

Modul Praktikum Bioinformatika: Aplikasi Gene Ontology (GO) dan KEGG Pathway dalam Pengembangan Vaksin Dengue

Pengantar

Pengembangan vaksin untuk penyakit infeksius seperti dengue memerlukan pemahaman mendalam tentang respons imun pada tingkat molekuler. Salah satu pendekatan yang digunakan dalam biologi molekuler dan imunologi modern adalah analisis data ekspresi gen secara **in silico** menggunakan basis data publik. **Gene Expression Omnibus (GEO)** dari NCBI, misalnya, adalah repositori internasional yang menyimpan data ekspresi gen dari berbagai studi (microarray, RNA-seq) dan menyediakan alat analisis online seperti **GEO2R** untuk membantu mengidentifikasi gen yang terekspresi diferensial. Dengan data ekspresi gen, kita dapat menemukan **Differentially Expressed Genes (DEGs)** – gen-gen yang ekspresinya berubah signifikan akibat infeksi dengue dibanding kondisi kontrol (sehat).

Untuk memahami makna biologis dari daftar gen yang berubah tersebut, kita memanfaatkan **Gene Ontology (GO)** dan **database jalur biologi KEGG**. Analisis GO akan mengelompokkan gen-gen berdasarkan **kategori fungsi: proses biologis (Biological Process), fungsi molekuler (Molecular Function), dan komponen seluler (Cellular Component)**. Hasilnya adalah serangkaian istilah GO yang terdefinisi, mencakup proses apa saja yang terpengaruh, fungsi molekuler apa yang menonjol, serta lokasi komponen seluler terkait. Sementara itu, analisis *pathway* dengan **KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes)** akan memetakan gen ke jalur biokimia atau signal transduction yang relevan. KEGG adalah basis data yang memetakan gen ke jalur fungsionalnya, sehingga kita dapat mengidentifikasi jalur-jalur mana yang **diperkaya** atau teraktivasi selama infeksi dengue. Kombinasi GO dan KEGG membantu memberikan gambaran holistik: misalnya, apakah infeksi dengue memicu **respons imun bawaan**, produksi **sitokin**, aktivasi sel imun tertentu, atau malah jalur **apoptosis** dan **siklus sel**.

Sebagai studi kasus, praktikum ini berfokus pada infeksi dengue. Dengue adalah penyakit virus yang hingga kini vaksinnnya masih terbatas efektivitasnya, sebagian karena kompleksitas respons imun terhadap empat serotipe virus dengue. Dengan menganalisis data ekspresi gen dari pasien dengue, mahasiswa akan melihat gen dan jalur imun mana yang aktif saat infeksi. Sebagai contoh, penelitian terbaru menemukan bahwa gen-gen terkait sinyal interferon (seperti *STAT1*, *STAT2*), aktivasi sel B (*TNFSF13B*, *TNFRSF17*), dan reseptor pattern-recognition (*TLR7*) mengalami peningkatan ekspresi selama infeksi dengue. Temuan seperti ini menunjukkan adanya aktivasi kuat pada jalur antiviral dan sel imun adaptif, yang bisa menjadi petunjuk dalam merancang vaksin. Melalui praktikum ini, mahasiswa akan belajar menggunakan data nyata untuk mendapatkan wawasan serupa: memahami **proses imunologis** apa saja yang muncul dari data ekspresi gen, dan bagaimana hal itu dapat dikaitkan dengan strategi vaksin (misalnya vaksin yang mampu menginduksi jalur protektif yang sama tanpa menyebabkan penyakit).

Tujuan Pembelajaran

Setelah menyelesaikan praktikum berdurasi 1,5–2 jam ini, mahasiswa diharapkan mampu:

