

ANALISIS GLIKOPROTEIN 160 (GP 160) *Human Immunodeficiency Virus* (HIV) SEBAGAI KANDIDAT VAKSIN SUBUNIT SEL B ACQUIRED IMMUNODEFICIENCY SYNDROME (AIDS)

[Analysis Of Human Immunodeficiency Virus (HIV) Glycoprotein 160 As A Vaccine Candidate For B Cell Subunit Of Acquired Immunodeficiency Syndrome (AIDS)]

Yani Suryani

Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi, UIN Sunan Gunung Djati Bandung
email: yani.suryani@uinsgd.ac.id

ABSTRACT

The current HIV vaccine has not worked well, so it is necessary to search for an HIV vaccine candidate that has optimal activity in increasing the activation of the immune system, so that it can inhibit the development of HIV. This study aims to find a potential peptide subunit to activate B cells. A potential candidate for HIV subunit vaccine is glycoprotein 160. The method used is immunoinformatics by analyzing the interaction of peptides that bind to b cells, and then the quality of the peptides is analyzed for toxicity. The method used is immunoinformatics. The tools in this study consisted of a laptop set, uniprot application, IEDB AR application and ToxinPred application. The ingredients used are glycoprotein 160 sequences. The results of the analysis show that there are 4 potential peptides that can activate B cells and are not toxic to the human body, namely MRVMGIQ (Methionine, Arginine, Valine, Methionine, Glycine, Isoleucine, Glutamine, NMWKNNM (Asparagine, Methionine, Tryptophan, Lysine, Asparagine, Asparagine, Methionine), EIMGDIR (Glutamic Acid, Isoleucine, Methionine, Glycine, Aspartic Acid, Isoleucine, and Arginine) and MWQRVGQ (Methionine, Tryptophan, Glutamine, Arginine, Valine, Glycine and Glutamine).

Key words: AIDS, epitope, glycoprotein, HIV, in silico

ABSTRAK

Vaksin HIV yang ada saat ini belum bekerja dengan baik, sehingga perlu dilakukan pencarian kandidat vaksin HIV yang memiliki aktivitas yang optimal dalam meningkatkan aktivasi sistem imun, sehingga perkembangan HIV bisa dihambat. Penelitian ini bertujuan untuk mencari subunit peptida yang potensial untuk mengaktivasi sel B. Kandidat potensial untuk vaksin subunit HIV adalah glikoprotein 160. Metode yang dilakukan adalah imonoinformatika dengan menganalisis interaksi peptida dengan sel b, selanjutnya menganalisis toksisitas peptida tersebut. Alat pada penelitian ini terdiri dari satu set laptop, aplikasi uniprot, aplikasi IEDB AR dan aplikasi ToxinPred. Adapun bahan yang digunakan adalah sekuen glikoprotein 160. Hasil analisis menunjukkan bahwa ada 4 peptida potensial yang dapat mengaktivasi sel B dan tidak beracun bagi tubuh manusia, yaitu MRVMGIQ (Metionin, Arginin, Valin, Metionin, Glisin, Isoleusin, Glutamin, NMWKNNM (Asparagin, Metionin, Triptopan, Lysin, Asparagin, Asparagin, Metionin), EIMGDIR (Asam Glutamat, Isoleusin, Metionin, Glisin, Asam Aspartat, Isoleusin, dan Arginin) dan MWQRVGQ (Metionin, Triptopan, Glutamin, Arginin, Valin, Glisin dan Glutamin).

Kata kunci: AIDS, epitope, glikoprotein, HIV, in silico

PENDAHULUAN

Human Immunodeficiency Virus (HIV) adalah retrovirus yang menyerang sel darah putih sehingga dapat merusak sistem kekebalan tubuh pada manusia (Srebreneca dan Milanda, 2021). HIV menjadi salah satu isu kesehatan global dikarenakan tingginya penyebaran infeksi (Hardisman, 2009). Upaya terbaik untuk mencegah penyebaran HIV adalah vaksinasi (Deeks, 2006). Namun, pengembangan vaksin ini tidak mudah, karena sifat HIV yang sangat mutagenik dan mudah beradaptasi pada tubuh inangnya atau lingkungan manusia.

