

Literature Review: Genetic Engineering in Tuberculosis Vaccine Production

Dhea Rizma Demula Putri^{*}, Baiq Putri Maharani Bine Inggit¹, Lalu Mas'ud Rahmatullah¹, Virga Fathiya Dalila¹, Weny Syafitri Utari¹, Anggit Listyachyani¹

¹Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Mataram, Nusa Tenggara Barat, Indonesia;

Article History

Received : November 03th, 2024

Revised : November 25th, 2024

Accepted : December 20th, 2024

*Corresponding Author: **Dhea Rizma Demula Putri**,
Program Studi Farmasi, Fakultas
Kedokteran dan Ilmu Kesehatan,
Universitas Mataram, Nusa
Tenggara Barat, Indonesia;
Email: dhea.rizma14@gmail.com

Abstract: The tuberculosis (TB) vaccine contains a weakened form of the TB-causing agent. Currently, much research has focused on developing an effective and safe TB vaccine through genetic engineering. This review aims to analyze genetic engineering techniques in the production of tuberculosis (TB) vaccines. The analysis was conducted by gathering research data from various studies published between 2014-2024, available in PubMed, ScienceDirect, and Google Scholar, using relevant keywords. Based on the literature review, several innovative methods in genetic engineering were identified, such as Polymerase Chain Reaction (PCR), Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA), in silico methods, multi-epitope vaccine development, and protein fusion-based vaccine development. Although there are challenges related to vaccine stability and clinical safety testing, innovations in genetic engineering technology hold the promise of significant progress in developing a more effective and durable TB vaccine. Among these methods, protein fusion-based and multi-epitope vaccines show the most promising potential in terms of effectiveness and long-lasting immune response.

Keywords: Biotechnology, genetic engineering, tuberculosis, vaccine.

Pendahuluan

Tuberkulosis (TB) adalah salah satu penyakit infeksi utama yang menyebabkan morbiditas dan mortalitas global. Hingga saat ini, vaksin Bacillus Calmette-Guérin (BCG) merupakan satu-satunya vaksin TB yang tersedia secara luas. Namun, efektivitas vaksin BCG terbatas dan menurun seiring waktu, biasanya hanya memberikan perlindungan terhadap TB berat pada anak-anak selama 10–20 tahun pertama setelah vaksinasi (Broset *et al.*, 2021; Ghandadi, 2022). Oleh karena itu, pengembangan vaksin baru yang lebih efektif dan tahan lama menjadi kebutuhan mendesak dalam mengatasi pandemi TB.

Pendekatan rekayasa genetika telah menjadi sorotan utama dalam penelitian pengembangan vaksin TB baru. Teknologi ini memungkinkan manipulasi organisme untuk

menghasilkan antigen spesifik atau kombinasi epitop yang mampu merangsang respons imun yang lebih kuat. Beberapa metode utama yang digunakan meliputi Polymerase Chain Reaction (PCR), Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA), analisis in silico, dan pengembangan vaksin berbasis multi-epitop maupun protein fusi (Sutarno, 2016; Rizqoh, 2021).

Meskipun banyak penelitian berfokus pada pengembangan vaksin TB menggunakan metode-metode ini, terdapat sejumlah perbedaan signifikan dengan topik penelitian saat ini. Penelitian terbaru (dalam lima tahun terakhir) menunjukkan berbagai inovasi, seperti penggunaan pendekatan proteomik untuk menemukan antigen baru (Sunita *et al.*, 2022; Tbeishat, 2022), penerapan metode komputasi berbasis deep learning untuk prediksi subunit vaksin (Mubarak *et al.*, 2024), dan desain vaksin multi-epitop yang lebih kompleks namun

menjanjikan (Pillay *et al.*, 2024; Jiang *et al.*, 2023). Kebaruan penelitian ini terletak pada kombinasi metode rekayasa genetika untuk menghasilkan kandidat vaksin yang tidak hanya imunogenik tetapi juga memiliki profil keamanan dan efikasi yang lebih baik dibandingkan vaksin TB sebelumnya.

Artikel ini bertujuan untuk membandingkan dan mengevaluasi berbagai teknik rekayasa genetika yang digunakan dalam pengembangan vaksin TB, dengan fokus pada inovasi teknologi terbaru. Manfaat dari penelitian ini adalah memberikan kontribusi dalam pengembangan ilmu pengetahuan di bidang bioteknologi, khususnya dalam desain dan produksi vaksin TB. Selain itu, dapat memberikan wawasan yang lebih luas tentang pendekatan yang paling efektif dalam menciptakan vaksin TB yang aman, stabil, dan mampu memberikan perlindungan jangka panjang.