- **Memanfaatkan basis data publik:** Mahasiswa dapat mencari dan mengunduh dataset ekspresi gen publik (misalnya dari **NCBI GEO**), khususnya dataset yang relevan dengan infeksi dengue.
- **Mengidentifikasi gen terekspresi diferensial:** Mahasiswa mampu mengidentifikasi gen-gen yang berubah ekspresinya akibat infeksi dengue (DEGs) dengan menggunakan alat analisis online (misalnya **GEO2R**) atau dengan dataset beranotasi.
- **Melakukan analisis Gene Ontology:** Mahasiswa bisa menggunakan tools bioinformatika (seperti **DAVID** atau **g:Profiler**) untuk melakukan *enrichment analysis* GO, dan menginterpretasi kategori **proses biologis (BP)**, **fungsi molekuler (MF)**, dan **komponen seluler (CC)** yang diperkaya pada gen-gen tersebut.
- **Melakukan pemetaan jalur KEGG:** Mahasiswa dapat mengidentifikasi jalur-jalur **KEGG Pathways** yang terkait dengan kumpulan gen DEG, menggunakan alat seperti **KEGG Mapper**, dan memahami jalur mana yang berperan penting dalam infeksi dengue.
- **Mengaitkan hasil dengan imunologi & vaksin:** Mahasiswa mampu menjelaskan implikasi biologis dari temuan GO dan KEGG dalam konteks respon imun dengue serta mendiskusikan bagaimana pengetahuan ini dapat diarahkan pada pengembangan vaksin (misalnya mengidentifikasi target molekuler untuk vaksin atau pemahaman mekanisme imun yang perlu dibangkitkan oleh vaksin).

Alat dan Bahan

Berikut adalah alat dan sumber daya yang dibutuhkan untuk praktikum berbasis komputer ini (semuanya gratis dan dapat diakses online):

- **Komputer dengan koneksi internet** – diperlukan untuk mengakses database dan tools online.
- **NCBI GEO (Gene Expression Omnibus)** – Situs web repositori data ekspresi gen publik. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>.
 - *Contoh dataset:* Dataset ekspresi gen dengue **GSE18090** (ekspresi PBMC pada fase demam dengue) akan digunakan sebagai studi kasus.
- **GEO2R (NCBI GEO online analysis tool)** – Alat di situs GEO untuk analisis gen diferensial secara instan di web. (Tersedia melalui halaman GEO series, misal pada GSE18090).
- **g:Profiler** – Tool *gene list enrichment analysis* (alternatif: **DAVID**). g:Profiler dapat diakses di <https://biit.cs.ut.ee/gprofiler/>. (Tidak perlu instalasi; paste daftar gen untuk mendapatkan hasil GO dan jalur).
- **DAVID (Database for Annotation, Visualization and Integrated Discovery)** – Alternatif tool untuk analisis GO/KEGG. Dapat diakses di <https://david.ncifcrf.gov/>. (Gunakan salah satu: g:Profiler atau DAVID sesuai preferensi).

- **KEGG Mapper** – Tool online untuk memvisualisasikan gen pada peta jalur KEGG. URL: <https://www.genome.jp/kegg/mapper> (gunakan fitur *Search* atau *Color Pathway*).
- **UniProt** – Basis data informasi protein/gene. URL: <https://www.uniprot.org/>. (Digunakan sebagai referensi tambahan untuk memeriksa fungsi gen tertentu atau melakukan konversi ID gen, bila diperlukan dalam interpretasi).
- **Perangkat lunak lembar kerja (opsional)** – Seperti Microsoft Excel atau Google Sheets, untuk membuka file data ekspresi gen atau mengelola daftar gen jika diperlukan (misal, file **Series Matrix** dari GEO).

Semua alat di atas bersifat **online dan gratis**, sehingga mahasiswa dapat menggunakannya di laboratorium komputer atau laptop masing-masing tanpa instalasi software khusus.

Langkah-Langkah Praktikum

1. Pencarian dan Pengunduhan Data Ekspresi Gen Publik

- **Buka NCBI GEO:** Kunjungi situs GEO NCBI (link di atas). Pada kolom pencarian GEO, masukkan kata kunci terkait dengue, misalnya “*dengue gene expression*” atau langsung cari ID **GSE18090**.
- **Identifikasi dataset yang relevan:** Temukan dataset ekspresi gen yang sesuai dengan studi kasus. Sebagai contoh, **GSE18090** adalah dataset mikroarray ekspresi gen dari sel darah (PBMC) pasien dengue di fase demam awal. Baca deskripsi dataset tersebut untuk memahami rancangan eksperimen: GSE18090 mencakup sampel pasien dengan dengue fever (DF), dengue hemorrhagic fever (DHF), dan kontrol (ND, non-dengue).
- **Unduh data:** Pada halaman GEO series (misalnya halaman GSE18090), cari tautan untuk mengunduh data. Pilih “**Series Matrix File**” (format TXT) yang berisi tabel ekspresi gen terproses untuk semua sampel. Klik tautan tersebut untuk mengunduh file data. (Catatan: File *Series Matrix* biasanya berukuran cukup besar dan berisi ID gen dan nilai ekspresi; alternatifnya, data bisa dieksplorasi langsung via GEO2R tanpa pengunduhan penuh).
- *Tip:* Pastikan mencatat informasi penting seperti jenis platform (misal GPL570 Affymetrix Human Genome U133 Plus 2.0 Array), jumlah sampel dan kelompoknya (DF, DHF, ND), serta referensi publikasi terkait (bila ada) untuk membantu interpretasi nanti.