Dalam tiga dekade terakhir, terdapat ratusan kandidat vaksin HIV yang telah melewati serangkaian studi klinis. Pengembangan kandidat vaksin memiliki tingkat kesulitan yang tinggi. Hal tersebut didasarkan pada waktu tahapan uji coba yang sangat lama dan besarnya biaya yang dibutuhkan (Pollara *et al.*, 2017). Meskipun demikian beberapa perusahaan telah berhasil membuat vaksin HIV, hanya belum memberikan

efek optimal dalam aktivasi sistem imun (Srebreneca dan Milanda, 2021). Berdasarkan hal itu, perlu dilakukan pencarian kandidat vaksin HIV yang memiliki aktivitas yang optimal dalam meningkatkan aktivasi sistem imun, sehingga perkembangan HIV bisa dihambat.

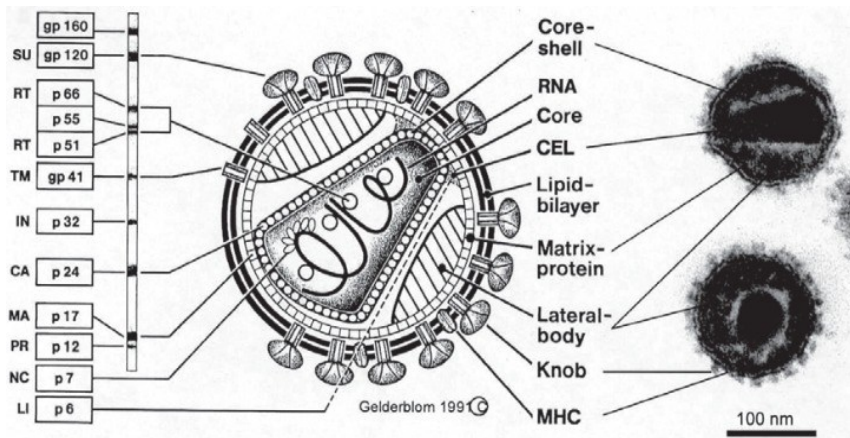
Tujuan vaksinasi adalah meningkatkan aktivasi sel kekebalan tubuh. Salah satu sel kekebalan tubuh yang diaktivasi adalah sel B. Dalam mengaktivasi sel B ada dua cara, yaitu melalui aktivasi sel T *helper* (penolong) dan aktivasi sel B secara langsung. Namun, pada kasus HIV, jalur sel T penolong tidak bisa dilakukan dikarenakan sel tersebut adalah inang langsung dari HIV, sehingga satu satunya jalur yang dapat dioptimalkan adalah sel B. Untuk bisa mengaktivasi sel B, dibutuhkan antigen determinan atau epitop dari patogen. Pemanfaatan antigen determinan untuk vaksinasi tergolong pada jenis vaksin subunit (Ellis *et al.*, 2012). Menurut (Abinaya dan Viswanathan, 2021), vaksin subunit sangat efektif dalam mengaktivasi sistem imun dan membutuhkan biaya yang relatif

mudah dalam proses produksinya. Selain itu, vaksin subunit tidak mengandung patogen utuh, sehingga vaksin subunit sangat aman (Van der weken dkk., 2019). Berdasarkan kelebihan yang dimiliki oleh vaksin subunit, maka vaksin subunit untuk HIV sangat potensial untuk dikembangkan, terutama subunit untuk aktivasi sel B.

In Silico merupakan metode prediksi proses metabolisme berbasis komputasi. Prediksi metabolisme yang melibatkan sistem imun dikenal dengan imunoinformatika. Menurut (Suryani *et al.*, 2019) imunoinformatika merupakan metode efisien dalam mengembangkan vaksin subunit. Hal tersebut telah terbukti. (Li *et al.*, 2015) melaporkan bahwa prediksi sekuen asam amino untuk vaksin *Human Papilloma Virus* (HPV) yang dihasilkan

melalui metode in silico telah terbukti efektif melalui pengujian secara in vitro dan in vivo. Untuk mendapatkan prediksi vaksin subunit melalui imunoinformatika diperlukan informasi bagian utama dari patogen, misalnya protein.