Bahan dan Metode

Metode review ini berfokus pada analisis mendalam mengenai rekayasa genetika dalam produksi vaksin tuberkulosis (TB). Proses dimulai dengan mengumpulkan data dari berbagai sumber penelitian terbitan tahun 2014-2024 yang tersedia dalam PubMed, Scencedirect dan Google Scholar dengan memasukkan kata kunci yang sesuai. Kata kunci yang digunakan yaitu “*Genetic Engineering*”, “*Vaccine Tuberculosis*” dan “*Biotechnology*”, Artikel yang dipilih harus mencakup penelitian tentang teknik rekayasa genetika yang diterapkan dalam pengembangan vaksin TB.

Hasil dan Pembahasan

Hasil

Hasil kajian literatur, berbagai metode rekayasa genetika telah dikembangkan untuk meningkatkan efektivitas vaksin tuberkulosis (TB). Metode-metode ini mencakup pendekatan inovatif seperti analisis *in silico*, penggunaan protein fusi, hingga desain vaksin multi-epitop, yang semuanya bertujuan untuk menghasilkan respons imun yang lebih kuat dan tahan lama terhadap *Mycobacterium tuberculosis*. Penelitian-penelitian tersebut memberikan pandangan yang lebih mendalam tentang

bagaimana teknologi modern dapat diterapkan untuk mengatasi keterbatasan vaksin konvensional.

Tabel. 1 Hasil Penelusuran Informasi mengenai metode rekayasa genetik vaksin TB

Metode	Hasil	Author
Menggunakan metode rekayasa desain vaksin mikobakteri baru dengan menggunakan sistem seleksi plasmid bebas antibiotik	sistem seleksi plasmid bebas antibiotik memungkinkan platform vaksin mikobakteri baru untuk mengembangkan vaksin berbasis BCG	Saubi <i>et al.</i> , 2014
Menggunakan metode penginduksin nutrisi untuk mengganggu kekebalan inang dengan hidrolase trehalose.	Pemberian TdmhMtb (Enzim) dapat berperan penting dalam pertumbuhan intraseluler Mtb dengan cara yang secara responsif teradap imunitas bawaan inang.	Yang <i>et al.</i> , 2014
Pengembangan <i>Polyhydroxyalkanoate</i> (PHA) yang diproduksi dalam <i>Escherichia coli</i> dan <i>Lactococcus lactis</i> menguji potensinya sebagai vaksin TB pada model tikus	Berhasil memproduksi PHA dalam mikrobakteri dan efektif menginduksi respons imun seluler terhadap antigen mikobakteri sebagai vaksin melawan tuberkulosis.	Lee <i>et al.</i> , 2017
Teknik konstruksi gen fusi dengan penggabungan antigen TB10.4 dan Ag85B menjadi kasset gen hingga menghasilkan protein fusi rekombinan H4. Protein fusi H4 diformulasikan	Vaksin H4:IC31 dapat digunakan sebagai pencegahan paparan MTb dengan penurunan laju konversi QFT sebesar 30,5%	Names <i>et al.</i> , 2018

dengan adjuvant IC31 untuk meningkatkan respons imun.				memprediksi epitop		
Teknik rekombinan DNA dari antigen Mtb32A dan Mtb39A menjadi protein fusi tunggal (M72). Kemudian M72 diekstrak dan digabungkan dengan adjuvant AS01E.	vaksin M72/AS01E aman dan mampu mencegah TB paru selama 3 tahun dengan efikasi vaksin terhadap kasus TB paru bakteriologis (objektif utama) adalah 49,7% (CI90% 12,1-71,2)	Tait <i>et al.</i> , 2019		Menggunakan desain uji Prevention of infection (POI) dan prevention of disease (POD)	Pendekatan POI memberikan peluang untuk mempercepat kandidat vaksin baru	Garcia-Basteiro <i>et al.</i> , 2022
Menggunakan metode vaksin komputasi ekstensif untuk menyelidiki 200 genom M. tuberculosis	Diidentifikasi dua protein vaksin potensial yang meemnuhi semua sifat vaksin yang beerlaku. Kedua protein vaksin adalah diacylglycerol acyltransferase dan protein mirip ESAT-6	Albutti, 2021		Menggunakan proteomic untuk identifikasi, lokalisasi, modifikasi, dan fungsi protein seluler, serta untuk menemukan antigen baru yang potensial	Antigen baru dalam Mycobacterium tuberculosis ditemukan sebagai kandidat vaksin multi-epitop yang potensial.	Sunita <i>et al.</i> , 2022
Penggunaan teknik ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) untuk mengukur kadar antibodi spesifik IgG terhadap antigen yang diberikan. Hal ini membantu mengevaluasi respon imun terhadap vaksin yang dikembangkan	Tingkat spesifik terhadap antigen serum diukur IgG terhadap berhasil	Broset <i>et al.</i> , 2021		Menggunakan proteomic untuk identifikasi, lokalisasi, modifikasi, dan fungsi protein seluler, serta untuk menemukan antigen baru yang potensial	Diperoleh konstruksi yang dapat dikembangkan sebagai vaksin tuberculosis, kemudian dapat digunakan untuk penelitian pada laboratorium untuk pengembangannya	Tbeisha, 2022
Menggunakan metode <i>in silico</i> NetMHC 4 dan server Immune Epitope Database and Analysis Resource (IEDB) untuk	Diperoleh lima protein antigenik baru untuk merancang vaksin TBC	Ghandad i., 2022		Pengembangan vaksin dengan desain multiepitop. Dalam hal ini, Menggabungkan beberapa epitope dalam satu urutan protein dengan menggunakan metode rekayasa genetik berupa PCR	Munculnya vaksin multi-epitop yang potensial	Andong ma <i>et al.</i> , 2023
				Analisis <i>in silico</i> dan <i>in vitro</i> terhadap kandidat vaksin multi-epitop (PP13138R) dengan menilai sifat fisikokimia dan karakteristik	Berhasil memproduksi PHA dalam mikrobakteri dan efektif menginduksi respons imun seluler terhadap antigen mikobakteri	Jiang <i>et al.</i> , 2023

