



Tersedia daring pada: <http://ejournal.undana.ac.id/jvn>

Prediksi Epitop Antigenik sebagai Kandidat Vaksin Berbasis Peptida pada *African Swine Fever Virus* dengan Target P30 dan P72

Difa Fitrah Kusumaningrum¹, Siti Kurniawati^{2,3*}, Azizah Husnul Subagyo¹, Bintang Fajar Prayitno¹, Keisha Rama Diwangga¹, Miftahul Jannah¹, Jessica Ivana Alexandra Tasumo¹,

¹Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Brawijaya, Malang, 65145, Indonesia

²Laboratorium Mikrobiologi dan Imunologi Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya, Malang, 65145, Indonesia

³Laboratorium Diagnostik Penyakit Hewan, Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya, Malang, 65145, Indonesia

Abstract

Keywords:

ASFV,
P30,
P72,
Immunoinformatics,
subunit vaccine

African swine fever virus (ASFV) remains a critical global threat to swine health, demanding innovative vaccine strategies beyond currently limited live-attenuated options. This study employed an immunoinformatics-driven, in silico approach to identify antigenic B-cell epitopes from two key ASFV immunogens, P30 (CP204L) and P72 (B646L), as potential peptide-based vaccine candidates. Amino-acid sequences were retrieved from NCBI and modeled via SWISS-MODEL to predict structural exposure. Linear B-cell epitopes were mapped using IEDB BepiPred 2.0 and further screened for antigenicity and allergenicity using VaxiJen and AllerTOP. P30 exhibited broader surface-exposed epitope distribution and higher predicted immunogenicity, with QYGKAPDF emerging as the most promising non-allergenic antigenic peptide. In contrast, P72 displayed fewer, more conserved epitopes consistent with its compact capsid topology, with PREEYQPSGHIN identified as the best candidate based on immunogenic and non-allergenic properties. Comparative analysis highlights P30 as the superior immunogenic target, although combining both epitopes may enhance protective efficacy through complementary immune activation and structural stability. These findings provide a foundational framework for designing multi-epitope ASFV subunit vaccines and warrant subsequent experimental validation to support development of safe, effective, and durable ASFV immunoprophylaxis.

Korespondensi:

sitikurniawati9@ub.ac.id

African Swine Fever (ASF) adalah salah satu penyakit paling mematikan pada babi yang disebabkan oleh virus. Kasus infeksi ini mengakibatkan kerugian ekonomi dan penurunan produksi yang signifikan karena tingkat kematian yang sangat tinggi. Total kasus infeksi yang terjadi di Rumania dalam waktu enam tahun berkisar 381 kasus (babi domestik) dan 59 kasus (babi hutan) (Cireasa *et al.* 2025). Penyakit ASF pada tahun 2019 dengan cepat menyebar ke seluruh wilayah di Vietnam menyebabkan eutanasi massal dengan jumlah lebih dari 6.000.000 babi (Chuong *et al.* 2025). Wabah pertama yang terkonfirmasi di Indonesia, terjadi di hampir seluruh Kabupaten di wilayah Sumatera Utara pada tahun 2019 dan dilaporkan 465 kasus kematian babi terjadi (Primatika *et al.* 2022). Penyakit ini telah dikonfirmasi di berbagai negara di seluruh dunia, dan di Indonesia dinyatakan sebagai Penyakit Hewan Menular Strategis (PHMS) oleh Kementerian Pertanian RI (Kementerian Pertanian RI 2023).

African Swine Fever Virus (ASFV) adalah virus DNA untai ganda berselubung yang termasuk dalam famili *Asfarviridae* yang menyebabkan hemoragi pada babi domestik dan babi hutan dengan tingkat kematian mencapai 100% (Blome *et al.* 2020; Sukoco *et al.* 2024).

