

**STUDI *ONE-HEALTH* DENGAN PENDEKATAN *IN SILICO* FIBRINOGEN-BINDING PROTEIN A (FbsA) BAKTERI *Streptococcus agalactiae* ASAL IKAN DAN KASUS KLINIS MANUSIA**

(Skripsi)

Oleh

**Rifaldi Iqbal Yadiansyah**

**NPM 2017061027**



**PROGRAM STUDI BIOLOGI TERAPAN  
JURUSAN BIOLOGI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDARLAMPUNG  
2024**

## ABSTRAK

### **STUDI *ONE-HEALTH* DENGAN PENDEKATAN *IN SILICO* FIBRINOGEN-BINDING PROTEIN A (FbsA) BAKTERI *Streptococcus agalactiae* ASAL IKAN DAN KASUS KLINIS MANUSIA**

Oleh

**Rifaldi Iqbal Yadiansyah**

Di Singapura dan Malaysia, *Streptococcus* Grup B (SGB) dengan *sequence type* (ST) 283 telah dilaporkan dapat menginfeksi manusia melalui konsumsi pangan asal hewan, seperti ikan mentah. Studi *one-health* terkait dengan protein faktor virulensi SGB belum dilakukan secara luas. Kasus SGB ST283 mendorong dilakukannya studi *one-health* terhadap *fibrinogen-binding protein A* (FbsA) dari SGB asal dari ikan dan kasus klinis manusia. Studi *one-health* secara *in silico* dilakukan untuk menguji kemiripan profil FbsA SGB yang berasal dari dua spesies inang yang berbeda dan untuk menyelidiki profil interaksi FbsA dengan fibrinogen (Fg) manusia. Dua sampel sekuen asam amino FbsA dari kasus klinis ikan dan manusia diperoleh dari *National Center of Biotechnology Information*, sementara struktur kristal protein fibrinogen manusia diperoleh dari *Protein Data Bank*. Penyejajaran dua sampel sekuen FbsA dari inang yang berbeda dilakukan menggunakan program MUSCLE untuk menilai kemiripan profil protein. Prediksi struktur tiga dimensi FbsA SGB dilakukan menggunakan ColabFold versi 1.5.5. Studi penambatan molekul dengan ClusPro versi 2.0 dilakukan untuk melihat interaksi antara FbsA SGB dan rantai  $\alpha$ ,  $\beta$ , dan  $\gamma$  fibrinogen manusia. Hasil menunjukkan kedua sampel sekuen asam amino FbsA menunjukkan kemiripan urutan sebesar 100%. Interaksi menunjukkan residu-residu dalam wilayah berulang FbsA SGB berinteraksi dengan rantai  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  rantai Fg manusia pada fragmen D Fg dan didominasi oleh kelompok residu kritis, residu yang dilaporkan memainkan peran penting dalam *Fg-binding*. Residu-residu kritis ini terutama terletak di wilayah berulang dari ke-45 hingga ke-60. Interaksi juga terjadi pada situs  $\beta_{119-129}$ , situs pembelahan protein fibrinolitik plasmin. Temuan ini diduga berkontribusi pada patogenesis penyakit, terutama dalam gejala klinis endokarditis dan septicemia, dan berpotensi sebagai penyakit zoonosis berasal dari ikan.

**Kata Kunci:** *One-health*, Zoonosis, *Streptococcus* Grup B, *Fibrinogen-binding protein A*, *In Silico*

## ABSTRACT

### IN SILICO ONE-HEALTH STUDIES OF FIBRINOGEN-BINDING PROTEIN A (FbsA) OF *Streptococcus agalactiae* BACTERIA ORIGIN FISH AND HUMAN CLINICAL CASES

By

**Rifaldi Iqbal Yadiansyah**

In Singapore and Malaysia, Group B Streptococcus (GBS) with sequence type (ST) 283 has been reported to infect humans through the consumption of animal-derived food, such as raw fish. One-health studies related to the virulence factor proteins of GBS have not been extensively conducted. Cases of GBS ST283 prompted a one-health study of the fibrinogen-binding protein A (FbsA) of GBS originating from fish and human clinical cases. In silico one-health studies were conducted to examine the similarity of FbsA GBS profiles originating from two different host species and to investigate the interaction profiles of FbsA with human fibrinogen (Fg). Two samples of FbsA amino acid sequences from fish and human clinical cases were obtained from the National Center of Biotechnology Information, while the crystal structure of human fibrinogen protein was obtained from the Protein Data Bank. Alignment of the two FbsA sequence samples from different hosts was performed using the MUSCLE program to assess protein profile similarity. Three-dimensional structure prediction of fish FbsA GBS was conducted using ColabFold version 1.5.5. Molecular docking investigation with ClusPro version 2.0 was performed to examine the interaction between FbsA GBS and the  $\text{A}\alpha$ ,  $\text{B}\beta$ , and  $\gamma$  chains of human fibrinogen. The results indicated that both samples of FbsA amino acid sequences exhibited a sequence similarity of 100%. The interaction showed residues in the repetitive regions of FbsA GBS interacting with human Fg chains at D fragment and was dominated by critical residue groups, residues reported to play crucial roles in fibrinogen binding. These critical residues are mainly located in the repetitive region from the 45th to the 60th. Interactions occurred at the  $\beta_{119-129}$  site, the site of plasmin fibrinolytic protein cleavage. These findings are suspected to contribute to the pathogenesis of the disease, particularly in the clinical symptoms of endocarditis and septicemia, and potentially as a zoonotic disease of fish origin.

**Keywords:** One-health, zoonotic disease, Group B Streptococcus, Fibrinogen-binding protein A, In silico

**STUDI *ONE-HEALTH* DENGAN PENDEKATAN *IN SILICO* FIBRINOGEN-BINDING PROTEIN A (FbsA) BAKTERI *Streptococcus agalactiae* ASAL IKAN DAN KASUS KLINIS MANUSIA**

**Oleh**

**Rifaldi Iqbal Yadiansyah**

**Skripsi**

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar  
SARJANA SAINS**

**Pada**

**Jurusan Biologi  
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**



**PROGRAM STUDI BIOLOGI TERAPAN  
JURUSAN BIOLOGI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDARLAMPUNG  
2024**

Judul Usulan Penelitian

: **STUDI *ONE-HEALTH* DENGAN  
PENDEKATAN *IN SILICO* FIBRINOGEN  
BINDING PROTEIN A (FbsA) BAKTERI  
*Streptococcus agalactiae* ASAL IKAN DAN  
KASUS KLINIS MANUSIA**

Nama Mahasiswa

: **Rifaldi Iqbal Yadiansyah**

Nomor Pokok Mahasiswa

: 2017061027

Jurusan / Program Studi

: Biologi / Biologi Terapan

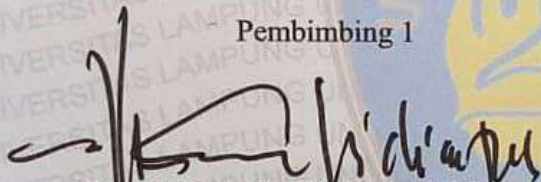
Fakultas

: Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

**MENYETUJUI**

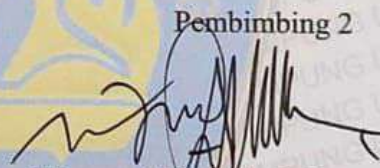
Komisi Pembimbing

Pembimbing 1



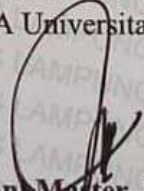
**Dr. Endang L. Widiastuti, M.Sc., Ph.D.**  
NIP. 196106111986032001

Pembimbing 2



**Wawan Abdullah Setiawan, S.Si., M.Si.**  
NIP. 197912302008121001

Ketua Jurusan Biologi  
FMIPA Universitas Lampung

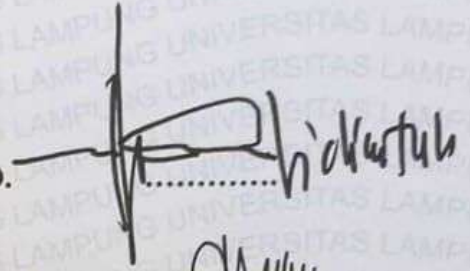


**Dr. Jani Mahter, S.Si., M.Si.**  
NIP. 198301312008121001

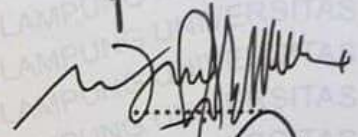
MENGESAHKAN

1. Tim Penguji


Ketua : **Dra. Endang L. Widiastuti, M.Sc., Ph.D.**



Sekretaris : **Wawan Abdullah Setiawan, S.Si., M.Si.**



Anggota : **Favorisen R. Lumbanraja, S.Kom., M.Si., Ph.D.** .....



2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

**Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si.**  
NIP. 197110012005011002



Tanggal Lulus Ujian Skripsi : **12 Juli 2024**

## SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Rifaldi Iqbal Yadiansyah  
NPM : 2017061027  
Jurusan : Biologi  
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Perguruan Tinggi : Universitas Lampung

menyatakan dengan sesungguhnya dan sejujurnya, bahwa skripsi saya berjudul

**“Studi *One-health* dengan Pendekatan *In Silico* Fibrinogen-binding Protein A (FbsA) Bakteri *Streptococcus agalactiae* Asal Ikan dan Kasus Klinis Manusia”**

baik gagasan dan pembahasannya adalah karya saya sendiri yang saya susun dengan mengikuti norma dan etika akademik yang berlaku. Jika di kemudian hari terbukti pernyataan saya ini tidak benar, saya bersedia menerima sanksi akademik baik berupa pencabutan gelar sarjana maupun tuntutan hukum.

Bandar Lampung, 26 Juli 2024



Rifaldi Iqbal Yadiansyah  
NPM. 2017061027

## RIWAYAT HIDUP



**Rifaldi Iqbal Yadiansyah**, pria kelahiran Kota Bekasi tanggal 30 Mei 2002, merupakan anak ketiga dari tiga bersaudara dari Bapak Matyadi dan Ibu Ami Sulami.

Rifaldi telah menamatkan sekolah dasar di SDN Bojong Rawalumbu IX tahun 2014. Kemudian, ia melanjutkan dan berhasil menamatkan pendidikannya pada tingkat sekolah menengah pertama di SMPN 33 Kota Bekasi tahun 2017 dan sekolah menengah atas di SMAN 13 Kota Bekasi tahun 2020. Setelah lulus dari sekolah menengah atas, Rifaldi secara resmi diterima sebagai mahasiswa Program Studi S1 Biologi Terapan, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN) pada tahun 2020.

Selama mengemban pendidikan di jenjang perguruan tinggi, Rifaldi aktif dalam berbagai kegiatan, baik akademik maupun nonakademik. Ia pernah menjadi asisten praktikum untuk mata kuliah Teknik Biomolekuler, Genetika, dan Keterampilan Kerja Laboratorium. Tahun 2021, ia pernah mengikuti salah satu kegiatan Kampus Merdeka, yaitu Kredensial Mikro Mahasiswa Indonesia (KMMI) dengan tema kegiatan “Teknologi Produksi Vaksin Terkini” selama 3 bulan secara daring di Universitas Padjadjaran, Jatinangor. Tahun 2023 merupakan tahun dimana ia mencetak prestasi. Karena kecintaannya dalam dunia riset, terutama dalam bidang



mikrobiologi, ia pernah terlibat dalam dua penulisan artikel riset yang mana artikel tersebut telah dipublikasikan di *Veterinary World* (Scopus Q1) dan *Journal of Survey in Fisheries Sciences* (Scopus Q3). Selain itu, Rifaldi pernah meraih Juara 1 lomba poster tingkat universitas dengan tema “Perpustakaan” yang diselenggarakan oleh Perpustakaan Universitas Lampung dan Juara 2 lomba poster tingkat nasional dengan tema “Hari Pahlawan” yang diselenggarakan oleh akun *instagram* @Jokigle\_officials. Ia pernah mendapat beasiswa penuh dari Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung untuk mengikuti kegiatan *Student Mobility* di Universiti Malaya, Kuala Lumpur, Malaysia selama satu minggu, terhitung dari 17-24 September 2023. Pada tahun 2023 tersebut, ia juga berkesempatan untuk melakukan kerja praktik di *Department of Central Laboratory, PT. Central Proteina Prima, Tbk* dengan judul kerja praktik **“Ekspresi Gen Imun Pada Udang Vannamei Terhadap Riset Bahan Imunomodulator di *Technology Research and Development, PT. Central Proteina Prima, Tbk.*”** Pada tahun tersebut, ia juga pernah melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Kampung Tanjung Jaya, Kecamatan Bangun Rejo, Kabupaten Lampung Tengah. Rifaldi pernah menjabat sebagai anggota bidang Ekspedisi Himpunan Mahasiswa Biologi (HIMBIO) Universitas Lampung dan menjadi panitia Esai Konservasi dan Aksi Lingkungan di acara Pekan Konservasi Sumber Daya Alam (PKSDA).