imunologis.	sebagai vaksin melawan tuberkulosis.	
Menggunakan metode DCNN-BiLSTM hasil: metode yang digunakan mampu melambai metode yang lainnya, selain itu juga dapat memprediksi subunit MtbMEV terhadap enam protein Mtb H37Rv; Rv1198, Rv2519, Rv3621c, Rv3344c, Rv0050, Rv3810 diperoleh dari database mycobrowser	Metode yang digunakan mampu melambai metode yang lainnya, selain itu juga dapat memprediksi subunit MtbMEV terhadap enam protein Mtb H37Rv; Rv1198, Rv2519, Rv3621c, Rv3344c, Rv0050, Rv3810 diperoleh dari database mycobrowser	Mubarak <i>et al.</i> , 2024
Analisis <i>in silico</i> terhadap kandidat vaksin protein adhesin multi-epitop <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Diperoleh kandidat vaksin baru yang potensial imunogenik, tahan panas, hidrofilik dan memiliki struktur berkualitas baik.	Pillay <i>et al.</i> , 2024

Berdasarkan tabel 1, penelitian oleh Names *et al.*, (2018) menunjukkan bahwa vaksin berbasis protein fusi H4:IC31 memiliki kemampuan untuk menurunkan laju konversi QuantiFERON-TB hingga 30,5%. Sebaliknya, Tait *et al.* (2019) mengungkapkan bahwa vaksin M72/AS01E, yang juga menggunakan teknik protein fusi, memiliki efikasi hingga 54% dalam mencegah TB paru selama tiga tahun. Meskipun H4:IC31 memerlukan rasio adjuvan yang lebih tinggi, efikasinya masih lebih rendah dibandingkan M72/AS01E. Hal ini menunjukkan bahwa komposisi antigen dan adjuvan dalam protein fusi berperan penting dalam menentukan keberhasilan vaksin.

Dalam penelitian Jiang *et al.*, (2023) dan Pillay *et al.*, (2024) yang mengembangkan vaksin multi-epitop dengan menggunakan

metode *in silico* untuk memprediksi epitop potensial. Hasil penelitian menunjukkan bahwa vaksin multi-epitop mampu menginduksi respons imun yang kuat, mencakup respons humoral dan seluler. Namun, tantangan utama dari pendekatan ini adalah risiko autoimunitas, terutama jika epitop yang dipilih memiliki kemiripan dengan protein tubuh. Pendekatan ini berbeda dengan metode protein fusi, yang lebih fokus pada antigen spesifik.

Metode *in silico* yang digunakan oleh Ghandadi (2022) dan Mubarak *et al.* (2024) menunjukkan efisiensi tinggi dalam mengidentifikasi kandidat vaksin dengan biaya lebih rendah dibandingkan uji laboratorium. Namun, hasil ini masih membutuhkan validasi lebih lanjut melalui studi klinis. Pendekatan ini menawarkan keunggulan dalam menghemat waktu dan sumber daya, tetapi keterbatasannya dalam memprediksi interaksi kompleks sistem imun manusia menjadi tantangan yang perlu diatasi.

Dibandingkan dengan vaksin BCG konvensional yang efektivitasnya menurun setelah beberapa dekade (Broset *et al.*, 2021), vaksin berbasis rekayasa genetika seperti M72/AS01E dan H4:IC31 menunjukkan potensi proteksi yang lebih lama dan spesifik. Namun, vaksin rekayasa genetika menghadapi tantangan berupa biaya produksi yang lebih tinggi dan kebutuhan pengujian klinis yang lebih kompleks. Beberapa pendekatan baru, seperti DCNN-BiLSTM (Mubarak *et al.*, 2024), menunjukkan hasil yang menjanjikan dalam prediksi subunit vaksin. Namun, metode ini menghadapi kritik karena ketergantungannya pada data latih yang terbatas dan model komputasi yang kompleks. Hal ini menimbulkan diskusi mengenai reliabilitas teknologi kecerdasan buatan dalam penelitian biomedis.