Vaksin yang telah ada saat ini dan

diberikan dirasa masih belum efektif karena beberapa faktor (Primatika *et al.* 2021). Faktor tersebut antara lain : beberapa vaksin hidup yang dilemahkan *Live Attenuated Vaccine* (LAV), seperti ASFV-G- γ I177L dan ASFV-G- γ I177L: γ LVR, menunjukkan perlindungan yang masih belum efektif pada galur virulen homolog dan persistensi antibodi yang tahan lama (Choi *et al.* 2025). Hal ini dikarenakan masih terjadi *cross reaction* pada infeksi tersebut, sehingga diperlukan alternatif lain dalam proses pengembangan vaksin dengan target yang lain, salah satunya yaitu pada protein P30 dan P72 (Ntakiyisumba *et al.* 2025).

Protein P30 dan P72 merupakan protein imunogenik penting ASFV. Protein P30 ini dikode oleh gen *CP204L*. *CP204L* merupakan salah satu lokus pada *open reading frame* yaitu fosfoprotein awal yang memfasilitasi masuknya virus dan berkontribusi pada proses *escape mechanism* melalui aktivitas RNase-nya (Nandy *et al.* 2024). Sebaliknya P72 yang dikode oleh gen *B646L* berperan dalam pembentukan kapsid trimerik dominan yang mencakup sekitar sepertiga total massa virus dan dianggap sebagai salah satu antigen ASFV paling stabil dan terkonservasi (Liu *et al.* 2019). Studi serologis menunjukkan bahwa antibodi anti-P30 muncul pada minggu pertama pasca infeksi, sementara P72 menimbulkan respons imun humoral yang lebih kuat dan lebih persisten, Hal ini

menunjukkan signifikansi sebagai target utama untuk diagnosis ASF dan pengembangan vaksin (Giménez-Lirola *et al.* 2016).

Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk melakukan studi imunoinformatika *in silico* terhadap potensi imunogenik protein ASFV menargetkan P30 dan P72 sebagai kandidat vaksin. Urutan asam amino protein diunduh dari basis data NCBI dan digunakan untuk memprediksi struktur tiga dimensi menggunakan SWISS-MODEL. Epitop sel B linier kemudian didapatkan melalui perangkat IEDB BepiPred 2.0 untuk memprediksi area yang terpapar permukaan dengan potensi imunogenitas. Hasilnya diharapkan dapat memberikan informasi mengenai pemilihan antigen dan subunit vaksin ASFV yang tepat dan untuk memastikan produksi ternak berkelanjutan dan menjamin keamanan pangan.

METODOLOGI

Sekuens protein P30 dan P72 ASFV diperoleh dari basis data NCBI. Gen *CP204L* yang mengkodekan protein P30 diperoleh dengan ID referensi NP_042786.1, yang terdiri dari 204 asam amino, sekuens ini digunakan untuk memodelkan struktur tiga dimensi protein menggunakan template rantai C-terminal 7UDK.1.A melalui server SWISS MODEL. Protein P72 yang dikodekan oleh gen *B646L*,

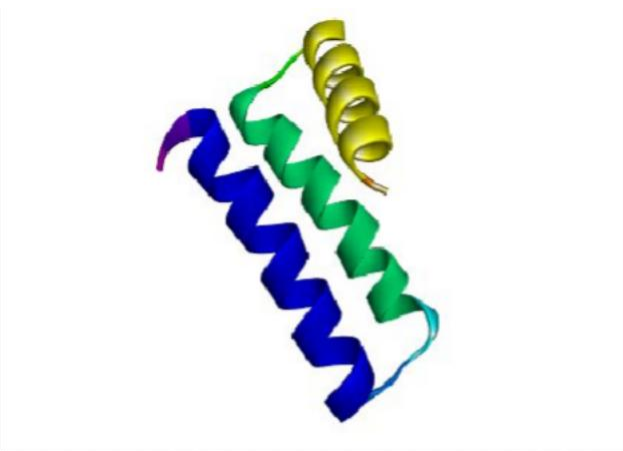
sekuens yang sesuai dengan ID referensi QNC71679.1 terdiri dari 137 asam amino dan pemodelan struktur tiga dimensi menggunakan template 6KU9.1.A menggunakan SWISS MODEL. Selanjutnya, kedua model protein dianalisis menggunakan *Immune Epitope Database and tools* (IEDB) (<https://www.iedb.org/>) yaitu BepiPred 2.0 untuk memprediksi epitop sel B linear. Data yang didapatkan kemudian dievaluasi skor antigenisitas menggunakan *VaxiJen* (<https://www.ddg-pharmfac.net/vaxijen/VaxiJen/VaxiJen.html>), dan Alergenisitas menggunakan *AllerTOP* (www.ddg-pharmfac.net/allertop_test/). Penelitian berfokus pada panjang asam amino, jumlah epitop yang diprediksi, bagaimana epitop terdistribusi secara linear di sepanjang urutan protein, antigenisitas, dan alergenitasnya. Seluruh hasil diperiksa secara deskriptif untuk membandingkan pola epitop sel B yang diprediksi antara P30 dan P72.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Protein P30 (Dikodekan oleh Gen *CP204L*)