## PERSEMBAHAN

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

*Dengan mengucapkan rasa syukur kepada Allah Subhanahu wa ta'ala,  
Alhamdulillah, dengan bangganya kupersembahkan hasil karyaku ini kepada:*

*Papa, Mama, dan Kakakku yang selalu memberikan cinta, kasih, dukungan,  
semangat serta mendoakanku di setiap langkah yang kulewati*

*Bapak dan Ibu dosen pembimbing yang selalu sabar dalam membimbing dan  
memberikan arahan*

*Serta teman-teman seperjuangan yang senantiasa selalu memberikan dukungan  
dan semangat*

*Aku berharap semoga hasil karyaku dapat memberikan informasi yang sangat  
bermanfaat bagi peneliti lain di luar sana*

*Almamater tercinta, Universitas Lampung*

## MOTTO

إِذَا قُضِيَ أَمْرًا فَإِنَّمَا يَقُولُ لَهُ كُن فَيَكُونُ

[Q.S 19:35]

“It matters not what someone is born, but what they grow to be”

[Albus Dumbledore]

"Tak ada penyakit yang tak bisa disembuhkan kecuali kemalasan. Tak ada obat yang tak berguna selain kurangnya pengetahuan"

[Ibnu Sina]

“Janganlah jadi orang yang tidak mau untuk bisa bermanfaat bagi orang lain, karena percayalah, mereka adalah orang-orang yang sangat merugi”

[Rifaldi]

## UCAPAN TERIMA KASIH

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ  
السَّلَامُ عَلَيْكُمْ وَرَحْمَةُ اللَّهِ وَبَرَكَاتُهُ  
الْحَمْدُ لِلَّهِ ثُمَّ الْحَمْدُ لِلَّهِ

Dengan memanjatkan puji syukur kepada Allah *Subhanahu wa ta'ala* yang telah memberikan rahmat, taufik, dan hidayah-Nya sehingga penulis telah menyelesaikan skripsi yang berjudul “**Studi *One-health* dengan Pendekatan *In Silico* Fibrinogen-binding Protein A (FbsA) *Streptococcus agalactiae* Asal Ikan dan Kasus Klinis Manusia,**” sebagai salah satu syarat untuk meraih gelar Sarjana Sains.

Penulis menyadari bahwasanya skripsi ini tidak akan terselesaikan dan jauh dari kata sempurna jika tidak adanya dukungan, arahan, bimbingan, motivasi dan saran dari berbagai pihak. Maka dari itu, pada kesempatan ini, penulis ingin mengucapkan terima kasih sebesar-besarnya kepada:

1. Ibu Dra. Endang Linirin Widiastuti, M.Sc., P.hD., selaku Dosen Pembimbing I yang telah memberikan ilmu, bimbingan, nasihat, serta saran kepada penulis dalam proses penelitian dan penyusunan skripsi;
2. Bapak Wawan Abdullah Setiawan, S.Si., M.Si., selaku Dosen Pembimbing II sekaligus Dosen Pembimbing Akademik yang telah memberikan dukungan, saran, ilmu, serta senantiasa mendoakan penulis untuk tetap semangat dalam penyusunan skripsi ini. Semoga kebaikan akan selalu hadir kepada beliau;

3. Bapak Favorisen Rosyking Lumbanraja, S.Kom., M.Si., P.hD., selaku Dosen Pembahas skripsi yang telah memberikan ilmu, bimbingan, nasihat, serta saran kepada penulis dalam proses penelitian dan penyusunan skripsi;
4. Ibu Prof. Dr. Ir. Lusmeilia Afriyani, S.T., D.E.A., IPM., ASEAN.Eng. selaku Rektor Universitas Lampung;
5. Bapak Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si., selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung;
6. Bapak Dr. Jani Master., M.Si., selaku Ketua Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung;
7. Ibu Gina Dania Pratami, S.Si., M.Si., selaku Ketua Program Studi S1 Biologi Terapan, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung;
8. Bapak Ibu dosen Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung yang tidak bisa disebutkan namanya satu per satu, penulis mengucapkan terima kasih banyak atas ilmu, motivasi, arahan yang diberikan kepada penulis selama penulis mengemban studi di universitas tercinta ini;
9. Kedua orang tua penulis, Bapak Matyadi dan Ibu Ami Sulami yang senantiasa mendoakan, memberikan saran, serta memberikan dukungan kepada penulis sehingga penulis dapat mencapai tahap ini;
10. Kakak pertama penulis, Mba Resty Faraditasari yang selalu mendoakan serta memberi dukungan kepada penulis untuk selalu semangat dalam menjalani perkuliahan;
11. Aa Rifky Rizkiantino, yang merupakan kakak kedua penulis, penulis sangat berterima kasih banyak kepada beliau yang telah memberikan fasilitas yang penulis butuhkan demi kelancaran dalam menggapai mimpi penulis;
12. Bapak Eko Susilo dan Ibu Setyawati Mustama, yang juga senantiasa mendoakan, memberikan dukungan, serta nasihat kepada penulis ketika penulis mendapatkan kesulitan;

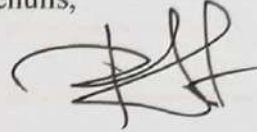
13. Teman-teman KKN Kampung Tanjung Jaya, Muhammad Zhafran, Wahyu Apria Ningsih, Salsabila Adna, Aulia Kartika, Gabriella Ocha, dan M. Brilliant Bagusonny yang telah saling memberikan dukungan dalam penyusunan skripsi ini;
14. Teman Selebrasi Apa Lagi, Wulan Meri Susanti dan Arzirana Asharba Bayzoni, yang telah memberikan nasihat, dukungan, bantuan, dan semangat serta ikhlas dalam mendengarkan keluh kesah penulis selama perkuliahan dan penyusunan skripsi ini;
15. Agung Setiawan dan Resya Tamara Agustin yang telah memberikan semangat dan dukungan kepada penulis selama menjalani tahapan skripsi ini;
16. Nofa Dwitasari, teman baik penulis, yang telah memberikan nasihat dan arahan serta ikhlas membantu penulis dalam melewati tahapan skripsi;
17. Muhammad Febriansyah, R Fadly Bayu Dwiwoga, dan Alchaves Nugraha Putra yang telah membantu penulis dalam penyusunan skripsi;
18. Handyta, Alvina, Aliya, Ketrin, Aina, Siti, Lutfiyah, teman baik penulis, yang sudah membantu selama penyusunan skripsi ini;
19. Adik-adik *online* penulis, Abe Cekut, Farel adiknya Abang Pororo, dan Ritsuki yang telah menghibur penulis ketika penulis merasa jenuh dalam penyusunan skripsi ini;
20. Mas Ahmad Dekatama (*pasming based*), selaku idola penulis, yang telah memberikan motivasi kepada penulis serta menemani penulis selama penyusunan skripsi ini melalui *DJ music playlist* yang dibuatnya pada *platform* Spotify.

Ucapan terima kasih juga disampaikan kepada semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu-satu atas semua bantuan selama penyusunan skripsi berlangsung sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Semooga Allah *Subhanahu wa ta'ala* senantiasa memberikan rahmat dan karunia-Nya kepada kita semua.

Akhir kata, semoga dengan ditulisnya skripsi ini dapat dimanfaatkan sebagaimana mestinya bagi semua pihak, dan juga berguna bagi penulis khususnya dan pembaca pada umumnya.

Bandar Lampung, 26 Juli 2024

Penulis,

A handwritten signature in black ink, consisting of several loops and strokes, representing the author's name.

**Rifaldi Iqbal Yadiansyah**

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>ABSTRAK</b> .....	ii
<b>LEMBAR PENGESAHAN</b> .....	vi
<b>SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI</b> .....	vii
<b>RIWAYAT HIDUP</b> .....	vi
<b>PERSEMBAHAN</b> .....	ix
<b>MOTTO</b> .....	x
<b>UCAPAN TERIMA KASIH</b> .....	xi
<b>DAFTAR ISI</b> .....	iv
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xvi
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xvi
<b>I. PENDAHULUAN</b> .....	1
1.1. Latar Belakang .....	1
1.2. Tujuan Penelitian .....	4
1.3. Manfaat Penelitian .....	4
1.4. Kerangka Pikir .....	5
<b>II. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	7
2.1. <i>Streptococcus</i> Grup B (SGB): Deskripsi dan Kasus Infeksi.....	7
2.2. Konsep <i>One-health</i> .....	10
2.3. Protein Faktor Virulensi SGB .....	13



2.3.1. <i>Fibrinogen-binding Protein A (FbsA)</i> .....	15
2.4. Struktur dan Fungsi Fibrinogen .....	16
<b>III. METODOLOGI PENELITIAN</b> .....	18
3.1. Waktu dan Tempat Penelitian .....	18
3.2. Alat dan Bahan .....	18
3.3. Diagram Alir .....	21
3.4. Prosedur Kerja .....	22
3.4.1. Preparasi Sampel .....	22
3.4.2. Penyejajaran MUSCLE Sekuen Asam Amino .....	22
3.4.3. Prediksi Struktur Tiga Dimensi dan Validasi dengan Plot Ramachandran .....	23
3.4.5. Penambatan Molekul .....	24
<b>IV. HASIL DAN PEMBAHASAN</b> .....	28
4.1. Hasil .....	28
4.1.1. Penyejajaran Sekuen Asam Amino .....	28
4.1.2. Prediksi Struktur Tiga Dimensi .....	29
4.1.3. Penambatan Molekul ( <i>Molecular Docking</i> ) .....	36
4.2. Pembahasan .....	45
<b>V. KESIMPULAN DAN SARAN</b> .....	43
5.1. Kesimpulan .....	43
5.2. Saran .....	50
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	51
<b>LAMPIRAN</b> .....	60

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Gen faktor virulensi <i>Streptococcus agalactiae</i> .....	13
2. Matriks alur jadwal kegiatan penelitian .....	18
3. Pengurangan residu pada struktur 3GHG .....	25
4. Profil residu-residu asam amino protein FbsA SGB .....	35
5. Representasi hasil dua dimensi interaksi protein FbsA SGB asal ikan dengan rantai G molekul fibrinogen manusia.....	44
6. Representasi hasil dua dimensi interaksi protein FbsA SGB asal ikan dengan rantai H molekul fibrinogen manusia.....	44
7. Representasi hasil dua dimensi interaksi protein FbsA SGB asal ikan dengan rantai I molekul fibrinogen manusia .....	45

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Bakteri <i>Streptococcus agalactiae</i> yang dilihat dari <i>Scanning Electron Microscope</i> .....	7
2. Sistem <i>one-health</i> .....	10
3. Struktur tiga dimensi molekul fibrinogen .....	17
4. Diagram alir penelitian.....	21
5. Contoh bentuk format FASTA dan PDB .....	22
6. Hasil penyejajaran sekuen asam amino dari FbsA SGB asal ikan dan kasus klinis manusia .....	28
7. Plot Ramachandran protein FbsA SGB asal ikan .....	31
8. Struktur tiga dimensi protein FbsA SGB asal ikan .....	34
9. Hasil ClusPro penambatan molekul protein FbsA SGB asal ikan dengan rantai fibrinogen manusia .....	37
10. Hasil visualisasi LigPlot+ residu yang terjadi pada interaksi antara protein FbsA SGB asal ikan dengan rantai G molekul fibrinogen manusia .....	41
11. Hasil visualisasi LigPlot+ residu yang terjadi pada interaksi antara protein FbsA SGB asal ikan dengan rantai H molekul fibrinogen manusia .....	42
12. Hasil visualisasi LigPlot+ residu yang terjadi pada interaksi antara protein FbsA SGB asal ikan dengan rantai I molekul fibrinogen manusia.....	43

## I. PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang

*Streptococcus agalactiae* merupakan bakteri Gram positif yang berbentuk bulat (kokus) dan termasuk ke dalam *Streptococcus* Grup B (SGB) berdasarkan pengelompokan yang dilakukan oleh Lancefield (Raabe dan Shane, 2019). Berdasarkan tipe *capsular polysaccharide* (cps) yang dimiliki oleh SGB, dikenal kelompok SGB dengan 10 serotipe yang berbeda, yaitu Ia, Ib, dan II sampai IX dimana serotipe Ia, III, dan V umum ditemui sebagai kasus penyakit. Penggunaan *multilocus sequence types* (MLST) menjadikan SGB dapat diklasifikasikan lebih lanjut. Sekarang ini telah diketahui terdapat 134 tipe sekuen SGB berdasarkan MLST (Chaguza *et al.*, 2022). Metode MLST menguji profil alel dari tujuh *conserved genes* dan mengelompokkan SGB ke dalam tipe sekuen atau *sequence type* (ST) tertentu (Korir *et al.*, 2014).