Pembahasan

Desain Vaksin Mikobakteri dengan Sistem Plasmid Bebas Antibiotik

Metode rekayasa genetik vaksin TB yang dikembangkan oleh Saubi *et al.*, (2014) merupakan salah satu upaya dalam mengembangkan vaksin yang lebih aman dan efektif terhadap infeksi mikobakteri. Metode ini memperkenalkan vaksin berbasis *Bacillus Calmette-Guerin* (BCG) yang menggunakan

sistem plasmid bebas antibiotik. Pendekatan ini bertujuan untuk mengatasi salah satu masalah signifikan dalam pengembangan vaksin, yaitu resistensi antibiotik dengan cara menghilangkan ketergantungan pada seleksi antibiotik, sehingga dapat mengurangi risiko penyebaran gen resistensi. Sistem plasmid bebas antibiotik memberikan keuntungan dalam hal keamanan, karena mencegah potensi pencemaran genetik yang dapat terjadi jika gen resistensi disebarkan ke mikroorganisme lain. Namun, tantangan utama dari pendekatan ini adalah memastikan stabilitas vaksin dalam tubuh inang jangka panjang. Tanpa adanya seleksi antibiotik, ada kemungkinan bahwa sel-sel yang mengandung plasmid dapat kehilangan plasmid tersebut seiring waktu, yang dapat mengurangi efektivitas vaksin.

Induksi Kekebalan dengan Enzim TdmhMtb

Pengembangan vaksin TB yang dilakukan oleh Yang *et al.*, (2014) memodifikasi kekebalan inang dengan menginduksi enzim TdmhMtb, hal ini mendukung pertumbuhan intraseluler Mtb dengan meningkatkan masuknya nutrisi dan sensitivitas stres. Enzim TdmhMtb berperan dalam menghidrolisis trehalose dimycolate, sebuah glikolipid mikobakterial, yang penting dalam menyeimbangkan pertumbuhan intraseluler *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb). TdmhMtb diinduksi dalam kondisi kekurangan nutrisi dan merombak membran Mtb untuk meningkatkan influx nutrisi. Namun, hal ini juga membuat Mtb lebih sensitif terhadap stres yang dihadapi dalam tubuh inang. TdmhMtb dan analognya, seperti Trehalose-6,6-dibehenate (TDB) dapat mengaktifkan makrofag dan sel dendritik melalui jalur sinyal Syk-Card9-Bcl10-Malt1 yang berbeda dari respons terhadap ligan reseptor Toll-like (TLR). Aktivasi ini penting untuk memicu respons kekebalan adaptif yang protektif terhadap Mtb. (Yang *et al.*, 2014).

Penggunaan Polyhydroxyalkanoate (PHA) dalam Vaksin TB

Penelitian yang dilakukan oleh Lee *et al.*, (2017) melakukan pengembangan vaksin TB dengan penggunaan *Polyhydroxyalkanoate* (PHA). Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa PHA dapat menginduksi respons imun yang signifikan pada model tikus, hal tersebut menandakan bahwa PHA dapat berfungsi

sebagai pembawa antigen yang efektif, sehingga meningkatkan efektivitas vaksin (Lee *et al.*, 2017). PHA dapat direkayasa untuk menampilkan fungsi protein yang aktif secara biologi, termasuk antigen penyakit spesifik, yang relevan untuk aplikasi sebagai vaksin atau alat diagnostik (Parlene *et al.*, 2017). penelitian lain juga menunjukkan bahwa PHA bersifat biodegradable dan biokompatibel, membuatnya sangat cocok untuk berbagai aplikasi medis, seperti bahan pembawa untuk pelepasan obat antikanker atau antibiotik *in vivo* yang terkendali (Koller, 2018). Pencampuran PHA dengan bahan baku alami atau polimer biodegradable lainnya dapat mengurangi biaya produksi dan meningkatkan karakteristik seperti titik leleh dan ketangguhan retak, sehingga cocok untuk aplikasi biomedis (Li *et al.*, 2016).

Protein Fusi H4:IC31 untuk Meningkatkan Respons Imun

Penelitian yang dilakukan oleh Names *et al.* (2018) mengeksplorasi penggunaan protein fusi yang berperan dalam penggabungan antigen TB10.4 dan Ag85B dengan adjuvan IC31 dalam satu formulasi, sehingga dapat meningkatkan respons imun terhadap infeksi TB. hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa kombinasi protein fusi H4:IC31 terbukti efektif dalam menurunkan laju konversi QuantiFERON-TB (QFT) hingga 30,5%. penelitian lain terkait penggunaan protein fusi H4:IC31 dalam vaksin TB menunjukkan profil keamanan yang dapat diterima dan bersifat imunogenik, memicu respons sel T CD4+ multifungsi pada individu sehat yang sebelumnya telah divaksinasi BCG (Norrby *et al.*, 2017). H4:IC31 menunjukkan profil keamanan yang dapat diterima dan bersifat imunogenik pada orang dewasa Afrika Selatan, dengan dosis 15 µg tampaknya menginduksi respons imun yang paling optimal (Geldenhuis *et al.*, 2015). Akan tetapi, untuk mencapai respons imun yang optimal, H4:IC31 memerlukan rasio adjuvan IC31 yang tinggi terhadap protein H4. Hal ini dapat meningkatkan kompleksitas dan biaya produksi vaksin (Deshmukh *et al.*, 2018).