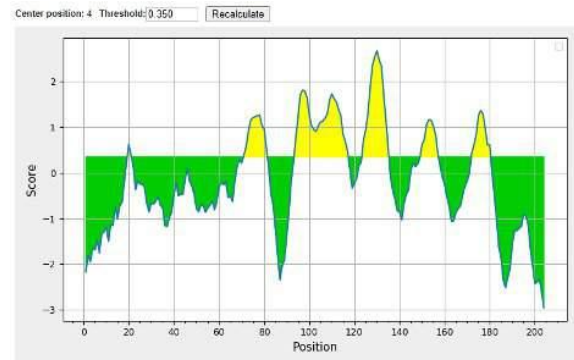
Urutan asam amino protein P30 diperoleh dari basis data NCBI GenBank (Ref. No. NP_042786.1) yang terdiri dari 204 asam amino. Urutan ini yang digunakan dalam pemodelan tiga dimensi menggunakan

SWISS MODEL berdasarkan template 7udk.1.A yang menampilkan rantai protein homolog yang diinduksi ASFV pada daerah terminal-C. Model tiga dimensi yang dihasilkan mengandung tiga α -heliks melingkar seperti pada **Gambar 1**. Hasil pemodelan ini menunjukkan paparan permukaan yang kuat terhadap epitop yang diprediksi (Waterhouse *et al.* 2018).



Gambar 1. Struktur 3D protein P30 ASFV yang diprediksi menggunakan *SWISS-MODEL* dengan template 7udk.1.A sebagai model acuan

Prediksi epitop sel B linear dilakukan menggunakan IEDB BepiPred 2.0 dengan ambang batas 0,35. Hasil menunjukkan enam wilayah yang melebihi ambang batas, ditunjukkan pada **Gambar 2**. menjadi lokasi epitop sel B yang tersebar di sepanjang urutan protein, terutama di antara kisaran residu 90-120 dan residu 150-180.



Gambar 2. Grafik prediksi epitop linear sel B protein P30 ASFV menggunakan *BepiPred* (threshold = 0.35).

Sebanyak enam kemungkinan epitop sel B linear diprediksi dari urutan protein P30 dengan panjang antara 2 sampai 24 asam amino pada **Tabel 1**. Diketahui bahwa urutan epitop yang terpanjang diantara semua peptida yang diprediksi yaitu 24 residu, terletak diantara posisi 94 dan 117 sehingga epitop diprediksi sangat terekspos dan imunogenik.

Distribusi epitop mencerminkan perbedaan fungsional pada protein. Diketahui protein P30 adalah perantara perlekatan dan masuknya virus ke dalam makrofag inang, yang telah teridentifikasi sebagai antigen imunogenik utama untuk menginduksi respon imun humoral dan seluler (Chen 2022). Selain itu epitop Protein P30 memiliki paparan permukaan yang luas serta kepadatan tinggi yang sesuai sebagai komponen dalam formulasi vaksin subunit (Alonso *et al.* 2018).