Berdasarkan tipe sekuennya, terdapat beberapa SGB yang hanya dapat menginfeksi manusia atau hanya menginfeksi hewan, bahkan dapat menginfeksi keduanya. Diketahui bakteri ini menjadi masalah kesehatan di Amerika Serikat dan Eropa. SGB dapat menyebabkan meningitis, septicemia, dan pneumonia pada kasus bayi baru lahir, baik infeksi *intrapartum* atau *postpartum*, yang mana bakteri ini berkolonisasi pada usus wanita hamil (Meyn *et al.*, 2009). Wang *et al.*, (2022) menambahkan SGB juga dapat menyebabkan endokarditis. Studi saat ini menunjukkan bahwa SGB juga diketahui sebagai patogen pada orang dewasa, baik pada laki-laki maupun wanita yang tidak sedang mengandung (Aiewsakun

*et al.*, 2022). SGB juga dilaporkan menjadi patogen yang penting dalam menyebabkan penyakit pada hewan, salah satunya terjadi pada hewan akuatik, seperti ikan nila (*Oreochromis sp.*) (Aiewsakun *et al.*, 2022; Leal *et al.*, 2019; Delannoy *et al.*, 2013). Pada ikan, SGB dapat menyebabkan meningoencephalitis dan septicemia (Alazab *et al.*, 2022).

SGB dengan tipe sekuen 283 atau *sequence type* 283 (ST283), termasuk ke dalam serotipe III, dinyatakan sebagai jenis yang umum dalam menyebabkan penyakit invasif pada manusia di daerah Asia Tenggara dan Hongkong, dengan kasus pertama tercatat terjadi pada tahun 1995 (Ip *et al.*, 2006; Ip *et al.*, 2016). SGB ST283 memiliki kemampuan dalam menginfeksi manusia dan hewan (zoonosis). Pada pertengahan tahun 2015, telah terjadi wabah SGB ST283 pada manusia di Singapura. Dilaporkan bahwa pasien laki-laki dan wanita yang tidak sedang mengandung terinfeksi ST283 setelah mengonsumsi ikan mentah (Rejendram *et al.*, 2016). Laporan terbaru datang dari Malaysia, ditemukan dua kasus infeksi SGB ST283 yang penularannya diasosiasikan dengan konsumsi pangan, berupa ikan (Zohari *et al.*, 2023). Indonesia sendiri belum memiliki kasus infeksi SGB ST283 yang dilaporkan. Akan tetapi hal ini tidak menutup kemungkinan, Indonesia akan dapat mengalami kejadian kasus dari infeksi ST283. Barkham *et al.*, (2019) mengungkapkan bahwa *fish-borne* ST283 mungkin menjadi masalah kesehatan regional dan menyebabkan penyakit di negara Asia Tenggara.

Berdasarkan fenomena tersebut, dapat dilihat bahwa telah terjadi ketidakseimbangan pada konsep *one-health*. Konsep *one-health* menunjukkan adanya keterkaitan antarsatu sama lain, antara kesehatan manusia, hewan, dan lingkungan (Cuoto *et al.*, 2020). Pada awalnya, konsep *one-health* lahir dari sebuah studi terpadu zoonosis. Kasus SGB ST283 memberikan bukti nyata terkait kasus zoonosis. Sanitasi menjadi dasar ilmu pengetahuan untuk menjaga keseimbangan konsep *one-health* (Cuoto *et al.*, 2020; Garcia *et al.*, 2020). Jika

sanitasi ini tidak diperhatikan, penyakit infeksius yang bersifat zoonosis akan terjadi, layaknya fenomena yang telah terjadi pada beberapa negara yang telah melaporkan kasus *fish-borne* ST283 ini.

Dalam menginfeksi sel inang, SGB mengandalkan faktor virulensi berupa protein yang dimilikinya. Rejendram *et al.*, (2016) mengungkapkan bahwa SGB ST283 memiliki kesamaan dalam hal profil gen faktor virulensi, baik SGB yang menginfeksi ikan maupun manusia. Dalam menginfeksi inangnya, SGB melibatkan proses yang kompleks. Sebagai protein faktor virulensi, *Fibrinogen-binding Protein A* (FbsA) SGB berinteraksi dengan fibrinogen dan berperan besar dalam proses adhesi terhadap sel inang serta sebagai sistem pertahanan dari sistem imun (Schubert *et al.*, 2002).

Fibrinogen merupakan heksamer glikoprotein dengan berat 340 kDa yang tersusun atas dua rantai alfa ( $A\alpha$ ), beta ( $B\beta$ ), dan gamma ( $\gamma$ ) (Vottero *et al.*, 2023). Protein ini dikenal fungsinya dalam memediasi pembekuan darah pada lokasi terjadinya luka, yaitu memecahnya menjadi fibrin dengan bantuan trombin (Thomas *et al.*, 2019). Fibrinogen juga diketahui berpartisipasi dalam aktivasi sistem imun bawaan (Luyendyk *et al.*, 2019). Hal ini ditunjukkan adanya penghambatan dalam aktivasi ikatan faktor komplemen C3b dengan memblokir jalur komplemen alternatif (Whitnack *et al.*, 1984; Whitnack dan Beachey, 1985; Lee *et al.*, 2004). Hal ini akan berakibat fatal, khususnya pada bayi yang dikandung oleh wanita hamil. Bayi akan mudah terinfeksi SGB, karena sistem imun komplemen menjadi tidak aktif, sedangkan bayi sangat mengandalkan sistem imun bawaan yang bersifat non-spesifik tersebut dalam menghadapi suatu infeksi pascakelahiran dengan kondisi imunitas yang sangat terbatas (Cuenca *et al.*, 2013; Schubert *et al.*, 2002).

Profil protein FbsA SGB yang berasal dari dua inang berbeda (manusia dan ikan) serta profil interaksi protein FbsA SGB dengan fibrinogen masih memiliki

keterbatasan informasi. Maka dari itu, studi *one-health* terkait pencarian data karakteristik protein FbsA SGB dan bagaimana interaksi molekul antara protein FbsA SGB asal kasus klinis manusia dan ikan dengan fibrinogen manusia perlu dilakukan guna menambah khasanah pengetahuan terkait kasus zoonosis infeksi SGB dan untuk melengkapi celah studi terkait interaksi SGB yang berasal dari dua jenis inang yang berbeda namun dapat menimbulkan penyakit dan gejala klinis yang sama.

## **1.2. Tujuan Penelitian**

Adapun tujuan dilakukannya penelitian ini yaitu

1. melihat kemiripan profil protein FbsA SGB yang berasal dari dua jenis inang berbeda (manusia dan ikan);
2. mengetahui profil protein FbsA SGB dengan melihat jenis-jenis residu asam amino yang membentuk protein FbsA SGB;
3. mengeksplorasi lokasi ikatan yang terjadi dalam interaksi protein FbsA SGB dengan fibrinogen manusia;
4. mengetahui secara lanjut mengenai residu dan jenis ikatan yang terbentuk dalam interaksi protein FbsA SGB dengan fibrinogen manusia.

## **1.3. Manfaat Penelitian**

Adapun manfaat dilakukannya penelitian ini yaitu

1. Menambah khasanah pengetahuan bagi pakar kesehatan masyarakat atau epidemiologi dalam mengendalikan kasus zoonosis yang berasal dari infeksi SGB;
2. Melengkapi celah studi terkait interaksi SGB yang berasal dari dua jenis inang yang berbeda namun dapat menimbulkan penyakit dan gejala klinis yang sama.

#### 1.4. Kerangka Pikir

*Streptococcus agalactiae* merupakan bakteri Gram positif yang tergolong ke dalam *Streptococcus* Grup B (SGB). SGB berperan penting sebagai agen penyakit pada manusia dan hewan. SGB dapat menyebabkan meningitis, pneumonia, dan septicemia pada kasus bayi baru lahir, serta endokarditis pada orang dewasa. Diketahui bahwa SGB juga menjadi patogen penting pada hewan, yang mana infeksi SGB juga dapat menimbulkan gejala klinis yang sama seperti pada manusia.

SGB dengan tipe sekuen atau *sequence type* (ST) 283 dilaporkan dapat menginfeksi hewan dan manusia. Pada tahun 2015, SGB ST283 telah menjadi wabah yang menginfeksi manusia di Singapura. Kasus terbaru dilaporkan dari negara Malaysia yang mana ditemukan dua kasus infeksi SGB ST283 pada manusia. Penularan kasus tersebut dihubungkan dengan adanya asosiasi dari konsumsi pangan asal hewan berupa ikan mentah.

Kasus infeksi SGB ST283 membuktikan bahwa mengonsumsi pangan asal hewan berupa ikan mentah dapat mengakibatkan meluasnya penularan penyakit. Hingga saat ini, Indonesia masih belum terdapat laporan terkait kasus infeksi akibat SGB ST283, terutama pada manusia. Akan tetapi, hal ini tidak menutup kemungkinan akan adanya kasus pertama infeksi SGB ST283 pada manusia dengan penularannya melalui pangan asal hewan, terutama ikan. Ikan nila (*Oreochromis* sp.) menjadi salah satu agen yang dapat menularkan SGB ST283 ini karena ikan nila sendiri merupakan salah satu komoditas budidaya yang sering dikonsumsi oleh masyarakat Indonesia.

Kasus infeksi SGB ST283 memperlihatkan adanya ketidakseimbangan pada sistem *one-health*. Konsep *one-health* sendiri merujuk pada keseimbangan antara kesehatan manusia, hewan, dan lingkungan. Kasus-kasus yang muncul, baik pada



manusia maupun ikan memperlihatkan bahwa penyebaran penyakit infeksi akibat SGB ST283 merupakan salah satu potensi zoonosis yang berasal dari hewan akuatik. Hal ini sebagai salah satu penyakit dari 60% kasus penyakit infeksi pada manusia yang bersifat zoonosis. Maka dari itu, memahami terkait mekanisme penularan zoonosis dari hewan ke manusia merupakan hal yang penting dan harus dilakukan agar dapat mengontrol penyebaran zoonosis secara efektif dan tepat.

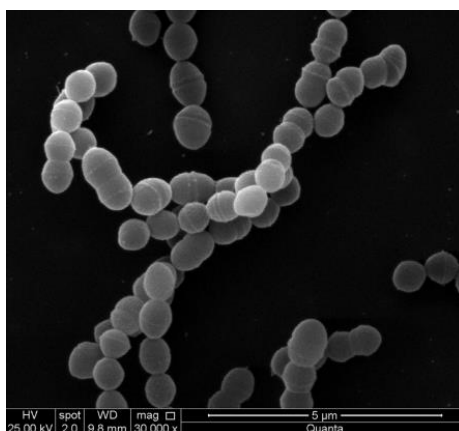
Studi *one-health* menjadi sebuah pendekatan yang dapat dilakukan untuk mengendalikan penyebaran kasus penyakit infeksi, salah satunya yang disebabkan oleh patogen asal hewan. Mempelajari dari sisi molekuler merupakan hal yang dapat dilakukan dalam studi *one-health*. Dengan melihat dari sisi molekulernya, akan banyak informasi yang diperoleh terkait penyakit infeksi tertentu, seperti penyebab dan mekanisme patogenesis suatu penyakit, serta mengetahui cara transmisi penyakit infeksi tertentu.

Dalam menginfeksi inangnya, SGB mengandalkan protein faktor virulensi yang dimilikinya. Salah satu gen faktor virulensi SGB adalah *Fibrinogen-binding protein A (FbsA)*. Studi *one-health* dapat dilakukan melalui protein FbsA ini, yaitu dengan menggunakan pendekatan *in silico*. Profil gen faktor virulensi dari SGB ST283 diduga memiliki kesamaan antara isolat yang berasal dari ikan dan manusia. Namun, studi terkait data maupun profil gen faktor virulensi antara SGB asal ikan dan manusia masih terbatas. Maka dari itu, studi *one-health* dari sisi molekuler masih perlu dilakukan untuk melihat bagaimana profil terkait gen protein faktor virulensi dari SGB asal ikan dan manusia menjadi faktor penting dalam proses mekanisme infeksi di kedua inang yang berbeda dan terpisah jauh berdasarkan filogenetiknya ini.

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1. *Streptococcus* Grup B (SGB): Deskripsi dan Kasus Infeksi

Berdasarkan uji serologis, *Streptococcus* diklasifikasikan ke dalam beberapa kelompok. Klasifikasi ini didasarkan atas ekspresi antigen karbohidrat yang unik di dinding sel bakteri (Sorge *et al.*, 2014). Pada tahun 1930-an, Lancefield mengisolasi bakteri streptokokal dari sampel susu dan sapi yang mengalami *bovine mastitis*. Hasil tersebut menunjukkan adanya diferensiasi kelompok bakteri streptokokal dimana kelompok itu saat ini dikenal sebagai *Streptococcus* Grup B (SGB) (Raabe dan Shane, 2019).