Efikasi Vaksin M72/AS01E dalam Mencegah TB Paru

Salah satu vaksin yang menarik perhatian adalah M72/AS01E, yang dikembangkan

berdasarkan antigen Mtb32A dan Mtb39A. Penelitian yang dilakukan oleh Tait *et al.* (2019) melakukan inovasi vaksin TB tersebut dengan melakukan rekayasa rekombinan pada dua antigen tersebut untuk membentuk protein fusi tunggal yang dikenal sebagai M72. Protein fusi ini memiliki keuntungan dalam meningkatkan stabilitas dan imunogenisitas, yang merupakan faktor penting dalam efektivitas vaksin. Dengan memfasilitasi pengenalan beberapa epitope dari kedua antigen, M72 dapat merangsang berbagai jalur respons imun, termasuk aktivasi sel T dan sel B, sehingga dapat meningkatkan imun tubuh. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Tait *et al.* (2019) menunjukkan bahwa Vaksin M72/AS01E memberikan perlindungan 54,0% terhadap penyakit tuberkulosis paru aktif dan mempertahankan perlindungan selama setidaknya 3 tahun tanpa efek samping serius atau kematian. Efikasi ini berarti bahwa hampir setengah dari populasi yang divaksinasi masih berisiko mengembangkan TB paru aktif. Ini menunjukkan bahwa vaksin ini mungkin perlu dikombinasikan dengan strategi pencegahan lain untuk mencapai kontrol TB yang lebih efektif (Meeren *et al.*, 2018).

Pendekatan Komputasi untuk Identifikasi Protein Vaksin

Penggunaan metode vaksin komputasi ekstensif untuk menyelidiki genom *Mycobacterium tuberculosis* merupakan pendekatan yang inovatif dalam pengembangan vaksin. Dengan menganalisis genom *M. tuberculosis* menggunakan komputerisasi, para peneliti dapat mengidentifikasi variasi genetik yang berpotensi mempengaruhi respons imun dan efektivitas vaksin. Selain itu, salah satu kelebihan penggunaan pendekatan komputasi dalam pengembangan vaksin TB dapat mengurangi biaya dan sumber daya yang diperlukan untuk penelitian awal (Rawal *et al.*, 2021). Penelitian yang dilakukan oleh Albutti *et al.* (2021) menunjukkan bahwa terdapat dua protein telah diidentifikasi memiliki potensi sebagai vaksin yang memenuhi semua sifat vaksin yang berlaku. Kedua protein vaksin adalah diacylglycerol acyltransferase dan protein mirip ESAT-6. Namun demikian, meskipun pendekatan dengan komputasi dapat mengidentifikasi kandidat vaksin potensial, validasi lebih lanjut melalui uji klinis dan studi in

vivo tetap diperlukan untuk memastikan efektivitas dan keamanan vaksin (Nayak *et al.*, 2023).

Evaluasi Imunogenisitas dengan Teknik ELISA

ELISA memiliki kemampuan untuk mendeteksi antibodi spesifik terhadap antigen tertentu dengan sensitivitas dan spesifisitas yang tinggi. Broset *et al.*, (2021) menggunakan ELISA untuk mengukur kadar IgG spesifik terhadap antigen, menilai respons imun terhadap vaksin. Meskipun ELISA sangat baik untuk mengukur respons antibodi, metode ini kurang efektif dalam mendeteksi respons seluler seperti produksi sitokin oleh sel T. ELISA dapat menghasilkan hasil positif palsu atau negatif palsu, terutama jika ada reaktivitas silang dengan antigen lain atau jika titer antibodi berada di bawah batas deteksi (Xiao *et al.*, 2019).

Desain Uji Klinis POI dan POD untuk Evaluasi Efektivitas Vaksin

Metode POI memberikan kesempatan untuk mempercepat pengembangan vaksin baru dengan memungkinkan kandidat vaksin untuk maju ke uji klinis yang lebih besar dan mahal lebih cepat. POI dapat memberikan indikasi awal tentang apakah vaksin dapat mencegah infeksi *Mycobacterium tuberculosis*, yang merupakan langkah penting dalam pengembangan vaksin TB. Akan tetapi, metode POI dibatasi oleh alat yang saat ini tidak sempurna untuk mengukur titik akhir infeksi *Mycobacterium tuberculosis*, yang dapat mempengaruhi keakuratan hasil uji klinis. POD dapat memberikan definisi yang lebih jelas tentang jenis dan jumlah tes mikrobiologis yang diperlukan untuk mendefinisikan penyakit TB, yang dapat meningkatkan keakuratan hasil uji klinis. Di sisi lain, POD memungkinkan pengukuran langsung efektivitas vaksin dalam mencegah penyakit TB dengan definisi yang lebih jelas, tetapi memerlukan biaya yang lebih tinggi dan desain uji klinis yang lebih kompleks (Garcia-Baestro *et al.*, 2022).