Tabel 1. Prediksi epitop linear sel B protein P30.

No	Start	End	Peptide	Length	Vaxijen Score	Alergen non alergen
1	20	21	RS	2	-	-
2	71	81	GQGYTEHQAE	11	0.3919 (Non antigen)	non-allergen
3	94	117	ETESSASSESIHEKNDN ETNECTS	24	0.5013 (Antigen)	allergen
4	124	135	EQEPSSEEPKDS	12	0.4170 (Antigen)	allergen
5	150	157	QYGKAPDF	8	1.0433 (Antigen)	non-allergen
6	172	180	GTPLKEEEK	9	1.1227 (Antigen)	allergen

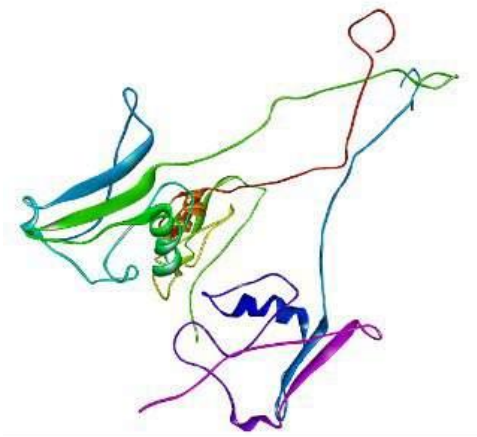
Data yang diperoleh selanjutnya dievaluasi antigenisitasnya menggunakan *VaxiJen*. Peptida dengan skor antigenisitas $\leq 0,4$ dianggap antigenik dan dipilih untuk analisis vaksin lebih lanjut. Peptida yang dipilih adalah yang paling mungkin menginduksi respon imun (Zahroh *et al.* 2016). Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan pada **Tabel 1.** didapatkan sebanyak 66% epitop P30 bersifat antigenik. Peptida GTPLKEEEK memiliki antigenitas tertinggi dengan skor 1.1227. Peptida golongan antigenik selanjutnya dianalisis allergenisitas dengan

menggunakan *AllerTOP*. Sebanyak 33% peptida menunjukkan hasil Non- allergen.

Keseluruhan hasil penelitian selanjutnya dievaluasi berdasarkan panjang epitop, skor antigenitas tertinggi, dan karakteristik non-allergenik sehingga epitop memiliki potensi antigenik dan dapat diintegrasikan ke dalam konstruksi pengembangan vaksin (Ruaro-Moreno *et al.* 2023). Epitop QYGKAPDF diprediksi menjadi kandidat epitop terbaik dari Protein P30 karena memenuhi persyaratan Antigenisitas dan Alergenisitas.

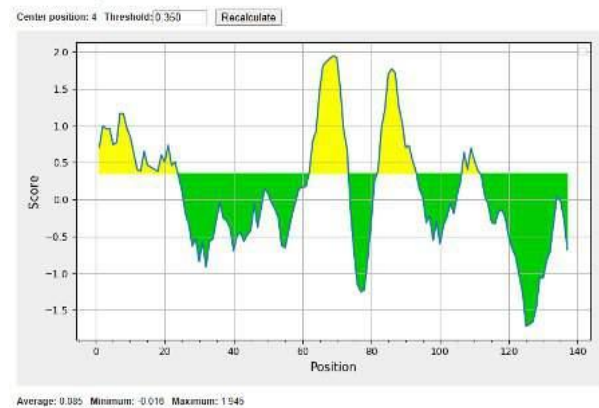
Protein P72 (Dikodekan oleh Gen *B646L*)

Struktur asam amino protein P72 yang dikode oleh gen *B646L* didapatkan dari basis data NCBI GenBank dengan nomor akses QNC71679.1. Urutan nukleotida parsial yang diperoleh mencakup 137 asam amino dan menjadi dasar pemodelan tiga dimensi menggunakan SWISS MODEL. Berdasarkan template 6KU9.1.A. Model yang dihasilkan menunjukkan struktur alpha-heliks dan beta-sheet pada **Gambar 3**.