**Gambar 1.** Bakteri *Streptococcus agalactiae* yang dilihat dari *Scanning Electron Microscope* (Nagao, 2015).

*Streptococcus agalactiae* atau SGB merupakan bakteri yang termasuk ke dalam genus *Streptococcus*. SGB memiliki bentuk kokus yang berkapsul, Gram positif, non-motil, serta tersusun berpasangan dan berantai (Gambar 1). SGB juga merupakan bakteri anaerob fakultatif. Isolat SGB pada manusia dari kasus klinis, kebanyakan bersifat beta-hemolitik pada media agar darah domba (*Sheep Blood Agar*) (FAO, 2021). Berdasarkan tipe *capsular polysaccharide* (cps) yang dimiliki oleh SGB, dikenal kelompok SGB dengan 10 serotipe yang berbeda, yaitu Ia, Ib, dan II sampai IX dimana serotipe Ia, III, dan V umum ditemui sebagai kasus penyakit. Penggunaan *multilocus sequence types* (MLST) menjadikan SGB dapat diklasifikasikan lebih lanjut. Metode ini menguji profil alel dari tujuh *conserved genes* dan mengelompokkan SGB ke dalam tipe sekuen atau *sequence type* (ST) tertentu (Korir *et al.*, 2014).

*Streptococcus agalactiae* merupakan bakteri yang masuk ke dalam SGB. *Streptococcus agalactiae* ST283 (SGB ST283) termasuk ke dalam SGB serotipe III, dan *multilocus sequence type* (MLST) 283 (ST283) (Barkham *et al.*, 2019). *Streptococcus agalactiae* atau SGB sering ditemukan pada infeksi bayi baru lahir atau dikenal *newborn infection*. Hal ini menjadi masalah kesehatan masyarakat yang signifikan di Amerika Serikat dan Eropa sejak pertengahan abad ke-20 (Aiewsakun *et al.*, 2022).

Dilaporkan bahwa SGB membentuk koloni di saluran vagina pada wanita asimtomatik, namun patogenisitasnya belum dijabarkan hingga tahun 1938. Hingga pada tahun 1960-an, muncullah penyakit invasif yang disebabkan oleh SGB yang mana kasus infeksi ditemukan pada orang dewasa dan bayi baru lahir (neonatal). Kasus penyakit invasif SGB ini terus berlanjut hingga mengalami peningkatan, serta menjadi patogen penting pada bayi dan orang dewasa (Aiewsakun *et al.*, 2022).

Infeksi neonatal biasanya menimbulkan septicemia, pneumonia, dan meningitis. Kondisi tersebut dapat terjadi pada infeksi *intrapartum* dan *postpartum* yang mana bakteri ini membentuk koloni pada usus wanita hamil. Akan tetapi, terdapat studi yang menunjukkan bahwa infeksi bakteri ini juga dapat terjadi pada wanita dewasa yang tidak sedang mengandung dan menyebabkan gejala klinis berupa septicemia, meningitis, dan arthritis (Aiewsakun *et al.*, 2022).

SGB telah umum diketahui sebagai patogen pada wanita dewasa yang tidak sedang mengandung. Sedangkan strain SGB ST283, bakteri ini menjadi strain bakteri yang umum sebagai agen penyebab penyakit invasif pada orang dewasa khususnya pada Asia Tenggara dan Hongkong (Aiewsakun *et al.*, 2022). Kasus infeksi invasif ini juga menyerang wanita hamil, terutama di saat periode peripartum. Lebih dari 30 tahun terakhir, SGB telah muncul sebagai penyebab septicemia invasif yang umum pada orang dewasa dengan komorbid, meskipun hal ini jarang ditemukan pada wanita tidak hamil yang sehat (*healthy non-pregnant women*) (FAO, 2021).

Selain menginfeksi manusia, SGB juga dapat menginfeksi hewan dan menjadi patogen yang penting. SGB telah dilaporkan terdapat pada mamalia, reptil, amfibi, ikan bertulang sejati (*bony fish*) dan ikan bertulang rawan (*cartilaginous fish*), tetapi tidak pada spesies burung. Sedangkan SGB ST283 hanya dilaporkan pada manusia, ikan, dan katak (FAO, 2021). SGB ST283 pernah dilaporkan ditemukan pada ikan nila (*Oreochromis sp.*) di Thailand (Dellanoy *et al.*, 2013). Leal *et al.*, (2019) juga melaporkan bahwa kasus infeksi SGB ST283 terjadi pada peternakan ikan nila komersial di Brazil.

Penularan infeksi SGB dari manusia ke manusia, salah satunya dapat terjadi melalui transmisi bakteri dari wanita hamil yang terinfeksi ke bayi yang dikandungnya. Akan tetapi, studi terbaru menjelaskan bahwa infeksi SGB dapat ditularkan melalui konsumsi makanan (*foodborne*). Pada tahun 2015, di

Singapura tepatnya, terjadi sebuah wabah yang disebabkan oleh SGB, khususnya strain ST283 yang mana fenomena ini melibatkan sekitar 146 orang penderita di Singapura. Wabah ini sangat luar biasa karena dua alasan, yaitu wabah ini menjadi wabah bawaan akibat pangan (*foodborne outbreak*) yang pertama kali tercatat sebagai penyakit invasif yang disebabkan oleh SGB, dan yang menyebabkan penyakit invasif pada orang dewasa yang sehat. Wabah ini terjadi karena masyarakat telah mengonsumsi makanan berupa ikan air tawar mentah (*raw freshwater fish*) (Rajendram *et al.*, 2016). Kasus terbaru datang dari negara Malaysia, dilaporkan bahwa terdapat dua kasus infeksi SGB ST283 yang terjadi pada manusia, yang mana penularan infeksi ini berasosiasi dengan pangan yang dikonsumsi (Zohari *et al.*, 2023).

## 2.2. Konsep *One-health*

Konsep *one-health* menjelaskan bahwa adanya sebuah keterkaitan antar satu sama lain dalam hal kesehatan, yaitu antara kesehatan manusia, hewan, dan lingkungan (Cuoto *et al.*, 2020). Gambar 2 merepresentasikan asosiasi antara kesehatan manusia, hewan, dan lingkungan. Berdasarkan kasus infeksi SGB ST283, kasus tersebut menjelaskan bahwa adanya ketidakseimbangan dalam sistem *one-health*. Pada kasus ini, terdapat hal yang perlu diperhatikan, seperti kesehatan hewan yang akan dikonsumsi serta penerapan sanitasi.



**Gambar 2.** Sistem *one-health* (Ilustrasi Penulis).

Pangan yang berasal dari hewan memiliki peranan yang penting dalam konteks *one-health*. Hewan memberikan sumber protein dan mikronutrien yang sangat berguna dalam diet seimbang (*balanced diet*) (Couto *et al.*, 2020). Akan tetapi, jika kesehatan hewan serta penerapan sanitasi yang tidak diperhatikan, hal tersebut akan berujung pada gangguan kesehatan manusia yang mengonsumsi pangan asal hewan tersebut. Saat ini, mikroba dapat menyebar ke seluruh dunia lebih cepat dari pada waktu inkubasinya. Pangan menjadi salah satu kendaraan dalam hal penularan penyakit. Ketika mempelajari terkait penyakit yang ditularkan melalui pangan, hal ini berarti patogen baru yang ditularkan melalui pangan juga harus dipelajari. Maka dari itu, keamanan pangan menjadi hal yang semakin penting dan menjadi keharusan untuk dipahami dalam mendukung kesehatan masyarakat secara global (King, 2012).

Kasus infeksi SGB ST283 membuktikan bahwa mengonsumsi pangan asal hewan berupa ikan mentah dapat mengakibatkan meluasnya penularan penyakit. Hingga saat ini, Indonesia masih belum terdapat laporan terkait kasus infeksi akibat SGB ST283, terutama pada manusia. Akan tetapi, hal ini tidak menutup kemungkinan akan adanya kasus pertama infeksi SGB ST283 pada manusia dengan penularannya melalui pangan asal hewan, terutama ikan. Ikan nila (*Oreochromis sp.*) menjadi salah satu agen yang dapat menularkan SGB ST283 ini karena ikan nila sendiri merupakan salah satu komoditas budidaya yang sering dikonsumsi oleh masyarakat Indonesia (Kurniawan *et al.*, 2023). Hal ini didukung karena adanya laporan bahwa SGB ST283 telah diisolasi dari ikan nila (*Oreochromis sp.*) di Thailand dan Brazil (Dellanoy *et al.*, 2013; Leal *et al.*, 2019). Selain itu, Barkham *et al.*, (2019) juga mengungkapkan bahwa *fish-borne* ST283 mungkin menjadi masalah kesehatan regional dan menyebabkan penyakit di negara Asia Tenggara.

Kasus-kasus yang muncul, baik pada manusia maupun ikan memperlihatkan bahwa penyebaran penyakit infeksi akibat SGB ST283 merupakan salah satu potensi zoonosis yang berasal dari hewan akuatik. Hal ini sebagai salah satu penyakit dari 60% kasus penyakit infeksi pada manusia yang bersifat zoonosis. Zoonosis merupakan sebuah fenomena penyakit atau infeksi yang dapat terjadi karena adanya transmisi agen infeksi dari hewan ke manusia atau sebaliknya (Rahman *et al.*, 2020). Maka dari itu, memahami terkait mekanisme penularan zoonosis dari hewan ke manusia merupakan hal yang penting dan harus dilakukan agar dapat mengontrol penyebaran zoonosis secara efektif dan tepat (Massengo *et al.*, 2023).

Studi *one-health* menjadi sebuah pendekatan yang dapat dilakukan untuk mengendalikan penyebaran kasus penyakit infeksi, salah satunya yang disebabkan oleh patogen asal hewan. Mempelajari dari sisi molekuler merupakan hal yang dapat dilakukan dalam studi *one-health*. Dengan melihat dari sisi molekulernya, akan banyak informasi yang diperoleh terkait penyakit infeksi tertentu, seperti penyebab dan mekanisme patogenesis suatu penyakit, serta mengetahui cara transmisi penyakit infeksi tertentu (Eyboosh *et al.*, 2017).

Profil gen faktor virulensi dari SGB ST283 diduga memiliki kesamaan antara isolat yang berasal dari ikan dan manusia. Namun, studi terkait data maupun profil gen faktor virulensi antara SGB asal ikan dan manusia masih terbatas. Maka dari itu, studi *one-health* dari sisi molekuler masih perlu dilakukan untuk melihat bagaimana profil terkait gen protein faktor virulensi dari SGB asal ikan dan manusia menjadi faktor penting dalam proses mekanisme infeksi di kedua inang yang berbeda dan terpisah jauh berdasarkan filogenetiknya ini.

### 2.3. Protein Faktor Virulensi SGB

Dalam menginfeksi sel inangnya, SGB menggunakan faktor virulensi yang dimilikinya. Terdapat lebih dari dua puluh faktor virulensi yang terlibat dalam patogenesis SGB, termasuk adhesin, enzim, karbohidrat, dan protein lainnya. Setiap faktor virulensi memiliki target jaringan yang berbeda-beda dalam memediasi kolonisasi SGB (Liu & Liu, 2022). Profil gen faktor virulensi dapat diklasifikasikan ke dalam tiga kategori, yaitu *adhesins*, *invasins*, dan *immune-evasins* (Syuhada *et al.*, 2020). Tabel 1 menunjukkan jenis dari protein faktor virulensi SGB beserta fungsi dan karakteristik.

**Tabel 1.** Gen faktor virulensi *Streptococcus agalactiae* (Koriri *et al.*, 2014; Schubert *et al.*, 2004; Bolduc *et al.*, 2002)

Kategori	Gen	Produk	Fungsi/Karakteristik
Penempelan pada sel inang ( <i>attachment</i> )	<i>srr</i>	<i>Serine-rich repeat protein</i>	Adhesin permukaan; terdapat dua varian, yaitu <i>srr1</i> dan <i>srr2</i> (Spesifik terhadap ST17).
	<i>bibA</i>	<i>Immunogenic bacterial adhesin</i>	Berikatan dengan <i>human C4-binding protein</i> untuk melawan <i>opsonophagocytosis</i> ; meningkatkan ikatan pada sel epitel.
	<i>hvgA</i>	<i>Hypervirulent adhesin</i>	<i>SGB</i> Homolog dengan <i>bibA</i> ; terjadi pada lokus genetik yang sama; spesifik terhadap ST17.
	<i>lrrG</i>	<i>Leucine-rich protein</i>	<i>repeat</i> Berikatan dengan sel epitel dan menimbulkan kekebalan protektif
	<i>lmb</i>	<i>Laminin-binding protein</i>	Mendorong kolonisasi SGB dan translokasi ke dalam darah.



