



LAPORAN PENELITIAN DASAR
TAHUN ANGGARAN 2003

IDENTIFIKASI URUTAN ASAM AMINO PROTEIN E2 VIRUS HEPATITIS C ISOLAT INDONESIA DENGAN METODA Long PCR DAN SEQUENSING

Oleh:

drh. Chairul A. Nidom, M.S.
dr. Soetjipto, MS., Ph.D.

SELESAI

PAMERAN

1-1 APR 2005

LEMBAGA PENELITIAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

Dibiayai Proyek Pengkajian dan Penelitian Ilmu Pengetahuan dan Teknologi

DIP Nomor : 005/XXIII/1/--/2003 Tanggal 1 Januari 2003

Kontrak Nomor : 21/P2IPT/DPPM/PID/III/2003

Ditbinlitabmas, Ditjen Dikti, Depdiknas

Nomor Urut 9

FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA

Nopember, 2003



LAPORAN PENELITIAN DASAR
TAHUN ANGGARAN 2003

KK
KKC
616.362 3007
Nid
i.

**IDENTIFIKASI URUTAN ASAM AMINO PROTEIN E2
VIRUS HEPATITIS C ISOLAT INDONESIA DENGAN
METODA Long PCR DAN SEQUENSING**

Oleh:

drh. Chairul A. Nidom, M.S.
dr. Soetjipto, MS., Ph.D.



005304141



005304141

LEMBAGA PENELITIAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

Dibiayai Proyek Pengkajian dan Penelitian Ilmu Pengetahuan dan Teknologi

DIP Nomor : 005/XXIII/1/--/2003 Tanggal 1 Januari 2003

Kontrak Nomor : 21/P2IPT/DPPM/PID/III/2003

Ditbinlitabmas, Ditjen Dikti, Depdiknas

Nomor Urut 9

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA**

Nopember, 2003



- | | | |
|---------------------------------------|--------------------------------------|---|
| 1. Pusat Pembangunan Regional | 5. Pusat Pengembangan Gizi (5995720) | 9. Pusat Kependudukan dan Pembangunan (5995719) |
| 2. Pusat Obat Tradisional | 6. Pusat Studi Wanita (5995722) | 10. Pusat Kesehatan Reproduksi |
| 3. Pusat Pengembangan Hukum (5923584) | 7. Pusat Olah Raga | |
| 4. Pusat Lingkungan Hidup (5995718) | 8. Pusat Bioenergi | |

Kampus C Unair, Jl. Mulyorejo Surabaya 60115 Telp. (031) 5995246, 5995248, 5995247 Fax. (031) 5962066
E-mail : lpunair@rad.net.id - http://www.geocities.com/Athens/Olympus/6223

**LEMBAR IDENTITAS DAN PENGESAHAN
LAPORAN AKHIR HASIL PENELITIAN**

**1. JUDUL : IDENTIFIKASI URUTAN ASAM AMINO PROTEIN E2 VIRUS
HEPATITIS C ISOLAT INDONESIA DENGAN METODA
LONG PCR DAN SEKUENSING**

2. Ketua Peneliti :

Nama	: Chairul A. Nidom. Drh., MS.
Jenis Kelamin	: Laki-laki
Pangkat / Golongan	: Penata/IIIc
NIP	: 131 406 056
Jabatan Fungsional	: Lektor
Bidang Keahlian	: Biologi Molekuler
Fakultas / Jurusan	: Kedokteran Hewan
Perguruan Tinggi	: Universitas Airlangga.