Salah satu protein potensial untuk diprediksi melalui imunoinformatika bagi HIV adalah glikoprotein 160 (GP 160). Menurut (Koga *et al.*, 1994) GP 160 dihasilkan dari Gen GP 160 yang selanjutnya terbagi menjadi 120 dan 41 (Gambar 1). Protein tersebut berfungsi dalam penempelan pada sel inang. Berdasarkan hal ini, maka dilakukan analisis glikoprotein 160 HIV dengan metode imunoinformatika untuk mendapatkan kandidat vaksin subunit sel B untuk AIDS.



Gambar 1. Struktur HIV. (*HIV structure*) (Koga *et al.*, 1994)

BAHAN DAN CARA KERJA

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan terdiri dari perangkat keras dan perangkat lunak. Perangkat keras tersebut berupa laptop merk ACER ASPIRE dengan spesifikasi prosesor Intel® Core™ i3-380M, RAM 2 GB, sistem operasi windows 32-bit, dan Hardisk 500 GB HDD. Sedangkan untuk perangkat lunak berupa aplikasi berbasis web berupa uniprot (www.uniprot.org), IEDB *Analysis Resources* (<http://tools.iedb.org/main/>), dan Toxinpred (https://webs.iitd.edu.in/raghava/toxinpred/multi_submit.php). Sementara untuk bahan yang digunakan adalah sekuen glikoprotein 160 *Human immunodeficiency virus* (HIV). Sekuen glikoprotein diperoleh dari website <https://www.uniprot.org/> dengan kode Q0H5Z4.

Cara Kerja

Sekuen glikoprotein 160 dengan kode Q0H5Z4 diunduh dari website (<https://www.uniprot.org>) dalam format fasta. selanjutnya dilakukan analisis terhadap sekuen glikoprotein 160 menggunakan IEDB *Analysis Resources* dengan cara urutan sekuen glikoprotein 160 diinput ke (<http://tools.iedb.org/bcell/>). Fasta tersebut diunggah ke tautan IEDB). Hal ini bertujuan untuk menganalisis jenis asam amino – asam amino (peptida) yang akan berikatan dengan sel B. Untuk proses analisis digunakan metode *Kolaskar dan Tongaonkar Antigenicity*. Metode ini adalah metode yang direkomendasi dalam menganalisis protein yang akan mengaktifasi sel B (Dewi *et al.*, 2016). Kemudian asam amino - asam amino (peptida) hasil analisis IEDB *Analysis Resources* dianalisis toksisitasnya menggunakan aplikasi Toxinpred

(Gupta dkk., 2015). Proses analisis diawali dengan membuka tautan berikut (https://webs.iitd.edu.in/raghava/toxinpred/multi_submit.php), kemudian peptida hasil IEDB *Analysis Resource* diunggah ke website tersebut. Hal ini dilakukan untuk memastikan bahwa peptida kandidat vaksin tidak bersifat racun untuk tubuh manusia.