Kategori	Gen	Produk	Fungsi/Karakteristik
	<i>scpB</i>	<i>C5a peptidase</i>	Memecah dan menonaktifkan komplemen serta mendorong pengikatan sel epitel dan fibronektin.
	<i>fbsA</i>	<i>Fibrinogen-binding protein A</i>	Meningkatkan pengikatan <i>Streptococcus agalactiae</i> dengan <i>fibrinogen receptor</i> .
	<i>Bca</i>	<i>Alpha C protein</i>	Berinteraksi dengan permukaan sel epitel
Proses invasi pada tubuh ( <i>invasion</i> )	<i>spb1</i>	<i>Surface protein of SGB</i>	<i>Pilus backbone of pilus island (PI)-2b</i> ; mendorong invasi terhadap sel epitel; spesifik terhadap ST17.
	<i>fbsB</i>	<i>Fibrinogen-binding protein B</i>	Mendorong invasi ke dalam sel epitel.
	<i>cyIE</i>	<i>CyIE protein</i>	Diduga berfungsi sebagai <i>N-acyltransferase</i> pada biosintesis SGB <i>pigment granadaene</i> yang dibutuhkan untuk aktivitas hemolitik/sitolitik pada SGB.
	<i>iagA</i>	<i>Invasion-associated gene</i>	Menambatkan asam lipoteikoat ke membran sel; terlibat dalam invasi otak sel endotel mikrovaskuler.
Lainnya	<i>sip</i>	<i>Surface immunogenic protein</i>	Protein permukaan yang dapat memicu <i>cross-protective immunity</i> .
	<i>ponA</i>	<i>Penicillin-binding protein 1a</i>	Mendorong resistensi terhadap <i>antimicrobial peptides</i> .
	<i>cyIX</i>	<i>CylX protein</i>	Homolog terhadap komponen dari <i>acetyl-CoA carboxylase</i> ; diduga berfungsi dalam biosintesis dari SGB <i>pigment granadaene</i> .

### 2.3.1. Fibrinogen-binding Protein A (FbsA)

*Streptococcus agalactiae* sering ditemukan dalam bentuk koloni di saluran gastrointestinal dan urogenital pada manusia dan sering mengakibatkan pneumonia, septicemia, dan meningitis pada bayi baru lahir (neonatal). Neonatal memperoleh *Streptococcus agalactiae* dari ibu yang cairan amniotiknya telah terinfeksi atau sekresi vagina saat proses melahirkan, yang diikuti dengan penempelan bakteri pada sel epitel paru. Dalam melakukan proses penempelan dengan sel inangnya, *Streptococcus agalactiae* mengandalkan *bacterial surface adhesins* yang dimilikinya. Molekul tersebut akan berikatan dengan komponen plasma inang dan protein matriks ekstraseluler atau *extracellular matrix* (ECM). Pengikatan bakteri dengan sel epitel merupakan prasyarat sebelum bakteri dapat melakukan invasi dan kolonisasi ke jaringan yang lebih dalam (Schubert *et al.*, 2004).

ECM pada jaringan mamalia terdiri dari glikoprotein, termasuk kolagen, laminin, fibronektin, dan fibrinogen, yang mana membentuk struktur makromolekul yang mendasari sel epitel dan endotel (Schubert *et al.*, 2004). Setiap ECM memiliki reseptornya masing-masing. Pada *Streptococcus agalactiae*, *Fibronectin-binding* akan berikatan dengan C5a peptidase (Beckmann *et al.*, 2002). Laminin akan dimediasi oleh Lmb protein (Spellerberg, 1999), dan FbsA dan FbsB akan dimediasi dengan fibrinogen (Gutekunst *et al.*, 2004; Schubert *et al.*, 2002).

Dalam menginfeksi sel inang, FbsA pada SGB akan berikatan dengan fibrinogen. FbsA SGB memiliki 17 wilayah berulang (*repeat regions*), yang mana memiliki konsensus sekuen G-[N/S/T]-V-L-[A/E/M/Q]-R-R-X-[K/R/W]-[A/D/E/N/Q]-[A/F/I/L/V/Y]-X-X-[K/R]-X-X untuk *fibrinogen* (Fg) *binding*. Konsensus sekuen tersebut memiliki lima residu penting yang memfasilitasi struktur dasar untuk *Fg binding*, yaitu N2, V3, L4, R6, dan R7. Peptida VLERRQRDAE dari

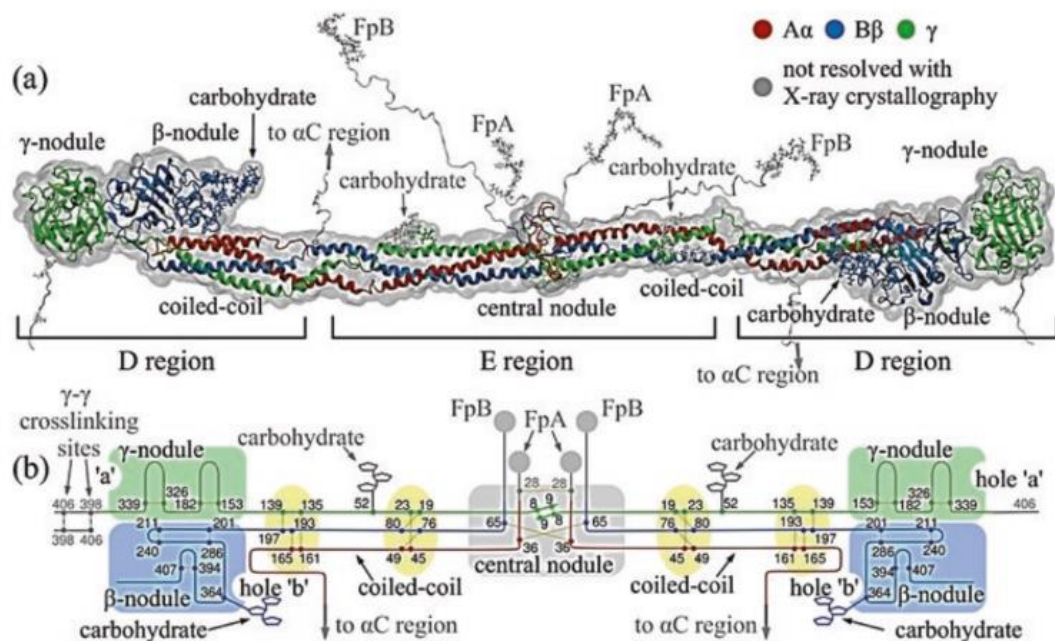
setiap wilayah berulang FbsA membangun struktur *alpha helix* dan wilayah lainnya membentuk *random coils* (Ragunathan dan Ponnuraj, 2011).

#### 2.4. Struktur dan Fungsi Fibrinogen

Fibrinogen merupakan glikoprotein dengan berat 340 kDa yang disusun oleh enam subunit sejenis, yang mana ini dibagi menjadi dua bagian yang seragam. Gambar 3 menunjukkan komposisi dari salah satu bagian fibrinogen, yang mana bagian tersebut terdiri dari rantai alfa ( $A\alpha$ ), Beta ( $B\beta$ ), gamma ( $\gamma$ ) (Vottero *et al.*, 2023; Thomas *et al.*, 2019). Sekitar 66% dari struktur tiga dimensi molekul fibrinogen manusia telah dibentuk dengan menggunakan metode kristalografi sinar-X yang dapat diakses di RCSB Protein Data Bank (PDB) dengan kode 3GHG (Kollman *et al.*, 2009). Sebanyak 29 ikatan disulfida terbentuk pada molekul ini yang berperan dalam menghubungkan keenam subunit yang menyusun molekul fibrinogen (Litvinov *et al.*, 2021). Terdapat beberapa motif yang tidak ternodekan, seperti bagian dari domain  $\alpha C$  dan domain N-terminal rantai  $\beta$  (Vottero *et al.*, 2023; Litvinov *et al.*, 2021; Klikov *et al.*, 2020). Bagian yang tidak termodekan tersebut, telah dimodelkan secara komputasi (Klikov *et al.*, 2020; Zhmurov *et al.*, 2018).

Fibrinogen sangat berperan penting dalam proses pembekuan darah dengan membentuk platelet pada lokasi terjadinya luka. Fibrinogen akan dipecah menjadi fibrin dengan bantuan trombin (Thomas *et al.*, 2019). Fibrinogen memiliki bentuk batang dengan panjang sekitar 45 nm dan terdiri dari dua lateral wilayah D dan sebuah pusat wilayah E. Fibrinogen memiliki fibrinopeptida (Fp) A dan B yang berlokasi di N-terminal dari rantai  $\alpha$  dan  $\beta$  (Wilayah E), masing-masing. FpA dan FpB dipecah oleh trombin sebagai tahap awal proses pembekuan darah (Vottero *et al.*, 2023). Fibrinogen juga diketahui berpartisipasi dalam aktivasi sistem imun bawaan (Luyendyk *et al.*, 2019). Hal ini ditunjukkan adanya penghambatan dalam aktivasi ikatan faktor komplemen C3b dengan

memblokade jalur komplemen alternatif (Whitnack *et al.*, 1984; Whitnack dan Beachey, 1985; Lee *et al.*, 2004). Jika infeksi SGB terjadi pada bayi yang dikandung oleh wanita hamil, bayi akan mudah terinfeksi SGB, karena sistem imun komplemen menjadi tidak aktif, sedangkan bayi sangat mengandalkan sistem imun bawaan yang bersifat non-spesifik tersebut dalam menghadapi suatu infeksi pascakelahiran dengan kondisi imunitas yang sangat terbatas (Cuenca *et al.*, 2013; Schubert *et al.*, 2002).



**Gambar 3.** Struktur tiga dimensi molekul fibrinogen. (a) Rantai  $\alpha$ ,  $\beta$ , dan  $\gamma$  masing-masing ditunjukkan pada warna merah, biru, dan hijau. Warna abu-abu merupakan bagian tidak termodelkan. (b) Struktur digambarkan dengan memperlihatkan residu-residu asam amino (Litvinov *et al.*, 2021).

### III. METODOLOGI PENELITIAN

#### 3.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini telah dilaksanakan selama tiga bulan, terhitung dari bulan Januari sampai Maret 2024 di Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung. Tabel 2 menunjukkan matriks alur jadwal kegiatan penelitian.

**Tabel 2.** Matriks alur jadwal kegiatan penelitian

No	Kegiatan	2023												2024															
		Oktober				November				Desember				Januari				Februari				Maret				April			
		1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
1	Studi literatur	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■																
2	Pengumpulan data																												
3	Penyusunan bab I-III	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■																
4	Penyejajaran Sekuen													■															
5	Prediksi struktur 3d protein													■	■														
6	Penambatan molekul															■	■	■	■	■	■								
7	Analisis hasil																	■	■	■	■	■	■	■	■				
8	Penyusunan bab IV-V																					■	■	■	■	■	■	■	■

#### 3.2. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini terbagi menjadi dua, yaitu piranti keras dan piranti lunak. Piranti keras yaitu perangkat komputer personal dengan

spesifikasi *Intel*® *Core*<sup>™</sup> *i3-3227U CPU @1.90GHz*, *Random Access Memory* (RAM) 8.00 GB, *Solid-state Drive* (SSD) 512 GB, 64-bit *operating system*, sistem operasi *Windows*<sup>™</sup> 10. Sedangkan piranti lunak yang digunakan adalah sebagai berikut:

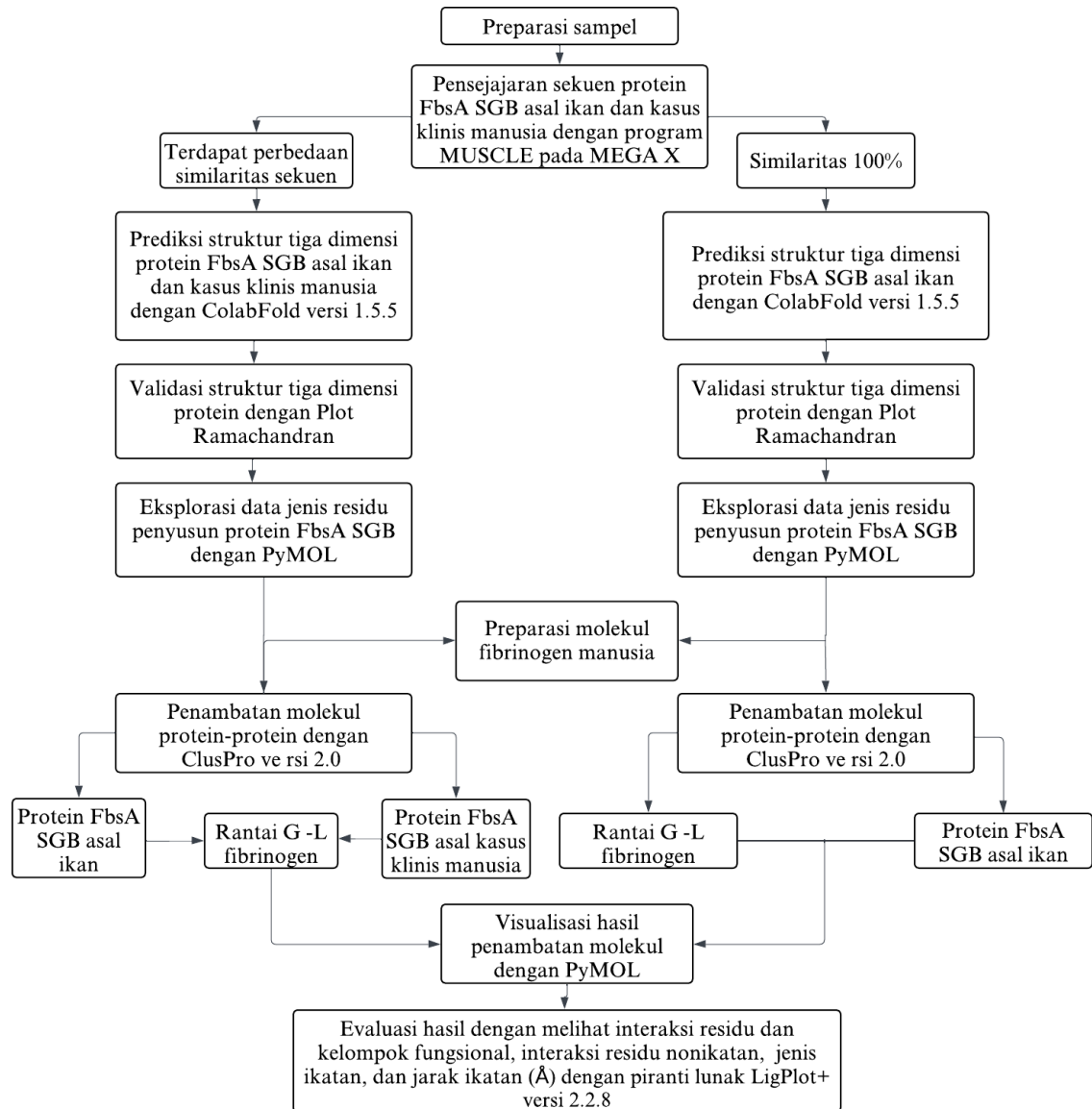
1. *RCSB Protein Data Base* (PDB) (<https://www.rcsb.org/>) untuk mendapatkan struktur tiga dimensi dari molekul fibrinogen manusia;
2. *National Center for Biotechnology Information* (NCBI) (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) untuk mendapatkan sekuen asam amino dari protein FbsA SGB asal ikan dan kasus klinis manusia;
3. Piranti lunak *MEGA X version 10.2.0* digunakan untuk melakukan penyejajaran sekuen asam amino (Kumar *et al.*, 2008);
4. Server *NCBI Multiple Sequence Alignment Viewer* versi 1.25.0 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/msaviewer/>) untuk visualisasi hasil penyejajaran (Yachdav *et al.*, 2016);
5. *ColabFold* versi 1.5.5 (<https://colab.research.google.com/github/sokrypton/ColabFold/blob/main/AlphaFold2.ipynb>) digunakan untuk memprediksi struktur tiga dimensi protein FbsA SGB asal ikan dan kasus klinis manusia (Jumper *et al.*, 2021);
6. Server *UCLA-DOE LAB - SAVES* versi 6.0 dengan program *PROCHECK* (<https://saves.mbi.ucla.edu/>) yang digunakan untuk validasi hasil struktur tiga dimensi protein FbsA SGB asal ikan dan kasus klinis manusia dengan plot ramachandran (Morris *et al.* 1992; Laskowski *et al.*, 1993; Laskowski *et al.*, 1996; Laskowski *et al.*, 2001);
7. Server *ClusPro* versi 2.0 (<https://cluspro.org/login.php>) untuk melakukan penambatan molekul protein-protein (Kozakov *et al.*, 2013; Kozakov *et al.*, 2017; Vajda *et al.*, 2017; Desta *et al.*, 2020).
8. Piranti lunak *BIOVIA Discovery Studio Visualizer version 21.1.0* digunakan dalam preparasi reseptor (Khan *et al.*, 2022)

9. Piranti lunak PyMOL untuk mencari jenis-jenis residu yang membentuk protein FbsA SGB asal ikan dan kasus klinis manusia serta untuk melakukan visualisasi hasil penambatan molekul (The PyMOL Molecular Graphics System, Version 1.2r3pre, Schrödinger, LLC);
10. LigPlot+ *version* 2.2.8 digunakan untuk analisis data dan visualisasi interaksi molekul (Wallace *et al.*, 1995).

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Sekuen asam amino FbsA SGB asal kasus klinis manusia dengan panjang 234 aa (*amino acid*), asal Hongkong, yang dapat diakses dengan kode akses AMQ16627;
2. Sekuen asam amino FbsA SGB asal ikan dengan panjang 234 aa (*amino acid*), asal Singapura, yang dapat diakses dengan kode akses ATZ89387;
3. Molekul fibrinogen manusia (RCSB PDB ID: 3GHG – <https://doi.org/10.2210/pdb3GHG/pdb>).

### 3.3. Diagram Alir



**Gambar 4.** Diagram alir penelitian.



### 3.4. Prosedur Kerja

#### 3.4.1. Preparasi Sampel

Sampel sekuen asam amino dari FbsA SGB asal ikan dan kasus klinis manusia diunduh melalui *data base National Center for Biotechnology Information* (NCBI) yang disimpan dalam bentuk format format FASTA (.FASTA). Sedangkan molekul fibrinogen manusia diunduh melalui *RCSB Protein Data Base* (PDB) dan disimpan dalam bentuk format PDB (.pdb). Contoh bentuk format FASTA dan PDB telah ditunjukkan pada Gambar 5.

3ghg	1/2/2024 4:30 PM	Protein Data Bank File	2,878 KB
Ikan	10/20/2023 11:10 AM	FASTA File	1 KB
Manusia	10/20/2023 11:11 AM	FASTA File	1 KB

**Gambar 5.** Contoh bentuk format FASTA dan PDB. Kotak berwarna merah menunjukkan dokumen yang disimpan dalam format .FASTA, sedangkan kotak berwarna kuning menunjukkan dokumen yang disimpan dalam bentuk format PDB.

#### 3.4.2. Penyejajaran MUSCLE Sekuen Asam Amino

Sampel sekuen asam amino FbsA SGB asal ikan dan kasus klinis manusia yang telah disiapkan, selanjutnya dilakukan penyejajaran sekuen. Tahap ini dilakukan dengan menggunakan piranti lunak MEGA X *version* 10.2.0 dengan program MUSCLE. Keseluruhan parameter diatur dengan program *default*. Hal ini dilakukan guna melihat apakah terdapat perbedaan atau mutasi yang terjadi pada protein FbsA SGB asal ikan dan kasus klinis manusia. Kemudian hasil penyejajaran disimpan dalam format FASTA (.FASTA). Hasil tersebut dilakukan visualisasi dengan memasukkan dokumen hasil penyejajaran dalam

format FASTA (.FASTA) pada server NCBI Multiple Sequence Alignment Viewer versi 1.25.0 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/msaviewer/>).

### 3.4.3. Prediksi Struktur Tiga Dimensi dan Validasi dengan Plot Ramachandran

Prediksi struktur tiga dimensi dilakukan dengan menggunakan AlphaFold pada server ColabFold versi 1.5.5. Menurut Jumper *et al.*, (2021), AlphaFold memiliki tingkat akurasi yang tinggi dalam hal prediksi struktur tiga dimensi protein. Pada studi ini, pemodelan menggunakan num\_relax sebesar 5 dan sisanya diatur dengan program *default*. Model struktur tiga dimensi yang telah dibuat dengan ColabFold akan otomatis terunduh dalam bentuk format .rar. Dalam format tersebut akan berisi lima model *relaxed* dan *unrelaxed*. Model yang dipilih adalah model yang menempati peringkat satu pada model *relaxed* berdasarkan nilai *MSA depth and diversity* dan *Alphafold2 confidence measures* (pLDDT dan PAE) (Mirdita *et al.*, 2022). Model *relaxed* yang dihasilkan oleh program AlphaFold dipilih karena model tersebut sudah dilakukan proses minimalisasi energi (*energy minimization*) secara otomatis sebagai bentuk kondisi protein yang optimal, baik dalam hal jarak maupun energi, dari struktur alamiahnya (Filgueiras *et al.*, 2023).

Model yang dipilih dilakukan validasi struktur dengan menggunakan Plot Ramachandran. Penilaian dengan mengakses server UCLA-DOE LAB – SAVES versi 6.0 (<https://saves.mbi.ucla.edu/>). Plot Ramachandran dilakukan dengan mengevaluasi persentase residu asam amino yang berada di wilayah sangat disukai (kuadran I), wilayah tambahan yang diizinkan (kuadran II), wilayah yang cukup diizinkan (kuadran III), dan wilayah yang tidak diizinkan (kuadran IV). Kualitas model dianggap baik jika residu asam amino yang menempati kuadran I > 90% serta residu nonglisin pada kuadran IV < 15% (Lovell *et al.*, 2003; Ho dan Brasseur, 2005 dalam Rizkiantino, 2022).

#### 3.4.4. Eksplorasi jenis residu penyusun protein FbsA SGB asal ikan dan kasus klinis manusia

Tahap ini dilakukan dengan menggunakan piranti lunak PyMOL. Jenis-jenis residu yang dicari berupa residu bersifat hidrofobik (nonpolar) seperti Glisin (Gly), Alanin (Ala), Valin (Val), Leusin (Leu), Isoleusin (Ile), Metionin (Met), Prolin (Pro), Fenilalanin (Phe), dan Triptofan (Trp), residu bersifat hidrofilik tak bermuatan (polar) seperti Sistein (Cys), Serin (Ser), Treonin (Thr), Tirosin (Tyr), Asparagin (Asp), dan Glutamin (Gln), serta residu bersifat hidrofilik bermuatan (polar) seperti Lisin (Lys), Arginin (Arg), Histidin (His), Asam Aspartat (Asp), dan Asam Glutamat (Glu) (Pelley *et al.*, 2011). Pencarian residu tersebut dilakukan dengan memasukkan kode berikut pada bagian *command line* piranti lunak PyMOL (PyMOLWiki, 2017) :

1. Residu hidrofobik = sele resn gly+ala+val+leu+ile+met+pro+phe+trp
2. Residu hidrofilik tak bermuatan = sele resn cys+ser+thr+tyr+asn+gln
3. Residu hidrofilik bermuatan = sele resn lys+arg+his+asp+glu

#### 3.4.5. Penambatan Molekul

Penambatan molekul dilakukan untuk melihat interaksi molekul antara protein FbsA SGB asal ikan dan kasus klinis manusia dengan fibrinogen manusia. Sebelum melakukan penambatan molekul, dilakukan preparasi reseptor, yaitu fibrinogen manusia. Molekul diunduh melalui *Protein Data Base* (PDB) dengan kode 3GHG. Molekul ini memiliki dua salinan, karena salinan pertama lebih banyak kehilangan residu, maka pada studi ini digunakan salinan kedua, yaitu rantai G-L ( disajikan pada Tabel 3). G dan J merepresentasikan rantai A $\alpha$ , H dan K merepresentasikan rantai B $\beta$ , serta I dan L merepresentasikan

rantai  $\gamma$ . Model kemudian dilakukan preparasi dengan menghilangkan rantai A-F dan penambahan hidrogen polar. Tahap preparasi ini dilakukan dengan menggunakan piranti lunak BIOVIA Discovery Studio Visualizer versi 21.1.0.

**Tabel 3.** Pengurangan residu pada struktur 3GHG (Vottero *et al.*, 2023)

Rantai	Celah N-terminal	Celah C-terminal
A ( $A\alpha$ )	26 residu	362 residu
B ( $B\beta$ )	57 residu	3 residu
C ( $\gamma$ )	13 residu	17 residu
D ( $A\alpha$ )	26 residu	362 residu
E ( $B\beta$ )	57 residu	3 residu
F ( $\gamma$ )	13 residu	16 residu
G ( $A\alpha$ )	26 residu	362 residu
H ( $B\beta$ )	57 residu	3 residu
I ( $\gamma$ )	1 residu	16 residu
J ( $A\alpha$ )	26 residu	350 residu
K ( $B\beta$ )	57 residu	3 residu
L ( $\gamma$ )	4 residu	16 residu

Penambatan molekul dilakukan dengan *blind docking*, menggunakan *server* ClusPro versi 2.0, yang mana dokumen protein FbsA SGB diunggah dalam bentuk format PDB (.pdb) sebagai ligan, sedangkan dokumen molekul fibrinogen manusia diunggah dalam format PDB (.pdb) sebagai reseptor. Hasil penambatan molekul dipilih berdasarkan nilai *balanced score* (Kozakov *et al.*, 2013) serta adanya 16 residu pada wilayah berulang FbsA SGB, terutama residu kritis yang berinteraksi dengan molekul fibrinogen manusia. Konsensus sekuen dari 16 residu tersebut adalah G-[N/S/T]-V-L-[A/E/M/Q]-R-R-X-[K/R/W]-[A/D/E/N/Q]-[A/F/I/L/V/Y]-X-X-[K/R]-X-X, yang mana N2, V3, L4, R6, dan R7 merupakan residu kritis yang terlibat dalam pengikatan fibrinogen (Ragunathan dan Ponnuraj, 2011). Kemudian model terbaik yang telah dipilih,

dilakukan visualisasi dengan menggunakan piranti lunak PyMOL untuk melihat situs ikatan dan dianalisis mengenai residu dan kelompok fungsional yang terlibat, residu nonikatan yang terlibat, ikatan hidrogen, serta jarak ikatan hidrogen ( $\text{\AA}$ ) yang terlibat dengan menggunakan LigPlot+ versi 2.2.8 pada program dimplot.