Identifikasi Epitop Baru dengan Teknik In Silico

Pendekatan in silico dapat memprediksi epitop imunogenik potensial untuk tuberkulosis, yang berpotensi membantu dalam desain vaksin

subunit melawan penyakit tersebut. Ghandadi (2022) menggunakan NetMHC 4 dan IEDB untuk memprediksi epitop baru sebagai kandidat vaksin. Metode ini memungkinkan analisis komprehensif dari berbagai aspek seperti antigenisitas, alergenitas, dan stabilitas epitop. Hal ini membantu dalam merancang vaksin yang tidak hanya efektif tetapi juga aman (Sundar *et al.*, 2021). Akan tetapi, Sistem imun manusia sangat kompleks dan tidak semua aspek dapat dimodelkan dengan sempurna menggunakan metode *in silico*. Oleh sebab itu, interaksi antara epitop dan sistem imun dalam tubuh manusia mungkin berbeda dengan hasil prediksi.

Pendekatan Proteomik untuk Identifikasi Antigen Potensial

Pendekatan proteomik memungkinkan identifikasi protein antigenik baru yang memiliki potensi besar sebagai antigen protektif atau diagnostik. Sunita *et al.*, (2022) menggunakan metode proteomik untuk menemukan antigen baru pada *Mycobacterium tuberculosis*. Akan tetapi, pendekatan proteomik memerlukan teknologi canggih seperti LC-MS/MS dan analisis bioinformatika yang kompleks sehingga dapat meningkatkan biaya dan membutuhkan waktu yang lebih lama.

Pengembangan Vaksin Multi-epitop

Penelitian Tbeishat (2022) menggunakan rekayasa genetik untuk merancang vaksin multi-epitop. Dengan menggabungkan beberapa epitope dalam satu urutan protein, sehingga vaksin berpotensi dalam memberikan perlindungan yang lebih kuat. Vaksin multi-epitop dapat menginduksi respons imun humoral dan seluler yang kuat, termasuk aktivasi sel B, sel T helper, dan sel T sitotoksik, yang penting untuk perlindungan terhadap TB (Sharma *et al.*, 2021). Pillay *et al.* (2024) melakukan analisis *in silico* untuk menemukan kandidat vaksin protein adhesin multi-epitop yang memiliki karakteristik imunogenik, tahan panas, dan hidrofilik. Metode ini memungkinkan identifikasi epitop yang dapat merangsang respons imun yang kuat. Seperti, penelitian menunjukkan bahwa vaksin multi-epitop yang telah dirancang dapat menginduksi respons imun yang signifikan dengan peningkatan berbagai imunoglobulin dalam host.

Penelitian lain yang dilakukan oleh Jiang *et al.*, (2023) menganalisis kandidat vaksin

multi-epitop PP13138R, menguji sifat fisikokimia dan karakteristik imunologisnya & Andongma *et al.* (2023) mengembangkan vaksin multi-epitop dengan menggabungkan beberapa epitope menggunakan metode PCR. Vaksin PP13138R menunjukkan antigenisitas dan imunogenisitas yang sangat baik. Ini berarti vaksin ini mampu merangsang respons imun yang kuat dan spesifik terhadap *Mycobacterium tuberculosis*. Terdapat beberapa resiko dalam metode multi-epitop ini, salah satunya yaitu vaksin multi-epitop dapat menginduksi respons imun yang tidak diinginkan atau autoimunitas jika epitop yang dipilih memiliki kesamaan dengan protein host (Jiang *et al.*, 2023).

Penerapan DCNN-BiLSTM dalam Prediksi Subunit Vaksin

Metode DCNN-BiLSTM (Deep Convolutional Neural Network - Bidirectional Long Short-Term Memory) memiliki kemampuan yang tinggi dalam memprediksi epitop dan antigen potensial. Dalam penelitian Mubarak *et al.* (2024), digunakan deep learning untuk memprediksi subunit MtbMEV yang relevan, mengidentifikasi enam protein Mtb yang potensial sebagai vaksin. Hal ini didukung oleh kemampuan DCNN dalam menangkap fitur spasial dari data sekuens dan kemampuan BiLSTM dalam menangkap dependensi jangka panjang dalam data sekuens. Namun, metode ini juga memiliki beberapa kekurangan, seperti keterbatasan data latih dan kompleksitas model yang tinggi. Oleh karena itu, penting untuk mengatasi kekurangan ini melalui pengumpulan data yang lebih komprehensif dan peningkatan efisiensi komputasi untuk memaksimalkan potensi metode ini dalam pengembangan vaksin TB (Bibi *et al.*, 2021).