Gambar 3. Struktur 3D protein P72 ASFV yang diprediksi menggunakan *SWISS-MODEL* dengan template 6ku9.1.A.sebagai model acuan.

Pemodelan pada **Gambar 3**. Umumnya ditemukan karena merupakan karakteristik protein kapsid ASFV yaitu menghambat aksesibilitas permukaan, dimana sebagian besar residu terletak di dalam kapsid virus yang menyebabkan berkurangnya kemungkinan untuk ditargetkan oleh antibodi dari inang (Waterhouse *et al.* 2018).



Gambar 4. Grafik prediksi epitop linear sel B protein P72 ASFV menggunakan *BepiPred* (threshold = 0.35).

Sel B linear pada protein P72 diprediksi menggunakan IEDB BepiPred 2.0 dengan nilai ambang batas 0,35. Hasil prediksi diperoleh pada **Gambar 4**. Menunjukkan empat wilayah melebihi dari ambang batas, yang menunjukkan zona potensial untuk epitop sel B. Nilai tertinggi terdapat pada wilayah antara asam amino 60 hingga 95 dan berada dalam zona dengan probabilitas permukaan yang tinggi.

Hasil prediksi BepiPred, empat epitop sel B linear terdeteksi. Sekuens ASFV yang ditunjukkan pada **Tabel 2**. Peptida terpanjang yang terletak pada posisi 1-23, menunjukkan skor tertinggi dan diprediksi merupakan daerah imunodominan, dimana peptida dapat diakses di permukaan kapsid virus dan berpotensi penting dalam imunitas humoral.

Tabel 2. Prediksi epitop linear sel B protein P72.

No	Start	End	Peptide	Length	Vaxijen Score	Alergen non alergen
1	1	23	SFQDRDTALPDACSSIS DISPVT	23	1.0863 (Antigen)	Allergen
2	62	73	GNAIKTPDDPGA	12	0.0460 (Non-Antigen)	Non-allergen
3	82	93	PREEYQPSGHIN	12	0.6541 (Antigen)	Non-allergen
4	107	111	DYVGS	5	-	-

Protein P72 memiliki fungsi utama sebagai komponen struktural yang menjadi kerangka dalam proses perakitan virion, dengan tingkat konservasi sekuens yang tinggi di antara berbagai strain ASFV, namun menunjukkan variasi antigenik yang relatif rendah (Miao, 2023). Selain itu protein ini memiliki stabilitas dan *conserved* yang dapat digunakan sebagai penanda untuk aplikasi diagnostik (Alonso *et al.* 2018).

Data yang diperoleh selanjutnya dievaluasi antigenisitasnya menggunakan *VaxiJen*. Peptida

dengan skor antigenisitas $\geq 0,4$ dianggap antigenik dan dipilih untuk analisis vaksin lebih lanjut. Peptida yang dipilih adalah yang paling mungkin menginduksi respon imun (Zahroh *et al.* 2016). Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan pada **Tabel 2.** didapatkan sebanyak 75% epitop bersifat antigenik. Peptida SFQDRDTALPDACSSISDISPVT memiliki antigenitas tertinggi dengan skor 1.0863. Peptida golongan antigenik selanjutnya dianalisis allergenitasnya menggunakan *AllerTOP*. Sebanyak 50% peptida menunjukkan hasil Non-allergen.

Keseluruhan hasil penelitian selanjutnya dievaluasi berdasarkan panjang epitop, skor antigenitas tertinggi, dan karakteristik non-allergenik sehingga epitop memiliki potensi antigenik dan dapat diintegrasikan ke dalam konstruksi pengembangan vaksin (Ruaro-Moreno *et al.* 2023). Epitop PREEYQPSGHIN diprediksi menjadi kandidat epitop terbaik dari Protein P72 karena memenuhi persyaratan antigenisitas dan alergenisitas.

