

LAPORAN PENELITIAN TAHUN I - 2012

Insentif Riset Sinas

**PENGEMBANGAN VAKSIN CHIMERA DAN CLON SUBUNIT VIRUS DENGUE
ISOLATE INDONESIA**

Bidang Prioritas Iptek:

Teknologi Kesehatan dan Obat

KP-2012-446

INSTITUTE OF TROPICAL DISEASE-UNAIR

Kampus C Unair Jl. Mulyorejo, Surabaya 60115/031
5992445/08123593245/031-5992445/fed-ar@unair.ac.id

November 2012

RINGKASAN

Pengembangan Vaksin Chimera dan Clon Subunit Virus Dengue Isolate Indonesia

Penyakit DBD yang disebabkan oleh empat serotipe yaitu dengue virus (DENV-1, DENV-2, DENV-3 dan DENV-4). ini tidak hanya tersebar di Negara tropis tetapi Negara subtropis juga menjadi masalah baru. dan setiap tahun angka morbiditas meningkat dan menyebabkan kematian 200 ribuan orang pertahun (Gubler, 2002, Rothman and Ennis, 1999; Halstead 1988). Hal ini disebabkan antibodi yang ditimbulkan oleh infeksi virus dengue tidak menimbulkan kekebalan silang (*cross immunity* atau *seroprotectype*) sehingga sulit dieliminasi secara alamiah (*natural protection*). karena itu diperlukan pendekatan teknologi yang sesuai dengan ekspektasi dan presisi yang tinggi dalam mengembangkan vaksin. sehingga protektif untuk semua serotipe (Sun *et al.*, 2006). Vaksin terhadap dengue sampai saat ini masih tarap pengembangan dan optimasi untuk mencari model vaksin yang dapat mengenali dan menetralsir semua serotipe, sehingga mempunyai nilai ekonomis yang tinggi dan dapat menekan angka morbiditas dan kematian.

Tujuan penelitian ini adalah mengembangkan model vaksin chimera virus dengue isolate Indonesia yang mempunyai sifat protektifitas tinggi dan bersifat tetravalen. Sehingga dapat mengenali semua serotipe virus dengue dan dapat menatralisir terhadap infeksi virus dengue.

Pendekatan yang digunakan dalam pengembangan vaksin dalam penelitian ini adalah melalui beberapa tahapan yaitu mengidentifikasi genotipe virus dengue (DENV-1) yang dapat digunakan sebagai kandidat seed vaksin. Hal ini dilakukan paralel dengan analisis stabilitas virus DENV-3 sebagai backbone model chimera vaksin dengan cara memodifikasi genetik secara invitro dengan sel vero. Melalui analisis stabilitas genotipe dan filogenetik dan virulensi ditemukan isolate dengue (DENV-1,2,3,4) sebagai isolate yang terpilih untuk dieksplor fragment gen penyandi PrM, E, NS1 untuk DENV-1,2,4, sedang DENV-3 whole genome karena sebagai backbone chimera vaksin. Virus terpilih selanjutnya dilakukan kloning fragment penyandi PrM, E, NS1 dengan menggunakan template *E coli* DH5 dan GS5. Setelah dilakukan purifikasi diresiksi dan selanjutnya diligasi dan diinsersikan pada DENV-3 menggunakan fusion plasmid. Pada tahapan ini sangat krusial yang sangat memungkinkan fragment gen tidak dapat terinsersi semuanya sehingga replikasi tidak dapat berjalan dengan baik. Setelah diinokulasikan pada sel vero chimera virus dilakukan analisis ekspresi protein intra dan ekstraseluler untuk menganalisis hasil replikasi, kemudian dilakukan sequencing dan dianalisis kesamaan genetik untuk menentukan stabilitas chimera virus DENV-3.

Berdasarkan analisis data hasil penelitian ini menetapkan isolate yang baik berdasarkan karakteristik biologik, virulensi, stabilitas genetik, dan filogenetik dengan sekuensing whole gen dan fragment gen penyandi PrM, E dan NS1 menunjukkan nilai kesamaan yang dekat dengan isolate Indonesia yang berarti tingkat homologinya tinggi sehingga sangat baik untuk dikembangkan sebagai seed vaksin. Begitu juga sifat virulensinya

menunjukkan adanya proses adaptasi yang baik terbukti nilai PFU/ml adalah 7,5 PFU/ml. Selain itu juga berhasil diklon dan dilakukan ligasi dan diinsersi ke modified virus dengue (DENV-3) sebagai backbone model vaksin chimera. Hasilnya menunjukkan chimera DENV-3 mampu tumbuh dan bertahan untuk bereplikasi dalam sel vero sehingga dapat terjadi metabolisme dalam sel. Pertumbuhan virus chimera pada hari pertama menunjukkan sangat rendah, tetapi dapat berkembang sesuai dengan waktu walaupun sangat relatif dan fluktuatif. Pada hari kedua ekspresi protein secara ekstraseluler lebih rendah dibandingkan dengan intraseluler, karena virus chimera DENV-3 masih banyak terekspresi intraseluler. Hal ini terbukti nilai analisis Elisa dan PFU dibawah $2 \log_{10}$ dan secara umum titernya sekitar $5 \log_{10}$. Pada analisis stabilitas genetik virus chimera DENV-3 menunjukkan relatif stabil seperti juga pada hasil analisis kesamaan genetik dan filogenetik, walaupun masih ditemukan pada bagian region tertentu nukleotida tidak dapat terekspresi.

Hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa DENV-1 yang dapat digunakan sebagai kandidat seed vaksin adalah genotipe 1, DENV-2 genotipe cosmopolitan, DENV-3 genotipe 2 dan DENV-4 genotipe 1. DENV_3 karena mempunyai sifat stabilitas yang tinggi maka dapat dikembangkan sebagai backbone virus chimera DENV-3. Setelah dilakukan kloning ligasi dan insersi pada virus backbone dapat tumbuh di sel vero dan mempunyai sifat stabilitas sedikit fluktuatif.