Kesimpulan

Berdasarkan studi literatur yang dilakukan, dapat disimpulkan bahwa terdapat beberapa metode inovasi dalam rekayasa genetika. Meskipun terdapat tantangan dalam stabilitas vaksin dan pengujian keamanan klinis, inovasi dalam teknologi rekayasa genetik menjanjikan kemajuan penting untuk mengembangkan vaksin TB yang lebih efektif dan tahan lama. Dari beberapa metode tersebut, metode vaksin berbasis protein fusi dan vaksin multi-epitope

menunjukkan potensi paling menjanjikan dalam hal efektivitas dan respons imun yang tahan lama.

Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih disampaikan kepada semua pihak yang turut berkontribusi dalam penulisan dan penerbitan artikel ini.

Referensi

- Albutti, A. (2021). An integrated computational framework to design a multi-epitopes vaccine against *Mycobacterium tuberculosis*. *Scientific Reports*, 11(1), 1–18. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-01283-6>
- Andongma, B. T., Huang, Y., Chen, F., Tang, Q., Yang, M., Chou, S. H., Li, X., & He, J. (2023). In silico design of a promiscuous chimeric multi-epitope vaccine against *Mycobacterium tuberculosis*. *Computational and structural biotechnology journal*, 21, 991–1004. <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2023.01.019>
- Bibi, S., Ullah, I., Zhu, B., Adnan, M., Liaqat, R., Kong, W., & Niu, S. (2021). In silico analysis of epitope-based vaccine candidate against tuberculosis using reverse vaccinology. *Scientific Reports*, 11. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-80899-6>.
- Broset, E., Calvet Seral, J., Arnal, C., Uranga, S., Kanno, A. I., Leite, L. C. C., Martín, C., & Gonzalo-Asensio, J. (2021). Engineering a new vaccine platform for heterologous antigen delivery in live-attenuated *Mycobacterium tuberculosis*. *Computational and structural biotechnology journal*, 19, 4273–4283. <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2021.07.035>
- Deshmukh, S., Magcalas, F., Kalbfleisch, K., Carpick, B., & Kirkitadze, M. (2018). Tuberculosis vaccine candidate: Characterization of H4-IC31 formulation and H4 antigen conformation. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 157, 235–243. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2018.05.048>
- García-Basteiro, A., White, R., Tait, D., Schmidt, A., Rangaka, M., Quaife, M., Nemes, E., Mogg, R., Hill, P., Harris, R., Hanekom, W., Frick, M., Fiore-Gartland, A., Evans, T., Dagnev, A., Churchyard, G., Cobelens, F., Behr, M., & Hatherill, M. (2022). End-point definition and trial design to advance tuberculosis vaccine development. *European Respiratory Review*, 31. <https://doi.org/10.1183/16000617.0044-2022>.
- Geldenhuys, H., Mearns, H., Miles, D., Tameris, M., Hokey, D., Shi, Z., Bennett, S., Andersen, P., Kromann, I., Hoff, S., Hanekom, W., Mahomed, H., Hatherill, M., Scriba, T., Rooyen, M., McClain, J., Ryall, R., & Bruyn, G. (2015). The tuberculosis vaccine H4:IC31 is safe and induces a persistent polyfunctional CD4 T cell response in South African adults: A randomized controlled trial. *Vaccine*, 33(30), 3592–9. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2015.05.036>.
- Ghandadi, M. (2022). An Immunoinformatic Strategy to Develop New *Mycobacterium tuberculosis* Multi-epitope Vaccine. *International Journal of Peptide Research and Therapeutics*, 28(3), 1–14. <https://doi.org/10.1007/s10989-022-10406-0>
- Jiang, F., Han, Y., Liu, Y., Xue, Y., Cheng, P., Xiao, L., & Gong, W. (2023). A comprehensive approach to developing a multi-epitope vaccine against *Mycobacterium tuberculosis*: from in silico design to in vitro immunization evaluation. *Frontiers in Immunology*, 14. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1280299>.
- Koller, M. (2018). Biodegradable and Biocompatible Polyhydroxy-alkanoates (PHA): Auspicious Microbial Macromolecules for Pharmaceutical and Therapeutic Applications. *Molecules : A Journal of Synthetic Chemistry and Natural Product Chemistry*, 23. <https://doi.org/10.3390/molecules23020362>.
- Lee, J., Parlane, N., Rehm, B., Buddle, B., & Heiser, A. (2017). Engineering *Mycobacteria* for the Production of Self-Assembling Biopolyesters Displaying