Kandidat Epitop Terbaik

Hasil penelitian mengkonfirmasi P30 memiliki potensi imunogenik yang lebih tinggi berdasarkan epitop, lokalisasi permukaan pada virus, antigenisitas, dan alergenisitas. Protein P30 menunjukkan jumlah dan distribusi epitop sel B yang lebih luas, dengan prediksi pada area yang terekspos pada permukaan virion. Hal ini sejalan dengan Malogolovkin *et al.* (2015) yaitu karakteristik fosfoprotein virus yang berperan pada proses perlekatan dan pengenalan imunitas.

Sebagai perbandingan, P72 memiliki lebih sedikit epitop yang terkonservasi dan lebih pendek, konsisten dengan sifatnya yang berperan sebagai komponen struktural yang stabil serta berlokasi di bagian dalam virion. (Galindo & Alonso 2017; Waterhouse *et al.* 2018). Namun lebih lanjut, P72 memiliki konservasi antigenic dan struktur yang stabil sehingga dapat menjadi antigen tambahan yang mampu memperkuat

respons antibodi jika diberikan bersama antigen lain dari virus. Hasil ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Monteagudo *et al.* (2019) bahwa modifikasi pengembangan vaksin multi epitop yang melibatkan antigen P30 dan P72 dapat meningkatkan imunitas protektif terhadap ASFV.

SIMPULAN

Prediksi epitop antigenik sebagai kandidat vaksin pada ASFV dengan target P30 dengan epitop QYGKAPDF dan P72 dengan epitop PREEYQPSGHIN menunjukkan adanya perbedaan karakteristik imunogenik yang berpotensi sebagai kandidat vaksin. Protein P30 memiliki potensi imunogenik yang lebih baik dibandingkan dengan P72 dalam menghadapi infeksi ASFV secara *in silico*. Oleh karena itu, penelitian eksperimental lebih lanjut diperlukan untuk mengkonfirmasi karakter imunogenik dari epitop yang telah teridentifikasi serta mendukung pengembangan vaksin ASFV yang aman, efektif, dan mampu memberikan perlindungan jangka panjang.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada Laboratorium Mikrobiologi dan Imunologi Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Brawijaya, atas dukungan dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Alonso C, Borca M, Dixon L, Revilla Y, Rodriguez F, & Escribano JM. 2018. ICTV Virus Taxonomy Profile: Asfarviridae. *Journal of General Virology*, 99(5):613–614.
- Blome S, Franzke K, & Beer M. 2020. African swine fever – A review of current knowledge. *Virus Research*, 287: 198099.
- Chen X, Chen X, Liang Y, Xu S, Weng Z, Gao, Q, Huang Z, Zhang G, & Gong L. 2022. Interaction network of African swine fever virus structural protein p30 with host proteins. *Frontiers in Microbiology*, 13: 971888.
- Choi YK, Kim DY, Kim JS, Kim DJ, & Jeong H S. 2025. African swine fever vaccine candidate ASFV-G-ΔII177L:ΔLVR protects against homologous virulent challenge and exhibits long-term maintenance of antibodies. *Vaccines*, 12(4): 556.
- Chuong ND, Lan NTT, Lan NT, Loc NT, Huyen NT, & Duc NT. 2025. Epidemiology and control of African swine fever in Vietnam: A scoping review. *Animals*, 13(7):1235.
- Cireasa R, Otelea D, Predoi D, Drăgulin O, Olteanu M, Dascălu M, Filimon N, Barbuceanu F, Gheorghe F, & Oprisan A. 2025. Six-year surveillance of African swine fever in pigs and wild boars in an outbreak- origin region of Romania. *Pathogens*, 12(2): 284.
- Galindo I, & Alonso C. 2017. African swine fever virus: A review. *Viruses*, 9(5):103.
- Giménez-Lirola LG, Mur L, Rivera B, Mogler, M, Sun Y, Lizano S, Goodell C, Harris DLH, Rowland RRR, Gallardo C, & Zimmerman JJ. 2016. Detection of African swine fever virus antibodies in serum and oral fluid specimens using a recombinant protein 30 (p30) dual matrix indirect ELISA. *PLoS ONE*, 11(9):e0161230.
- Kementerian Pertanian Republik Indonesia. (2023). Keputusan Menteri Pertanian Nomor 121/KPTS/PK.320/M/03/2023 tentang Penetapan 18 Jenis Penyakit Hewan Menular Strategis (PHMS) di Indonesia. Jakarta: Kementerian Pertanian Republik Indonesia.
- Liu S, Lu Y, Wang Y, Li S, Zhao Z, Bi Y, Sun J, Peng R, Song H, Zhu D, Wang W, & Gao GF. 2019. Structure of the African swine fever virus major capsid protein p72. *Cell Host & Microbe*, 26(6): 836–843.e3.
- Malogolovkin A, Burmakina G, Tulman ER, Delhon G, Diel DG, Salnikov N, Kutish GF, Kolbasov D, & Rock DL. 2015. Comparative analysis of African swine fever virus genotypes and serogroups. *Emerging Infectious Diseases*, 21(2):312–315.
- Miao C, Yang S, Shao J, Zhou G, Ma Y, Wen S, Hou Z, Peng D, Guo H, Liu W, & Chang H.