2. Identifikasi Gen yang Terekspresi Diferensial (DEGs)

- **Gunakan GEO2R (analisis online GEO):** Alih-alih menganalisis secara manual seluruh data mentah, gunakan fasilitas **GEO2R** yang disediakan GEO. Pada halaman seri GSE (misal GSE18090), klik tombol “**Analyze with GEO2R**”. Ini akan membuka antarmuka GEO2R untuk analisis diferensial.
- **Tentukan kelompok sampel:** Dalam GEO2R, kelompokkan sampel sesuai kondisi. Untuk studi dengue ini, kita dapat membuat dua grup: **Grup 1 = kasus dengue (pasien DF + DHF)** dan **Grup 2 = kontrol (ND)**. Pilih semua GSM (sample ID) yang merupakan pasien (DF/DHF) ke grup 1, dan masukkan semua sampel kontrol ke grup 2.

(Sebagai alternatif, dosen dapat membimbing penggunaan perbandingan spesifik, misal **DF vs ND** saja untuk fokus pada infeksi primer, atau **DHF vs DF** untuk melihat perbedaan keparahan. Namun, demi kesederhanaan awal, kita bandingkan semua terinfeksi vs kontrol).

- **Jalankan analisis:** Klik “**Top 250**” atau tombol untuk menjalankan uji statistik. GEO2R akan menghitung perbedaan ekspresi menggunakan metode limma di background dan menampilkan tabel hasil. Kolom hasil mencakup nilai rata-rata ekspresi tiap grup, log2 fold change, p-value, dan adjusted p-value (Benjamini-Hochberg).
- **Pilih DEGs signifikan:** Urutkan hasil berdasarkan adjusted p-value terkecil (paling signifikan). Identifikasi gen-gen yang **signifikan secara statistik** (misal *adj. p-value* < 0.05) dan memiliki **perubahan ekspresi bermakna** (misal *log2 fold change* ≥ 1 atau ≤ -1 untuk kenaikan/penurunan ≥ 2x). Tandai gen-gen tersebut – biasanya GEO2R menyoroti deret teratas.
- **Simpan daftar gen:** Buat dua daftar terpisah untuk gen yang **up-regulated (ekspresi lebih tinggi pada dengue)** dan **down-regulated (lebih rendah pada dengue)**. Misalnya, ekspor tabel atau salin nama-nama gen (Gene symbol) dari hasil GEO2R. Jika jumlahnya sangat banyak, cukup ambil yang paling signifikan atau top 100–200 gen dari masing-masing kategori agar analisis GO/KEGG lebih terfokus. (Catatan: Jika praktikum dioptimalkan waktu, instruktur dapat menyediakan daftar gen hasil analisis diferensial yang sudah siap, sehingga mahasiswa bisa langsung melanjutkan ke analisis fungsional tanpa khawatir soal kode atau waktu komputasi).
- *Optional:* Jika tidak menggunakan GEO2R, instruktur dapat memberikan data yang sudah dianotasi, misalnya daftar DEGs dari publikasi terkait dataset tersebut. Pastikan daftar mencakup *Gene Symbols* atau *Entrez Gene ID* yang dibutuhkan untuk langkah analisis berikutnya.

-----Simplify-----

1. Persiapan Data GEO2R atau Dataset Microarray

1. Download hasil analisis dari GEO2R dalam format **.tsv** atau **.csv**.
2. Simpan file tersebut di komputer Anda, misal: **GSE18090.top.table.tsv**.

2. Buka File di Microsoft Excel atau Google Sheets

1. **Buka Excel atau Google Sheets.**
2. **File** → **Open** → **Upload File** → **Pilih GSE18090.top.table.tsv**.
3. Jika muncul pilihan "Delimited," pilih **Tab** sebagai pemisah data.