HASIL

1. Sekuen asam amino glikoprotein 160 HIV

Berikut ini (Gambar 2) adalah sekuen asam amino glikoprotein 160 sebagai sumber kandidat vaksin hasil unduh dari tautan (<https://www.uniprot.org>).

```
>tr|Q0H5Z4|Q0H5Z4_9HIV1 Envelope glycoprotein gp160 OS=Human
immunodeficiency virus 1 OX=11676 GN=env PE=3 SV=1
MRVMGIQRSYPCWLKWGIIILGMIICNTTDNLWVTVYGGVPVWKAETTLFCASDAKAY
ETEKHNVWATHACVPTDPNPQEIIDLNVIEEFNMWKNMVEQMHTDIIISLWDQSLKPCVK
LTPLCVTLDCSNHKSINNKGVSMGEEVKNCFSNMTTELDRDKKQKVYSLFYKLDVPLDEA
NGNNSSYRLVNCNTSAITQACPKVTFEPIPIHYCAPAGFAILKCKDKEFSGTGPCENVS
TVQCTHGKIPVVTQQLLNGSLAEHEVMIRSENI TNAKNIILVQLNESVEIYCIRPSNNT
RKSVRIGPGQTFYATGEIMGDIRQAHCVSGSKWNKTLQQVADQLRKHFNNTTTIIFDSPS
GGDLEITTHSFNCGGEFFYCNTSGLFNSTWPSSTQELSDPITLSCRKQIINMWQRVGQA
MYAPPIQGEIRCNSSITGIILTRDGGYNSTNETFRPGGDMRDNRSELYKYKVVKIEPL
GVAPTARRRVVEREKRAVTMGAVFLGFLGAAGSTMGAASLTLTVQARLLLSGIVQQSN
LLRAIEAQHLLKLTVWGIKQLQARVLAVERYLRDQQLLGIWGC SGKLICTTNVPWNSSW
SNKSYSEIWDNMTWLQWDKEVSNTDIIYKLEDSQNQQEKNEQDLLALDKWANLWNWFG
ISNWLWYIKIFIMIVGGLIGLRI VFAVLSLVNRVQGYSPLSFQTLIPVPRGPDRPEGTE
EGGGEQDRNRSIRLVSGFLALAWDDLRSCLFSYHRLRDLILIA TRIVELLRHRGWEAIK
YLWNLWYWGRELKISAINLINTIAIVVAGWTD RVIELGQGIGRAILHIPRRIRQGLERS
LL
```

Gambar 2. Sekuen glikoprotein 160 HIV. (*HIV 160 glycoprotein sequences*).

Tabel 1. Hasil analisis IEDB AR terhadap glikoprotein 160 HIV. (*IEDB AR analysis results on glycoprotein 160 HIV*).

No	Posisi (Position)	Residu (Residue)	Nomor Urut Sekuen Asam Amino (Amino Acid Sequence Number)	Peptida	Skor (Score)
1	4	M	1 – 7	MRVMGIQ	0.993
2	96	K	93 – 99	NMWKNNM	0.829
3	320	G	317 – 323	EIMGDIR	0.942
4	416	R	413 – 419	MWQRVGQ	0.983

Tabel 2. Hasil analisis ToxinPred terhadap peptida kandidat vaksin sel B AIDS. (*Results of ToxinPred analysis of AIDS B cell vaccine candidate peptides*).

Peptida	Skor SVM	Hasil Prediksi	Nilai Hidrofobisiti	Nilai Hidropatisiti	Nilai Hidrofilisiti	Muatan	Mol wt
<u>MRVMGIQ</u>	-1.39	Non-Toxin	-0.07	0.59	-0.39	1.00	834.17
<u>NMWKNNM</u>	-0.65	Non-Toxin	-0.30	-1.64	-0.34	1.00	937.20
<u>EIMGDIR</u>	-0.81	Non-Toxin	-0.17	-0.14	0.59	-1.00	833.07
<u>MWQRVGQ</u>	-1.08	Non-Toxin	-0.26	-0.96	-0.40	1.00	904.16

PEMBAHASAN

Imunoinformatika merupakan metode pemodelan sistem imun dengan memanfaatkan sistem komputasi. Ada banyak tahapan dalam prosesnya, juga diperlukan pemahaman yang baik dalam memilih dan mengaplikasikan sistem komputasi tersebut. Sistem imun terbagi menjadi dua, sistem imun alamiah dan sistem imun adaptif. Kedua sistem imun ini memiliki penanganan yang khas apabila akan dibuatkan model komputasinya, terutama sistem imun adaptif. Sistem imun adaptif terbagi dua yaitu sel T dan sel B. Meskipun kedua jenis sel tersebut termasuk dalam satu jenis, tetapi dalam membuat model komputasinya sangat berbeda. Hal ini dikarenakan kedua sel tersebut memiliki sistem kerja yang berbeda dalam tubuh.

Sistem imun adaptif memerlukan inisiasi untuk bisa bekerja. Inisiasi harus berasal dari patogen/benda asing. Patogen yang secara alami masuk ke dalam tubuh, akan mengaktifkan sistem imun dengan memberikan efek samping berupa gejala klinis (penyakit). Hal ini disebut dengan vaksinasi alamiah. Tujuan vaksinasi buatan adalah mengaktifkan sistem imun tanpa memunculkan gejala klinis. Vaksin subunit merupakan jenis vaksin terbaru dengan salah satu kelebihan aman karena tidak memunculkan gejala klinis. Hal ini dikarenakan vaksin subunit terdiri dari bagian kecil dari patogen. Tujuan utama subunit adalah aktivasi sel T dan/ atau sel B.