2023. Identification of p72 epitopes of African swine fever virus and preliminary application. *Frontiers in Microbiology*, 14:1126794.
- Monteagudo PL, Lacasta A, López E, Bosch L, Collado J, Pina-Pedrero S, & Rodríguez F. 2017. BA71ΔCD2: A new recombinant live attenuated African swine fever virus with cross-protective capabilities. *Journal of Virology*, 93(12):e01058-19.
- Nandy A, Mukherjee R, Sahoo S, & Biswas S. 2024. The p30 protein of the African swine fever virus behaves as an RNase. *Frontiers in Microbiology*, 15:1423049.
- Ntakiyisumba E, Ouma E, Boogaard H, & Penrith ML. 2025. Quantitative evaluation of the efficacy of non-replicating vaccines for controlling African swine fever in domestic pigs: A systematic review and meta-analysis. *Frontiers in Veterinary Science*, 11:1382246.
- Primatika RA, Sudarnika E, Sumiarto B, & Basri C. 2021. Tantangan dan kendala pengendalian African swine fever (ASF). *Jurnal Sain Veteriner*, 39(1):62–72.
- Ruaro-Moreno M, Monterrubio-López GP, Reyes-Gastellou A, Castelán-Vega JA, Jiménez-Alberto A, Aparicio-Ozores G, & Ribas-Aparicio RM. 2023. Design of a multi-epitope vaccine against tuberculosis from *Mycobacterium tuberculosis* PE_PGRS49 and PE_PGRS56 proteins by reverse vaccinology. *Microorganisms*, 11(7): 1647.
- Sukoco H, Salmin S, Wahyuni S, Utami S, Cahyani AP, Zulfikhar R, Akbarrizki M, & Siswanto FM. 2024. African swine fever (ASF): Etiologi, patogenesis dan gejala klinis, transmisi, pencegahan serta pengendalian pada ternak babi. *Jurnal Pertanian Agros*, 26(1): 4412–4426.
- Waterhouse A, Bertoni M, Bienert S, Studer G, Tauriello G, Gumienny R, Heer T, Beer TAP, Rempfer C, Bordoli L, Lepore L, & Schwede T. 2018. SWISS-MODEL: Homology modelling of protein structures and complexes. *Nucleic Acids Research*, 46(W1): W296–W303.
- Zahroh H, Ma'rup A, Tambunan USF, & Parikesit AA. 2016. Immunoinformatics approach in designing epitope-based vaccine against meningitis-inducing bacteria (*Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitidis*, and *Haemophilus influenzae* type b). *Drug target insights*, 10: DTI-S384