3. Seleksi Up-Regulated dan Down-Regulated Genes

1. Cari kolom yang berjudul **logFC** (Fold Change).
2. Lakukan **Filter** di Excel:
 - **Select Filter (Sort & Filter → Filter)**

- Di kolom `logFC`, klik panah kecil di header.
 - Pilih **Number Filters** → **Greater than 0** untuk Up-Regulated.
 - Pilih **Number Filters** → **Less than 0** untuk Down-Regulated.
3. **Copy gen Up-Regulated:**
- Pilih kolom **Gene.Symbol** atau **ID** yang sesuai.
 - Tekan **Ctrl + C** (Copy).

4. Simpan Daftar Gen Up-Regulated

1. Buka **Notepad** atau **Notepad++**.
2. Paste hasil copy tadi (Ctrl + V).
3. **Simpan** dengan nama:

```
up_regulated_genes_gprofiler.txt
```

5. Persiapan Data untuk g:Profiler

1. Pastikan format di Notepad:
 - Setiap gen berada di baris baru.
 - Contoh:

```
ARL17B
WASIR1
RBM1B
RBM1D
...
```

2. Jika gen dalam format **ENSG ID**, langsung lanjut ke langkah berikut. Jika tidak, Anda bisa menggunakan *BioMart Ensembl* untuk konversi.

3. Analisis Gene Ontology (GO)

- **Siapkan daftar gen untuk GO:** Gunakan daftar gen *up-regulated* (dan/atau *down-regulated*). Kita akan melakukan analisis GO terpisah untuk gen naik dan gen turun, karena keduanya bisa terkait proses biologis yang berbeda. (Misal: gen yang naik mungkin terkait respon imun, sedangkan gen yang turun bisa terkait fungsi homeostasis yang tertekan oleh infeksi).
- **Buka tool GO enrichment:** Akses situs **g:Profiler** (atau **DAVID** sebagai alternatif). Pada contoh ini kita menggunakan g:Profiler karena antarmukanya sederhana.
- **Masukkan daftar gen:** Pada laman g:Profiler, pastikan organisme diset ke *Homo sapiens*. Copy-paste daftar gen (simbol gen satu per baris) ke kotak input. Contoh gen naik hipotetikal dari infeksi dengue antara lain:

```
STAT1
```

```
STAT2
```

... (sesuai hasil yang ditemukan).

- **Jalankan analisis:** Klik tombol “Run”. g:Profiler akan memproses dan menampilkan hasil *enrichment*. Perhatikan beberapa bagian output:
 - Tabel **Gene Ontology**: biasanya dibagi per aspek GO – **BP (biological process)**, **MF (molecular function)**, **CC (cellular component)**. Lihat daftar *GO terms* BP teratas: apakah ada *term* seperti “*immune response*”, “*innate immune response*”, “*inflammatory response*”, “*response to virus*”, “*apoptotic process*”, dsb. Ini menunjukkan proses biologis dominan dalam kumpulan gen tersebut. (Sebagai contoh, penelitian serupa menunjukkan banyak gen dengue masuk dalam kategori *process* respons imun interferon dan aktivasi sel imun).
 - Untuk kategori MF: lihat apakah ada fungsi molekuler umum (misal “**cytokine activity**” atau “**chemokine receptor binding**”) yang muncul, menandakan gen-gen itu berperan sebagai molekul sinyal.
 - Kategori CC: ini menunjukkan lokasi atau komponen seluler, misal banyak gen imun mungkin terkaya di “**extracellular space**” (karena sitokin disekresikan) atau “**plasma membrane**” (banyak reseptor di permukaan sel imun).

-----Simplify-----

1. Analisis di g:Profiler

1. **Buka g:Profiler**
Kunjungi g:Profiler Web Application.
2. **Pilih Organisme:**
Pilih **Homo sapiens**.
3. **Masukkan Daftar Gen:**
 - Buka file `.txt` yang tadi disimpan.
 - **Copy isinya** (Ctrl + A → Ctrl + C).
 - **Paste** di kotak input g:Profiler.
4. **Pilih Identifier Type:**
 - Jika tidak otomatis, ubah ke **ENSG** (Ensembl Gene ID) atau **Symbol**.
5. **Jalankan Analisis:**
Klik tombol **Run**.