## V. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1. Kesimpulan

Adapun kesimpulan pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Hasil penyejajaran dengan program MUSCLE menunjukkan sekuen asam amino protein FbsA SGB asal ikan dan kasus klinis manusia menunjukkan kemiripan sebesar 100%;
2. ColabFold memprediksi bahwa struktur protein tiga dimensi FbsA SGB didominasi dengan struktur *alpha helix* dan *random coils* serta disusun oleh 87 residu hidrofobik (nonpolar), 80 residu hidrofilik tak bermuatan (polar), serta 67 residu hidrofilik bermuatan (polar);
3. Server ClusPro versi 2.0 memprediksi bahwa protein FbsA SGB berikatan dengan rantai G, H, I fibrinogen manusia di wilayah D. Pada interaksi protein FbsA SGB dengan rantai H fibrinogen manusia, protein FbsA SGB berikatan pada situs  $\beta_{119-129}$ ;
4. Interaksi kompleks antara FbsA SGB dengan masing-masing rantai fibrinogen manusia menunjukkan interaksi distabilkan oleh ikatan hidrogen, jembatan garam, dan reaksi nonikatan. Interaksi pada seluruh rantai juga menunjukkan adanya residu dari wilayah berulang protein FbsA SGB asal ikan yang berinteraksi dan didominasi oleh kelompok residu kritis. Residu-residu ini terutama terletak pada wilayah residu berulang ke-45 hingga ke-60.

## 5.2. Saran

Adapun saran yang dapat dilakukan berdasarkan hasil penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Berdasarkan hasil penelitian ini, peneliti menyarankan untuk dilakukan prediksi struktur tiga dimensi protein FbsA SGB dengan menggunakan metode kristalografi sinar X, *Nuclear Magnetic Resonance* (NMR), atau *Cryogenic Electron Microscopy* (Cryo-EM) agar dapat dibandingkan dengan hasil pemodelan komputasi protein yang telah dilakukan dalam penelitian ini;
2. Peneliti menyarankan untuk dilakukan simulasi dinamika molekuler menggunakan fasilitas *high performance computing* (HPC) untuk melihat sejauh mana stabilitas interaksi yang terbentuk pada pemodelan kompleks protein FbsA SGB asal ikan dengan fibrinogen manusia;
3. Karena penelitian ini menggunakan parameter default, disarankan untuk mempertimbangkan kembali parameter-parameter yang digunakan di setiap *tools* yang dipakai.

## DAFTAR PUSTAKA

- Anggraini, D., Hasni, D., dan Amelia, R. (2022). Pathogenesis of sepsis. *SCIENA*, 1(4): 332-339.
- Aiewsakun, P., Ruangchai, W., Thawornwattana, Y., Jaemsai, B., Mahasirimongkol, S., Homkaew, A., Suksomchit, P., Dubbs, P., dan Palittapongarnpim, P. (2022). Genomic epidemiology of *Streptococcus agalactiae* ST283 in Southeast Asia. *Sci. Rep.*, 12(4185): 1-14.
- Alazab, A., Sadat, A., dan Younis, G. (2022). Prevalence, antimicrobial susceptibility, and genotyping of *Streptococcus agalactiae* in Tilapia fish (*Oreochromis niloticus*) in Egypt. *Journal of Advanced Veterinary and Animal Research*, 9(1): 95-103.
- Barkham, T., Zadoks, R.N., Azmai, M.N.A., Baker, S., Bich, V.T.N., Chalker, V., Chau, M.L, Dance, D., Deepak, R.N., van Doorn, H.R., Gutierrez, R.A., Holmes, M.A., Huong, L.N.P., Koh, T.H., Martins, E., Mehershahi, K., Newton, P., Ng, L.C., Phuoc, N.N., Sangwichian, O., Sawatwong, P., Surin, U., Tan, T.Y., Tang, W.Y., Thuy, N.V., Turner, P., Vongsouvath, M., Zhang, D., Whistler, T., dan Chen, S.L. (2019). One hypervirulent clone, sequence type 283, accounts for a large proportion of invasive *Streptococcus agalactiae* isolated from humans and diseased tilapia in Southeast Asia. *PLoS Negl. Trop. Dis.*, 13(6): 1-20.
- Baker, J. A., Wong, W. C., Eisenhaber, Warwicker, dan Eisenhaber, F. (2017). Charged residues next to transmembrane regions revisited: “Positive-inside rule” is complemented by the “negative inside depletion/outside enrichment rule”. *BMC Biol*, 15(66): 1-29.
- Beckmann, C., J. D. Waggoner, T. O. Harris, G. S. Tamura, dan C. E. Rubens. (2002). Identification of novel adhesins from group B streptococci by use of



- phage display reveals that C5a peptidase mediates fibronectin binding. *Infect. Immun.*, 70:2869–2876.
- Bolduc, G. R., Baron, M. J., Gravekamp, C., Lachenauer, C. S., dan Madoff, L. C. (2002). The alpha C protein mediates internalization of group B Streptococcus within human cervical epithelial cells. *Cellular microbiology*, 4(11), 751–758.
- Chaguza, C., Jamrozy, D., Bijlsma, M.W., Kuijpers, T.W., van de Beek, D., van der Ende, A., and Bentley, S.D. (2022). Population genomics of Group B Streptococcus reveals the genetics of neonatal disease onset and meningeal invasion. *Nat. Commun.*, 13(1), 4215.
- Cuenca, A. G., Wynn, J. L., Moldawer, L. L., dan Levy, O. (2013). Role of innate immunity in neonatal infection. *Am j Perinatol*, 30(2): 105-112.
- Cuoto, R. D. M., dan Brandespim, D. F. (2020). A review of the one health concept and its application as a tool for policy-makers. *International Journal of One-Health*, 6(1): 83-89.
- Dellanoy, C. M. J., Crumlish, M., Fontaine, M. C., Pollock, J., Foster, G., Dagleish, M. P., Tumbull, J. F., dan Zadoks, R. N. (2013). Human *Streptococcus agalactiae* strains in aquatic mammals and fish. *BMC Microbiology*, 13(41): 1-9.
- Desta, I. T., Porter, K. A., Xia, B., Kozakov, D., dan Vajda, S. (2020). Performance and its limits in rigid body protein-protein docking. *Structure*, 28 (9):1071-1081.
- Edgar R. C. (2004). MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic acids research*, 32(5): 1792–1797.
- Eto, F.S., Fernandes, D. C., Moraes, A. C., Prado, E. J. R., Baldassi, A. C., Manrique, W. G., Silva, I. C., Medeiros, A. S. R., Belo, M. A. A., Balbuena, T. S., Samara, S. I., dan Pizauro, J. M. (2018). Validation of IgY for the diagnosis of Streptococcus agalactiae-caused endocarditis and bacterial meningitis in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Fish and Shellfish Immunology*, 76, 153-160.
- Eybpoosh, S., Haghdoost, A. A., Mostafavi, E., Bahrampour, A., Azadmanesh, K., dan Zolala, F. (2017). Molecular epidemiology of infectious diseases. *Electron Physician*, 9(8): 5149-5158.
- Filgueiras, J. L., Varela, D., dan Santos, J. (2023). Protein structure prediction with energy minimization and deep learning approaches. *Natural computing*, 22, 659-670.

- Food and Agriculture Organization (FAO). (2021). *Risk profile - Group B Streptococcus (GBS) – Streptococcus agalactiae sequence type (ST) 283 in freshwater fish*. Bangkok.
- Garcia, S. N., Osburn, B. I., dan Jay-Russell, M. T. (2020). One health for food safety, food security, and sustainable food production. *Front. Sustain. Food Syst.* 4, 1-9.
- Gilli, P., dan Gilli, G. (2010). Hydrogen bond models and theories: the dual hydrogen bond model and its consequences. *J. Mol. Struct.*, 972, 2-10.
- Gilli, P., Preto, L., Bertolasi, V., dan Gilli, G. (2009). Predicting hydrogen-bond strengths from acid–base molecular properties. the pKa slide rule: toward the solution of a long-lasting problem. *Acc. Chem. Res.*, 42, 33-34.
- Gilli, P., Preto L., dan Gilli, G. (2007). PA/PKa equalization and the prediction of the hydrogenbond strength: a synergism of classical thermodynamics and structural crystallography. *J. Mol. Struct.*, 844-845, 328-339.
- Gowder, S.M., Chatterjee, J., Chaudhuri, T., dan Paul, K. (2014). Prediction and analysis of surface hydrophobic residues in tertiary structure of proteins. *The Scientific World Journal*, 2014:1-7.
- Gutekunst, H., B. E. Eikmanns, dan D. J. Reinscheid. (2004). The novel fibrinogen-binding protein FbsB promotes the invasion of *Streptococcus agalactiae* into epithelial cells. *Infect. Immun.*, 72:3495–3504.
- Hassan, M. M., Sharmin, S., Kim, H. J., dan Hong, S. T. (2021). Identification and characterization of plasmin-independent thrombolytic enzymes. *Circulation research*, 128(3),386–400.
- Holland, T. L., Baddour, L. M., Bayer, A. S., Hoen, B., Miro, J. M., dan Fowler, V. G., Jr (2016). Infective endocarditis. *Nature reviews. Disease primers*, 2, 1-2.
- Ho, B.K., dan Brasseur, R. (2005). The Ramachandran plots of glycine and proline. *BMC Struct. Biol.*, 5, 14.
- Ip, M., Cheuk, E. S., Tsui, M. H., Kong, F., Leung, T. N., dan Gilbert, G. L. (2006). Identification of a *Streptococcus agalactiae* serotype III subtype 4 clone in association with adult invasive disease in Hong Kong. *J. Clin. Microbiol.*, 44, 4252–4254.
- Ip, M., Ang, I., Fung, K., Liyanapathirana, V., Luo, M. J., dan Lai, R. (2016). Hypervirulent clone of group B Streptococcus serotype III sequence type 283, Hong Kong, 1993–2012. *Emerg. Infect. Dis.*, 22, 1800–1803.

- Jumper, J., Evans, R., Pritzel, A., Green, T., Figurnov, M., Ronneberger, O., Tunyasuvunakool, K., Bates, R., Žídek, A., Potapenko, A., Bridgland, A., Meyer, C., Kohl, S. A. A., Ballard, A. J., Cowie, A., Romera-Paredes, B., Nikolov, S., Jain, R., Adler, J., Back, T., Petersen, S., Reiman, D., Clancy, E., Zielinski, M., Steinegger, M., Pacholska, M., Berghammer, T., Bodenstein, S., Silver, D., Vinyals, O., Senior, A. W., Kavukcuoglu, K., Kohli, P., dan Hassabis, D. (2021). Highly accurate protein structure prediction with AlphaFold. *Nature*, 596, 583–589.
- Khan, S. A., Wu, Y., Li, A. S., Fu, X. Q., dan Yu, Z. L. (2022). Network pharmacology and molecular docking-based prediction of active compounds and mechanisms of action of *Cnidii Fructus* in treating atopic dermatitis. *BMC complementary medicine and therapies*, 22(275): 1-14.
- King L. J. (2012). *One Health And Food Safety*. In: Institute of Medicine (US). Improving Food Safety Through a One Health Approach: Workshop Summary. Washington (DC): National Academies Press (US); A8. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK114498/>.
- Klykov, O., van der Zwaan, C., Heck, A. J. R., Meijer, A. B., dan Scheltema, R. A. (2020). Missing regions within the molecular architecture of human fibrin clots structurally resolved by xl-ms and integrative structural modeling. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 117, 1976–1987.
- Korir, M. L., Knupp, D., LeMerise, K., Boldenow, E., Loch-Caruso, R., Aronoff, D. M., dan Manning, S. D. (2014). Association and virulence gene expression vary among serotype III group B streptococcus isolates following exposure to decidual and lung epithelial cells. *Infection and Immunity*, 82(11): 4587-4595.
- Kozakov, D., Beglov, D., Bohnuud, T., Mottarella, S., Xia, B., Hall, D. R., dan Vajda, S. (2013). How good is automated protein docking? *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, 81(12):2159-66.
- Kozakov, D., Hall, D. R., Xia, B., Porter, K. A., Padhorny, D., Yueh, C., Beglov, D., dan Vajda, S. (2017). The ClusPro web server for protein-protein docking. *Nature Protocols*, 12(2):255-278.
- Kurniawan, A., Siegers, W. H., Akbar, M. A., dan Nur, I. S. M. (2023). The production model of tilapia (*Oreochromis niloticus*) cultivation with system dynamics approach. *Journal of Aquaculture and Fish Health*, 12(1): 21-30.
- Kumar, S., Nei, M., Dudley, J., dan Tamura, K. (2008). MEGA: A biologist-centric software for evolutionary analysis of DNA and protein sequences. *Briefings in Bioinformatics*, 9(4):299-306.

