Handijatno, D., dan W. Tyasningsih. 2014. Potensi Outer Membrane Protein *Brucella abortus* Isolat Lokal Indonesia Untuk Pengembangan vaksin Brucellosis di Indonesia. LPPM Universitas Airlangga.
- [4] Hidayat, R. 2010. IPB Kembangkan Vaksin Alternatif Brucellosis. *Republika Online.* www.republika.co.id. 23 Desember 2010.
- [5] Macedo G.C., D.M. Magnani, N.B. Carvalho and O.B. Romero. 2011. Central Role of MyD88-Dependent Dendritic Cell Maturation and

- Proinflammatory Cytokine Production to Control *Brucella abortus* Infection. *Journal Immunology*. 180 : 1080-1087.
- [6] Noor, S.M. 2006. Brucellosis: Penyakit Zoonosis yang belum banyak dikenal di Indonesia. *Wartazoa* 16 (1) : 31 - 39.
- [7] Salhi, I., R.A. Boigegrain, J. Machold, C. Weise, A. Cloeckart, B. Rout, 2003. Characterization of new members of the group 3 outer membrane protein family of *Brucella* spp. *Infect. Immun. J.* 71 (8): 4326-4332.
- [8] Shomshekar, S.H., B.M. Veeregowda, V.V.S. Suryanarayana, G. Leena, K. Dhama and S. Chakraborty. 2014. Outer Membrane Protein (OMP) Profiles of *Pasteurella multocida* Isolates Associated with Haemorrhagic Septicaemia by SDS-PAGE and Western Blot Analysis. *Asian J. of animal and Veterinary Advances* 9 (8) : 513-518