- **Interpretasi awal GO:** Catat GO terms yang paling signifikan (paling kecil p-value-nya atau ditandai **significant** oleh tool). Misalnya, anda mungkin melihat istilah BP seperti “*type I interferon signaling pathway*”, “*innate immune response*”, “*defense response to virus*”, “*inflammatory response*”. Ini masuk akal karena infeksi virus dengue seharusnya memicu interferon dan peradangan sebagai pertahanan tubuh. Juga mungkin muncul “*B cell activation*” atau “*T cell differentiation*” jika dataset mencakup fase respon adaptif. Tulis beberapa *terms* kunci ini, karena akan dipakai dalam diskusi interpretasi.
- **Catatan:** Jika menggunakan **DAVID**, langkahnya serupa: masukkan gene list (pilih identifier yang sesuai, misal “OFFICIAL_GENE_SYMBOL” untuk simbol gen), pilih

background default (misal seluruh genom manusia), lalu jalankan *Functional Annotation Chart*. Hasil DAVID akan menampilkan kluster GO terms dan pathway. Pilih tab “**Gene_Ontology**” untuk melihat BP/MF/CC dan interpretasikan seperti di atas. (Hasil DAVID mungkin butuh sedikit penyesuaian tampilan, tetapi informasinya setara).

4. Pemetaan Jalur KEGG Pathway

- **Identifikasi jalur dari hasil enrichment:** Setelah menjalankan g:Profiler atau DAVID, perhatikan juga keluaran analisis untuk **KEGG pathways**. Biasanya tool tersebut akan mencantumkan jalur KEGG apa saja yang signifikan diperkaya oleh gen-gen dalam list. Contoh jalur yang sering muncul dalam konteks infeksi virus: “*Cytokine-cytokine receptor interaction*”, “*Toll-like receptor signaling pathway*”, “*Jak-STAT signaling pathway*”, “*NF-kappa B pathway*”, atau jalur apoptosis seperti “*p53 signaling pathway*”. Catat jalur-jalur teratas beserta nilai p-value/nilai *enrichment*-nya. Ini memberi gambaran jalur biologi mana yang banyak melibatkan gen-gen DEG kita.
- **Visualisasi dengan KEGG Mapper:** Untuk pemahaman yang lebih visual, gunakan **KEGG Mapper**:
 1. Buka laman KEGG Mapper (tautan di atas), lalu pilih fitur “**Search**” (atau “**Color**”) dengan mode organisme **hsa (Homo sapiens)**.
 2. Salin seluruh daftar gen **DEG** (misalnya semua gen yang up-regulated) dan paste ke kotak pencarian. Pastikan format sesuai: satu gen per baris. (*KEGG Mapper menerima simbol resmi gen manusia sebagai masukan dan akan otomatis mencocokkannya ke ID KEGG.*)
 3. Klik “**Run**”/“**Go**” untuk menjalankan pencarian. Hasilnya akan berupa daftar jalur KEGG yang mengandung gen-gen tersebut, dengan jumlah **hits** pada tiap jalur. Misalnya, output bisa menunjukkan: “**Toll-like receptor signaling pathway – 5 genes hit**”, “**Cytokine-cytokine receptor interaction – 7 genes hit**”, “**Apoptosis – 3 genes hit**”, dll, tergantung data.
 4. Klik nama jalur (misal *Toll-like receptor signaling pathway*) untuk melihat peta jalur tersebut. Pada diagram KEGG yang muncul, gen-gen dari daftar kita akan diberi highlight (dalam warna merah, default). Perhatikan penempatan gen yang disorot: ini memberitahu posisi fungsional mereka dalam rangkaian reaksi/jalur. Contohnya, gen *TLR7* mungkin disorot di membran sel imun (sebagai reseptor virus RNA), *STAT1/2* disorot di jalur transduksi sinyal interferon, dan *IL12A* mungkin di luar sel sebagai sitokin.
 5. Ulangi untuk beberapa jalur kunci: Lihat jalur **Jak-STAT signaling**, **NF-κB signaling**, atau **p53 signaling** jika terdaftar, untuk memahami konteks berbeda (respon imun vs regulasi siklus sel/apoptosis).
- **Kombinasikan dengan hasil GO:** Sekarang, hubungkan apa yang Anda lihat di peta KEGG dengan istilah GO yang ditemukan. Misalnya, bila GO mengindikasikan “*immune response*” dan “*inflammatory response*”, jalur KEGG seperti *Cytokine receptor interaction* dan *NF-κB* sejalan dengan hal tersebut (karena itu jalur yang memicu peradangan). Jika GO menunjukkan “*cell cycle*” atau “*apoptotic process*”, periksa