- Mycobacterial Antigens for Use as a Tuberculosis Vaccine. *Applied and Environmental Microbiology*, 83. <https://doi.org/10.1128/AEM.02289-16>.
- Li, Z., Yang, J., & Loh, X. (2016). Polyhydroxyalkanoates: opening doors for a sustainable future. *Npg Asia Materials*, 8. <https://doi.org/10.1038/AM.2016.48>.
- Meeren, O., Hatherill, M., Nduba, V., Wilkinson, R., Muyoyeta, M., Brakel, E., Ayles, H., Henostroza, G., Thienemann, F., Scriba, T., Diacon, A., Blatner, G., Demoitié, M., Tameris, M., Malahleha, M., Innes, J., Hellström, E., Martinson, N., Singh, T., Akité, E., Azam, A., Bollaerts, A., Ginsberg, A., Evans, T., Gillard, P., & Tait, D. (2018). Phase 2b placebo-controlled trial of M72/AS01E candidate vaccine to prevent active tuberculosis in adults. *The New England Journal of Medicine*, 379, 1621 - 1634. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1803484>.
- Mubarak, A. S., Ameen, Z. S., Hassan, A. S., & Ozsahin, D. U. (2024). Enhancing tuberculosis vaccine development: a deconvolution neural network approach for multi-epitope prediction. *Scientific Reports*, 14(1), 1–21. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-59291-1>
- Nayak, S., Sethi, G., & Ramadas, K. (2023). Design of multi-epitope based vaccine against Mycobacterium tuberculosis: a subtractive proteomics and reverse vaccinology based immunoinformatics approach. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 41, 14116 - 14134. <https://doi.org/10.1080/07391102.2023.2178511>.
- Norrby, M., Vesikari, T., Lindqvist, L., Maeurer, M., Ahmed, R., Mahdavifar, S., Bennett, S., McClain, J., Shepherd, B., Li, D., Hokey, D., Kromann, I., Hoff, S., Andersen, P., Visser, A., Joosten, S., Ottenhoff, T., Andersson, J., & Brighenti, S. (2017). Safety and immunogenicity of the novel H4:IC31 tuberculosis vaccine candidate in BCG-vaccinated adults: Two phase I dose escalation trials. *Vaccine*, 35 12, 1652-1661. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2017.01.055>.
- Pillay, K., Chiliza, T. E., Senzani, S., Pillay, B., & Pillay, M. (2024). In silico design of Mycobacterium tuberculosis multi-epitope adhesin protein vaccines. *Heliyon*, 10(18).
- Rawal, K., Sinha, R., Abbasi, B., Chaudhary, A., Nath, S., Kumari, P., Preeti, P., Saraf, D., Singh, S., Mishra, K., Gupta, P., Mishra, A., Sharma, T., Gupta, S., Singh, P., Sood, S., Subramani, P., Dubey, A., Strych, U., Hotez, P., & Bottazzi, M. (2021). Identification of vaccine targets in pathogens and design of a vaccine using computational approaches. *Scientific Reports*, 11. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-96863-x>.
- Saubí, N., Gea-Mallorquí, E., Ferrer, P., Hurtado, C., Sánchez-Úbeda, S., Eto, Y., Gatell, J., Hanke, T., & Joseph, J. (2014). Engineering new mycobacterial vaccine design for HIV–TB pediatric vaccine vectored by lysine auxotroph of BCG. *Molecular Therapy. Methods & Clinical Development*, 1. <https://doi.org/10.1038/mtm.2014.17>.
- Sharma, R., Rajput, V., Jamal, S., Grover, A., & Grover, S. (2021). An immunoinformatics approach to design a multi-epitope vaccine against Mycobacterium tuberculosis exploiting secreted exosome proteins. *Scientific Reports*, 11. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-93266-w>.
- Tait, D., Hatherill, M., Meeren, O., Ginsberg, A., Brakel, E., Salaun, B., Scriba, T., Akité, E., Ayles, H., Bollaerts, A., Demoitié, M., Diacon, A., Evans, T., Gillard, P., Hellström, E., Innes, J., Lempicki, M., Malahleha, M., Martinson, N., Vela, D., Muyoyeta, M., Nduba, V., Pascal, T., Tameris, M., Thienemann, F., Wilkinson, R., & Roman, F. (2019). Final Analysis of a Trial of M72/AS01E Vaccine to Prevent Tuberculosis. *The New England journal of medicine*. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1909953>.
- Xiao, T., Liu, H., Li, X., Huang, M., Li, G., Li, N., Yan, Y., Luo, Q., Wang, X., Li, M., & Wan, K. (2019). Immunological Evaluation of a Novel Mycobacterium tuberculosis Antigen Rv0674. *Biomedical*

- and environmental sciences : BES*, 32 6, 427-437.
<https://doi.org/10.3967/bes2019.056>.
- Yang, Y., Kulka, K., Montelaro, R., Reinhart, T., Sissons, J., Aderem, A., & Ojha, A. (2014). A hydrolase of trehalose dimycolate induces nutrient influx and stress sensitivity to balance intracellular growth of *Mycobacterium tuberculosis*. *Cell host & microbe*, 15 2, 153-63.