- Kurczab R., Śliwa P., Rataj K., Kafel R., Bojarski A. J. (2018). Salt bridge in ligand–protein complexes—systematic theoretical and statistical investigations. *J. Chem. Inf. Model.* 2018, 58, 2224–2238.
- Kollman, J. M., Pandi, L., Sawaya, M. R., Riley, M., dan Doolittle, R. F. (2009). Crystal structure of human fibrinogen. *Biochemistry*, 48,3877–3886.
- Laskowski, R. A., MacArthur, M. W., Moss, D. S., dan Thornton, J. M. (1993). PROCHECK - a program to check the stereochemical quality of protein structures. *J. App. Cryst.*, 26, 283-291.
- Laskowski, R. A., Rullmannn, J. A., MacArthur, M. W., Kaptein, R., dan Thornton, J. M. (1996). AQUA and PROCHECK-NMR: programs for checking the quality of protein structures solved by NMR. *J Biomol NMR*, 8, 477-486.
- Laskowski, R. A., MacArthur, M. W., dan Thornton, J. M. (2001). PROCHECK: validation of protein structure coordinates, in *International Tables of Crystallography, Volume F. Crystallography of Biological Macromolecules*, eds. Rossmann M G & Arnold E, Dordrecht, Kluwer Academic Publishers, The Netherlands, pp. 722-725.
- Leal, C. A. G., Queiroz, G. A., Pereira, F. L., Tavares, G. C., Figueiredo, H. C. P. (2019). *Streptococcus agalactiae* sequence type 283 in farmed fish, Brazil. *Emerging Infectious Diseases*, 25(4): 776-779.
- Lee, L. Y., Liang, X., Höök, M., dan Brown, E. L. (2004). Identification and characterization of the C3 binding domain of the *Staphylococcus aureus* extracellular fibrinogen-binding protein (Efb). *The Journal of biological chemistry*, 279(49), 50710–50716.
- Liu, Y., dan Liu, J. (2022). Group B *Streptococcus*: virulence factors and pathogenic mechanism. *Microorganisms*, 10(12): 1-15.
- Litvinov, R.I., Pieters, M., de Lange-Loots, Z., Weisel, J.W. (2021). Fibrinogen and Fibrin. In *Macromolecular Protein Complexes III: Structure and Function*; Harris, J.R., Marles-Wright, J., Eds.; Springer International Publishing: Cham, Switzerland, pp. 471–501. ISBN 978-3-030-58971-4.
- Lovell, S. C., Davis, I. W., Arendall, W. B., 3rd, de Bakker, P. I., Word, J. M., Prisant, M. G., Richardson, J. S., dan Richardson, D. C. (2003). Structure validation by Calpha geometry: phi,psi and Cbeta deviation. *Proteins*, 50(3), 437–450.
- Luyendyk, J. P., Schoenecker, J. G., dan Flick, M. J. (2019). The multifaceted role of fibrinogen in tissue injury and inflammation. *Blood*, 133(6), 511–520.

- Manich M, Hernandez-Cuevas, N., Ospina-Villa, J. D., Syan S., Marchat, L. A., Olivo-Marin, J-C., dan Guillén, N. (2018). Morphodynamics of the actin-rich cytoskeleton in *Entamoeba histolytica*. *Front. Cell. Infect. Microbiol*, 8, 1-16.
- Massengo, N. R. B., Tinto, B., dan Simonin, Y. (2023). One Health approach to arbovirus control in africa: interests, challenges, and difficulties. *Microorganism*, 11(6): 1-15.
- Merle, N. S., Church, S. E., Fremeaux-Bacchi, V., dan Roumenina, L. T. (2015). Complement system part I - molecular mechanisms of activation and regulation. *Frontiers in immunology*, 6, 1-30.
- Meyn, L. A., Krohn, M. A., & Hillier, S. L. (2009). Rectal colonization by group B Streptococcus as a predictor of vaginal colonization. *American journal of obstetrics and gynecology*, 201(1): 1-7.
- Mirdita, M., Schütze, K., Moriwaki, Y., Heo, L., Ovchinnikov, S., dan Steinegger, M. (2022). ColabFold: making protein folding accessible to all. *Nature methods*, 19(6), 679–682.
- Morand S., Agnandji D., Noel-Hudson M. S., Nicolas V., Buisson S., Macon-Lemaitre L., Gnidehou S., Kaniewski J., Ohayon R., Virion A., dan Dupuy C. (2004). Targeting of the dual oxidase 2 N-terminal region to the plasma membrane. *J. Biol. Chem.* 279, 30244–30251.
- Morris, A. L., MacArthur, M. W., Hutchinson, E. G. dan Thornton, J. M. (1992). Stereochemical quality of protein structure coordinates. *Proteins*, 12, 345-364.
- Moriarty, T. F., Poulsson, A. H. C., Rochford, E. T. J., dan Richards, R. G. (2017). Bacterial adhesion and biomaterial surfaces. *Compr. Biomater. II*, 4, 101-129.
- Nagao, Prescilla Emy. (2015). *Streptococcus agalactiae* (Group B Streptococci). *Molecular medical Microbiology*, 3, 1751–1767.
- Pelley, J. W., dan Goljan, E. F. (2011). *Rapid Review Biochemistry*, 3rd ed. Mosby Elsevier. Philadelphia: Mosby Elsevier.
- Pettersen, E. F., Goddard, T. D., Huang, C. C., Couch, G. S., Greenblatt, D. M., Meng, E. C., dan Ferrin, T. E. (2004). UCSF Chimera—A visualization system for exploratory research and analysis. *Jornal of Computational Chemistry*, 25(13): 1605-1612.
- Pietrocola, G., Schubert, A., Visai, L., Torti, M., Fitzgerald, J. R., Foster, T. J., Reinscheid, D. J., dan Speziale, P. (2005). FbsA, a fibrinogen-binding protein

- from *Streptococcus agalactiae*, mediates platelet aggregation. *BLOOD*, 105(3): 1052-1059.
- Pietrocola, G., Visai, L., Valtulina, V., Vignati, E., Rindi, S., Arciola, C. R., Piazza, R., dan Speziale, P. (2006). Multiple interactions of FbsA, a surface protein from *Streptococcus agalactiae*, with fibrinogen: affinity, stoichiometry, and structural characterization. *Biochemistry*, 45(42), 12840–12852.
- PyMOLWiki. (2017). *Property Selectors*. [accessed 2024 March 23]. [https://pymolwiki.org/index.php/Property\\_Selectors](https://pymolwiki.org/index.php/Property_Selectors).
- Raabe, V. N., dan Shane, A. L. (2019). Group B *Streptococcus* (*Streptococcus agalactiae*). *Microbiology spectrum*, 7(2): 1-13.
- Ragunathan, P., dan Ponnuraj, K. (2011). Expression, purification and structural analysis of a fibrinogen receptor FbsA from *Streptococcus agalactiae*. *The protein journal*, 30(3), 159–166.
- Rahman, M. T., Sobur, M. A., Islam, M. S., Ievy, S., Hossain, M. J., El Zowalaty, M. E., Rahman, A. T., & Ashour, H. M. (2020). Zoonotic diseases: etiology, impact, and control. *Microorganisms*, 8(9), 1-34.
- Rejendram, P., Kyaw, W. M., Leo, Y. S., Ho, H., Chen, W. K., Pratim, D. P., Badaruddin, H., Ang, B., Barkham, T., dan Chow, A. (2016). Group B *Streptococcus* sequence type 283 disease linked to consumption of raw fish, Singapore. *Emerging Infectious Diseases*, 22(11): 1974-1977.
- Rekik, I., Z. Chaabene, C.D. Grubb, N. Drira, F. Cheour, dan A. Elleuch. (2015). In Silico Characterization and Molecular Modeling of Double-strand Break Repair Protein MRE11 from Phoenix Dactylifera V Deglet Nour. *Theoretical Biology and Medical Modelling*, 12(23): 3-14.
- Rizkiantino, R. (2022). Imunoprofilaksis dan Imunoterapi Berbasis Imunoglobulin Y (IgY) Telur Ayam Terhadap Infeksi Streptokokal Pada Ikan Nila Merah (*Oreochromis hybrid*) [Disertasi]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Schubert, A., K. Zakikhany, M. Schreiner, R. Frank, B. Spellerberg, B. E. Eikmanns, dan D. J. Reinscheid. (2002). A fibrinogen receptor from Group B *Streptococcus* interacts with fibrinogen by repetitive units with novel ligand binding sites. *Mol. Microbiol.*, 46, 557–569.
- Schubert, A., Zakikhany, K., Pietrocola, G., Meinke, A., Speziale, P., Eikmanns, B. J., dan Reinscheid, D. J. (2004). The fibrinogen receptor fbsA promotes adherence of *Streptococcus agalactiae* to human epithelial cells. *Infection and immunity*, 72(11): 6197-6205.

- Sorge *et al.* (2014). The classical Lancefield antigen of group A *Streptococcus* is a virulence determinant with implications for vaccine design. *Cell Host Microbe*, 15(6): 729-740.
- Spellerberg, B., E. Rozdzinski, S. Martin, J. Weber-Heynemann, N. Schnitzler, R. Lu'tticken, dan A. Podbielski. (1999). Lmb, a protein with similarities to the Lral adhesin family, mediates attachment of *Streptococcus agalactiae* to human laminin. *Infect. Immun.*, 67, 871–878.
- Syuhada, R., Zamri-Saad, M., Ina-Salwany, M., Mustafa, M., Nasruddin, N. N., Desa, M. N M., Nordin, S. A., Barkham, T., dan Amal, M. N. A. (2020). Molecular characterization and pathogenicity of *Streptococcus agalactiae* serotypes Ia ST7 and III ST283 isolated from cultured red hybrid tilapia in Malaysia. *Aquaculture*, 515, 1-14.
- Thomas S., Liu, W., Arora, S., Ganesh, V., Ko Y-P, dan Höök M. (2019). The complex fibrinogen interactions of the *Staphylococcus aureus* coagulases. *Front. Cell. Infect. Microbiol.*, 9, 1-11.
- Vajda, S., Yueh, C., Beglov, D., Bohnuud, T., Mottarella, S. E., Xia, B., Hall, D. R., dan Kozakov, D. (2017). New additions to the ClusPro server motivated by CAPRI. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, 85(3):435-444.
- Vottero, P., Tavernini, S., Santin, A. D., Scheim, D. E., Tuszynski, J. A., dan Aminpour, M. (2023). Computational Prediction of the Interaction of Ivermectin with Fibrinogen. *Int. J. Mol. Sci*, 24,1-24.
- Wang, R., Cao, X., Wu, F., Zhao, J., Fu, L., Yuan, Z., Ni, Y., Chen, Z., dan Li, F. (2022). Infectious native valve endocarditis by *Streptococcus agalactiae* species: Case report of pathogen identification only through metagenomic sequencing technology. *Medicine*, 101(27): 1-4.
- Wallace, A. C., Laskowski, R. A., & Thornton, J. M. (1995). LIGPLOT: a program to generate schematic diagrams of protein-ligand interactions. *Protein engineering*, 8(2), 127–134.
- Whitnack, E., Dale, J. B., dan Beachey, E. H. (1984) Common protective antigens of group A streptococcal M proteins masked by fibrinogen. *J. Exp. Med.*, 159, 1201–1212.
- Whitnack, E., dan Beachey, E. H. (1985) Inhibition of complement-mediated opsonization and phagocytosis of *Streptococcus pyogenes* by D fragments of fibrinogen and fibrin bound to cell surface M protein. *J. Exp. Med.*, 162, 1983–1997.

- Xu, D., dan Zhang, Y. (2011). Improving the physical realism and structural accuracy of protein models by a two-step atomic-level energy minimization. *Biophysical Journal*, 101, 2525-2534.
- Yachdav, G., Wilzbach, S., Rauscher, B., Sheridan, R., Sillitoe, I., Procter, J., Lewis, S. E., Rost, B., dan Goldberg, T. (2016). MSAViewer: interactive JavaScript visualization of multiple sequence alignments. *Bioinformatics (Oxford, England)*, 32(22), 3501–3503.
- Zhmurov, A., Protopopova, A. D., Litvinov, R. I., Zhukov, P., Weisel, J. W., Barsegov, V. (2018). Atomic Structural Models of Fibrin Oligomers. *Structure*, 26, 857–868.
- Zohari, Z., Barkham, T., Maswan, N. M., Chen, S. L., Muthanna, A. R., Lee, K. W., Desa, M. N. M., Azmai, M. N. A., Joseph, N. M. S., Nordin, S. A. (2023). Fish-associated *Streptococcus agalactiae* ST283: first human cases reported from Malaysia. *Jornal of Medical Microbiology*, 72, 1-4.