HIV merupakan virus yang menginfeksi sel T, sehingga jenis vaksin subunit yang dibuat harus menargetkan sel B secara langsung. Hal ini dikarenakan apabila subunit ditargetkan ke sel T, sel T tidak bisa merespon, dikarenakan sel T sudah dimodifikasi oleh HIV. Kandidat sumber subunit yang potensial adalah glikoprotein 160, karena protein ini yang langsung berinteraksi dengan inang. Berikut ini adalah hasil analisis terhadap glikoprotein 160 sebagai sumber kandidat vaksin subunit sel B AIDS.

Pada Gambar 2. terlihat bahwa glikoprotein 160 HIV memiliki 842 residu asam amino. Menurut (Senam, 1999) glikoprotein 160 dikode oleh gen gp pada HIV-1. Protein tersebut terbagi menjadi dua jenis yaitu protein gp120 dan gp41. Gp120 adalah protein yang terletak pada permukaan virus yang berfungsi menginisiasi perlekatan virus ke reseptor sel inang yaitu sel T penolong) dan koreseptornya yaitu CD4 dan Gp41 adalah protein transmembran yang berfungsi untuk menginisiasi fusi membran lipid virus dengan sel inang, setelah gp120 terikat pada reseptor dan koreseptornya.

Terdapat 7 metode yang disediakan perangkat lunak IEDB AR untuk menganalisis protein dalam menghasilkan kandidat vaksin sel B yaitu Bepired Linier Epitope Prediction 2.0, Bepired Linier

Epitope Prediction, Chou dan Fasmen Beta, Emini Surface Accessibility, Karplus dan Schulz Flexibility, Kolaskar dan Tongaonkar Antigenicity, dan Parker Hydrophilicity. Pada penelitian ini digunakan metode Kolaskar dan Tongaonkar Antigenicity. Hal ini didasarkan pada fungsi metode tersebut yaitu untuk memprediksi antigen determinan atau subunit potensial yang akan mengaktifasi sel B (Dewi *et al.*, 2016). Menurut (Kolaskar dan Tongaonkar, 1990) akurasi prediksi mencapai 75%.

Tabel 1. Menunjukkan 4 kandidat vaksin subunit sel B untuk AIDS. Pada tabel tersebut, ditunjukkan secara berurutan, nomor urut kandidat, posisi asam amino imunogenik pada peptida kandidat vaksin, jenis asam amino yang imunogenik, letak sekuen asam amino kandidat vaksin pada glikoprotein 160, peptida kandidat vaksin dan terkait kualitas ikatan pada sel B oleh perangkat lunak IEDB AR. Nilai hasil hitung dimunculkan dalam bentuk skor dengan ketentuan makin kecil skor, makin baik kualitas ikatan dengan sel B (Kolaskar dan Tongaonkar, 1990).

Kandidat peptida vaksin nomor 1 adalah MRVMGIQ (Metionin, Arginin, Valin, Metionin, Glisin, Isoleusin, Glutamin). Asam amino tersebut berada di posisi 1 – 7 pada residu glikoprotein 160 HIV. Asam amino metionin merupakan asam amino imunogenik dari peptida kandidat vaksin dan berada di posisi nomor 4 (empat) pada residu glikoprotein 160 HIV. Nilai peptida tersebut 0,993.

Kandidat nomor 2 adalah NMWKNM (Asparagin, Metionin, Triptopan, Lysin, Asparagin, Asparagin, Metionin). Peptida tersebut berada di posisi 93 – 99 pada glikoprotein 160 HIV. Asam amino Lysin yang berada pada posisi 96 pada glikoprotein 160 HIV merupakan asam amino imunogenik pada kandidat nomor 2. Nilai peptida tersebut adalah 0,829. EIMGDIR (Asam Glutamat, Isoleusin, Metionin, Glisin, Asam Aspartat, Isoleusin, dan Arginin) merupakan peptida kandidat vaksin subunit (epitope) sel B AIDS nomor 3. Peptida tersebut berada pada posisi 317 – 323 pada glikoprotein 160 HIV dengan Glisin sebagai asam amino yang imunogenik. Asam amino glisin berada pada posisi 320 pada glikoprotein 160 HIV. Peptida kandidat nomor 3 memiliki skor 0,942.