3. Jumlah Tim Peneliti : 2 orang

4. Lokasi Penelitian : TDC - UNAIR

5. Jangka Waktu Penelitian : 5 (lima) bulan

6. Biaya yang diperlukan : Rp 15.000.000,- (Lima Belas juta Rupiah)

Mengetahui,
Dekan Fakultas Kedokteran Hewan

Prof. Dr. Ismudiono, drh. MS.
NIP. 130 687 297

Surabaya, 20 November 2003
Ketua Peneliti

Chairul A. Nidom, drh., MS.
NIP. 131 406 056

Mengetahui
Ketua Lembaga Penelitian UNAIR

Prof. Dr. H. Sarmanu
NIP. 130 701 125

RINGKASAN

IDENTIFIKASI URUTAN ASAM AMINO PROTEIN E2 VIRUS HEPATITIS C ISOLAT INDONESIA DENGAN METODA *LONG PCR* DAN SEKUENSING (Chairul A. Nidom, Soetjipto, 2003, 34 halaman)

Hepatitis adalah suatu peradangan jaringan hati yang disebabkan oleh berbagai faktor penyebab antara lain bahan-bahan kimia, obat-obatan tertentu, alkohol dan virus. Sampai saat ini diketahui ada tujuh macam virus penyebab hepatitis yaitu Virus Hepatitis A (VHA), Virus Hepatitis B (VHB), Virus Hepatitis C (VHC), Virus Hepatitis D (VHD), Virus Hepatitis E (VHE), Virus Hepatitis G (VHG) dan Virus Hepatitis TT. Saat ini diperkirakan lebih dari 200 juta penduduk dunia terinfeksi oleh VHC. Hepatitis C sebagian besar menyebabkan *chronic liver disease*, baik berupa hepatitis kronik, sirosis hati maupun karsinoma hepatoseluler.

Dari berbagai macam sub tipe Virus Hepatitis C (VHC) yang ada, maka VHC sub tipe 1c merupakan yang spesifik di Indonesia yang telah ditemukan pada donor darah, penderita yang sedang hemodialisis, hepatitis kronik, sirosis hati dan penderita *heptocellular carcinoma* dengan prevalensi yang berbeda. VHC sub tipe 1c mempunyai virulensi yang sama dengan sub tipe 1b.

Virus Hepatitis C adalah tergolong virus RNA anggota dari famili *Falviviridae* dengan ukuran genom 9,6 kb, mempunyai *Open Reading Frame* yang panjang dengan yang menyandi poliprotein yang terdiri dari 3010-3030 asam amino. Sampai saat ini, belum ada pengobatan VHC yang aman dan efektif dalam mencegah terjadinya penyakit hati kronis.

Penelitian pada urutan asam amino protein E2 VHC sub tipe 1c belum banyak terungkap. Hal ini penting, mengingat daerah ini terdapat daerah yang mempunyai variabilitas yang tinggi yaitu *Hypervariable Region 1* (HVR-1) yang menyebabkan VHC dapat menghindar dari kontrol respon imun, namun daerah ini mempunyai epitop netralisasi.

Untuk mencapai hal tersebut di atas maka dilakukan penelitian ini dengan cara mengisolasi RNA dari region E2 dengan metoda *Long PCR* kemudian dilakukan sekuensing untuk memperoleh urutan nukleotidanya. Dengan menggunakan Program Genetyx-Mac versi 8.0, urutan tersebut diubah menjadi urutan asam amino. Dari sini

dibandingkan dengan urutan asam amino protein E2 Virus Hepatitis B yang diperoleh dari data GENBANK.

Dari isolasi dan sekuensing DNA E2 VHC subtiipe 1c, telah diketahui mempunyai 1100 pasang basa (bp) dengan jumlah asam amino 363 asam amino, dan mempunyai homologi sebesar 87% dengan urutan Asam Amino Protein E2 Virus Hepatitis C subtiipe 1b.

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa protein E2 Virus Hepatitis C subtiipe 1c mempunyai homologi yang mirip Virus Hepatitis C subtiipe 1b.

SUMMARY

IDENTIFICATION AMINO ACID SEQUENCE OF E2 PROTEIN OF HEPATITIS C VIRUS INDONESIAN ISOLATE WITH *LONG PCR* AND SEQUENCING METHODE (Chairul A. Nidom, Soetjipto, 2003, 34 pages)

Seven human hepatitis viruses named A through E and G also TT have been characterized that account for the majority of hepatitis cases. It is estimated that at least 200 million people worldwide carry Hepatitis C Virus. Late sequellae of hepatitis C virus infection is liver cirrhosis and primary hepatocellular carcinoma.