Peptida nomor 4 kandidat vaksin AIDS dari glikoprotein 160 HIV adalah MWQRVGQ (Metionin, Triptopan, Glutamin, Arginin, Valin, Glisin dan Glutamin) dengan asam amino Arginin sebagai asam amino imunogenik yang berada pada posisi 416 pada glikoprotein 160 HIV. Adapun peptida MWQRVGQ berada pada posisi 413 – 419 pada glikoprotein 160 HIV. Untuk nilai peptida MWQRVGQ adalah 0,983. Berdasarkan perbandingan skor, peptida nomor 2 yaitu adalah

NMWKNNM (Asparagin, Metionin, Triptopan, Lysin, Asparagin, Asparagin, Metionin) adalah peptida terbaik sebagai kandidat vaksin subunit (epitope) AIDS. Perbedaan skor ditentukan oleh rantai samping pada asam amino penyusun peptida. Berdasarkan laporan (Kolaskar dan Tongaonkar, 1990) algoritma penyusun aplikasi disusun berdasarkan sifat asam amino seperti hidrofobisitas dan fleksibilitas asam amino. ToxinPred merupakan aplikasi berbasis web yang dikembangkan untuk memprediksi dan mendesain peptida toksik dan tidak toksik (Gupta dkk., 2015). Terdapat 4 (empat) fitur utama pada aplikasi tersebut, yaitu: 1) Design *Peptide*; 2) Batch Submission; 3) Protein *Scanning*; dan 4) QMS *Calculator*).

Pada penelitian ini digunakan fitur *Batch Submission*. Berdasarkan Tabel 2 semua peptida kandidat vaksin tidak beracun sehingga keempat peptida kandidat sangat potensial untuk diproduksi. Hal tersebut didukung oleh skor SVM (*Support Vector Machine*) dibawah 5. Menurut (Gupta dkk., 2013) apabila peptida beracun, skor SVM meningkat lebih dari 5.

Semua peptida kandidat vaksin bersifat hidrofilik hal ini dibuktikan dengan nilai hidrofobisitas yang negatif serta nilai hidrofobisitas yang relatif besar. Menurut (Kyte dan Doolittle, 1983) nilai makin negatif nilai hidrofobisitas maka makin hidrofilik dan makin besar nilai hidrofobisitas maka makin hidrofilik. Sifat hidrofobisitas asam amino bergantung pada rantai samping asam amino tersebut. Jenis rantai samping akan mempengaruhi jenis asam amino. Menurut (Higgs dkk., 2008) jenis asam amino mempengaruhi kualitas energy hidrofobik dan hidrofilik protein.

Berdasarkan semua uraian terkait hasil analisis maka 4 peptida yang dihasilkan merupakan peptida-peptida potensial untuk vaksin subunit yang dapat mengaktivasi sel B dan dapat menekan perkembangan HIV, sehingga keempat peptida tersebut layak untuk diuji pada tahap selanjutnya.

KESIMPULAN

Terdapat 4 peptida kandidat vaksin subunit yang dapat meningkatkan aktivasi sel B dan tidak beracun dari glikoprotein 160 HIV yaitu MRVMGIQ (Metionin, Arginin, Valin, Metionin, Glisin, Isoleusin, Glutamin, NMWKNNM (Asparagin, Metionin, Triptopan, Lysin, Asparagin, Asparagin, Metionin), EIMGDIR (Asam Glutamat, Isoleusin, Metionin, Glisin, Asam Aspartat, Isoleusin, dan Arginin) dan MWQRVGQ (Metionin, Triptopan, Glutamin, Arginin, Valin, Glisin dan Glutamin) dengan peptida NMWKNNM (Asparagin, Metionin, Triptopan, Lysin, Asparagin, Asparagin, Metionin) merupakan peptida paling potensial sebagai vaksin subunit untuk AIDS

karena memiliki skor analisis IEDB *Analysis Resource* paling rendah.