HCV is classified as positive stranded RNA virus of the *Flaviviridae* family. The genome of HCV consist 9600 nucleotides and a long *Open reading Frame* (ORF), gives a single polyprotein of about 3010-3030 amino acids. HCV has six genotype and every genotype with several subtype. One of its is Hepatitis C Virus 1c subtype. This subtype is unique Indonesian subtype.

Research on E2 protein of HCV 1c subtype is limited. Importantly, E2 region has *Hypervariable Region 1* (HVR-1) that account for escape to immune response. In contrast, several observations have shown that HVR-1 of E2 contains an important neutralization epitopes. Furthermore, research of E2 protein of HCV 1c subtype is important to do, especially E2 protein expression and characterization.

The research have isolated E2 DNA of HCV 1c subtype from serum with *Long PCR* methode. And then E2 DNA is sequenced to know nucleotide sequences. With GENETIX-MAC Version 8.0, the nucleotide sequences was converted to amino acid sequences. The amino acid sequences of HCV 1c subtype was homology with amino acid sequences of Hepatitis C Virus 1b subtype from GENBANK.

We have got that E2 DNA of HCV 1c subtype has 1100 bp with E2 protein has 363 amino acids, It had 87% homology with amino acid sequences of Hepatitis C Virus 1b subtype.



PRAKATA

Hepatitis C merupakan peradangan hati yang disebabkan oleh Virus Hepatitis C (VHC). Virus ini merupakan virus RNA utas tunggal, termasuk dalam famili FLaviviridae. Infeksi VHC sudah merupakan masalah kesehatan masyarakat yang besar diseluruh dunia tidak terkecuali di Indonesia.

VHC memiliki beberapa genotipe dan masing-masing memiliki beberapa macam sub tipe. Virus Hepatitis C sub tipe 1c merupakan sub tipe yang spesifik di Indonesia. Protein E2 memiliki urutan yang variabilitasnya sangat tinggi yaitu HVR-1, namun di daerah tersebut terdapat epitop netralisasi. Selama ini urutan asam amino Protein E2 VHC sub tipe 1c belum pernah dilakukan penelitian, sehingga perlu dilakukan penelitian ini untuk memberi landasan ilmiah pada penelitian-penelitian selanjutnya.

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Pimpinan Proyek Pengkajian dan Penelitian Ilmu Pengetahuan Terapan/DP3M Ditjen Dikti Depdiknas, Rektor Universitas Airlangga, Dekan Fakultas Kedokteran Hewan, Ketua Lembaga Penelitian Unair, Ketua TDC Unair.

Harapan semoga penelitian dapat bermanfaat bagi kita semua. Amien .

Surabaya, Novemebr 2003

Penulis.

DAFTAR ISI

	Halaman
LEMBAR IDENTITAS DAN PENGESAHAN	i
RINGKASAN	ii
SUMMARY	iii
PRAKATA	iv
DAFTAR ISI	v
DAFTAR GAMBAR / ILUSTRASI	vi
BAB I. PENDAHULUAN	1
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	5
BAB III. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN	20
BAB IV. METODE PENELITIAN	21
BAB V. HASIL DAN PEMBAHASAN	25
BAB VI. KESIMPULAN DAN SARAN	28
DAFTAR PUSTAKA	29
LAMPIRAN	31

DAFTAR GAMBAR / ILUSTRASI

		Halaman
Gambar 2.1.	Genoma VHC	13
Gambar 2.2.	Model Hipotetik Siklus VHC	19
Gambar 5.1.	Hasil PCR Gen E2	26
Gambar 5.2.	Urutan Asama Amino E2 VHC subtype 1c	27