UCAPAN TERIMA KASIH

Kami sampaikan terima kasih kepada semua pihak yang terlibat, khususnya pihak pengembang aplikasi Uniprot, IEDB Analysis Resources, ToxinPred dan seluruh tim di Jurusan Biologi UIN Sunan Gunung Djati Bandung dan Sekolah Tinggi Analisis Bakti Asih.

DAFTAR PUSTAKA

- Abinaya, R.V. and Viswanathan, P., 2021. *Biotechnology-based therapeutic*. British: ScienceDirect.
- Deeks S.G., 2006. Antiretroviral treatment of HIV infected adults. *BMJ*, 332:1489
- Dewi, I.P., Pharmacy, F. and Jember, U., 2016. B-Cell epitope prediction of *Mycobacterium tuberculosis* Ag85A ANTIGEN. *ICMHS*, ISBN 978-6, 108-111.
- Ellis, R.W., Rappuoli, R. and Ahmed, S., 2012. *Technologies for making new vaccines. In Vaccines: Sixth Edition (Sixth Edit)*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-1-4557-0090-5.00013-6>
- Gupta, S., Kapoor, P., Chaudhary, K., Gautam, A., Kumar, R. and Raghava, G.P., 2015. *Peptide Toxicity Prediction*. Switzerland: Springer.
- Gupta, S., Kapoor, P., Chaudhary, K., Gautam, A. and Kumar, R., 2013. In silico approach for predicting Toxicity of peptides and protein. *PLOS ONE*, 1-10.
- Hardisman, D., 2009. HIV/AIDS di Indonesia: Fenomena gunung es dan peranan pelayanan kesehatan primer. *Kesmas National Public Health Journal*, 3(5):236
- Higgs, T., Stantic, B. and Sattar, A., 2008. Hydrophobic-hydrophilic forces and their effect on protein structural similarity. *Supplementary Conf. Proc.* 1-12.
- Koga, Y., Nakamura, K. Sasaki, M., Kimura, G. and Nomotot, K., 1994. The difference in gp 160 and gp 120 of HIV type 1 in the induction CD4 downregulation preceding single-cell killing. *Virology*. 201: 137-141
- Kolaskar, A.S. and Tongaonkar, P.C., 1990. A semi-empirical method for prediction of antigenic determinants on protein antigens. *FEBS letters*, 276(1-2), 172-174. [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(90\)80535-q](https://doi.org/10.1016/0014-5793(90)80535-q)
- Kyte, J. and Doolittle, R.F., 1982. A simple method for displaying the hydropathic character of a protein. *J. Mol. Biol.* 105-132.
- Pollara, J., Easterhoff, D. and Fouda, G.G., 2017. Lesson learned from human HIV vaccine trials. *Wolter Klauwer Health, Inc*, 216-221.
- Li, B., Xianfang, Z., Chuancui, H. and Yunx-ia, C.,

2015. Human papillomavirus genome-wide identification of T-cell epitopes for peptide vaccine development against cervical cancer: an integration of computational analysis and experimental assay. *J Computation Biol*, 22 (10), 962–974.
- Seitzs, R., 2016. Human immunodeficiency virus. *Karger. Freinberg*
- Senam., 1999. Bahaya infeksi HIV (*Human Immunodeficiency Virus*) beserta alternatif pemecahannya. *Cakrawala Pendidikan*, 36–41.
- Srebreneca, A. dan Milanda, T., 2021. Pengembangan vaksin HIV sebagai upaya preventif terhadap AIDS. *Farmaka*, 19, 119–131.
- Suryani, Y., Taupiqurrohman, O., Yusuf, M., Subroto, T. and Nuswantara, S., 2019. Immunoinformatics study on early 4 protein of *Human Papillomavirus* type 16 for cervical cancer vaccine peptide candidate. *Jurnal Biodjati*, 4(2), 252–262. <https://doi.org/10.15575/biodjati.v4i2.5414>.
- Van der weken, H., Cox, E. and Devriendt, B., 2021. Advance in oral subunit vaccine design. *Vaccine*. 9(1): 1–23.