apakah jalur *Cell cycle* atau *p53* muncul di KEGG enrichment (ini bisa terjadi jika infeksi dengue juga memengaruhi proliferasi atau kematian sel).

- *Opsional*: Jika waktu memungkinkan, coba **KEGG Mapper – Reconstruct/Color Pathway** dengan fitur pemberian warna berbeda. Misalnya, berikan warna merah untuk gen up-regulated dan hijau untuk yang down-regulated pada input (format: GENE red atau GENE #ff0000 untuk masing-masing gen). Ini dapat memberi visualisasi mana bagian jalur yang aktif dan mana yang tertekan. (Langkah ini lebih lanjut dan membutuhkan format input khusus, sehingga opsional untuk kelas).

-----Simplify-----

Langkah Ringkas Pemetaan Jalur KEGG Pathway

1. Identifikasi Jalur dari Hasil Enrichment (g:Profiler atau DAVID):

- Jalankan analisis *GO enrichment* di g:Profiler atau DAVID.
- Cari hasil untuk kategori **KEGG Pathways**.
- Catat nama jalur dan nilai p-value/nilai enrichment yang signifikan.

Contoh jalur penting:

- *Cytokine-cytokine receptor interaction*
- *Toll-like receptor signaling pathway*
- *Jak-STAT signaling pathway*
- *NF-kappa B pathway*
- *p53 signaling pathway*

2. Visualisasi di KEGG Mapper:

1. Buka situs **KEGG Mapper**.
2. Pilih fitur “**Search**” atau “**Color**”.
3. Set mode organisme menjadi **hsa (Homo sapiens)**.
4. Copy-paste daftar gen DEG (up-regulated atau down-regulated) ke kotak pencarian, **satu gen per baris**.
5. Klik “**Run**” atau “**Go**”.

3. Interpretasi Peta Jalur KEGG:

- KEGG akan menampilkan daftar jalur yang mengandung gen-gen tersebut.
- Contoh output:
 - *Toll-like receptor signaling pathway* – 5 genes hit
 - *Cytokine-cytokine receptor interaction* – 7 genes hit
 - *Apoptosis* – 3 genes hit

4. Analisis Detail Jalur:

- Klik nama jalur (misal: *Toll-like receptor signaling pathway*).
- Diagram jalur akan muncul dengan gen yang terlibat **disorot merah**.
- Perhatikan posisi gen dalam rangkaian sinyal:
 - *TLR7* → di membran sel (reseptor virus RNA)
 - *STAT1/2* → transduksi sinyal interferon
 - *IL12A* → sitokin di luar sel

5. Sinkronisasi dengan Hasil GO:

- Cocokkan hasil jalur di KEGG dengan istilah GO yang ditemukan:
 - Jika GO menunjukkan “*immune response*”, cek KEGG pada *Cytokine receptor interaction* dan *NF-κB signaling*.
 - Jika GO menunjukkan “*cell cycle*” atau “*apoptotic process*”, cek di KEGG apakah ada *Cell cycle* atau *p53 pathway*.

6. (Optional) Visualisasi Warna Berbeda di KEGG Mapper:

- Coba fitur **KEGG Mapper – Reconstruct/Color Pathway**.
- Gunakan format input untuk pewarnaan:
 - `GENE_NAME red` → untuk gen up-regulated
 - `GENE_NAME green` → untuk gen down-regulated

Contoh format input:

```
nginx
CopyEdit
STAT1 red
STAT2 red
TLR7 red
CD36 green
```

5. Interpretasi Hasil dalam Konteks Imunologi dan Vaksin

- **Analisis hasil GO:** Tinjau kembali istilah-istilah GO (BP, MF, CC) yang banyak muncul. Apa arti biologisnya? Misalnya, jika sebagian besar DEGs yang naik terlibat dalam “*response to interferon-alpha*” atau “*innate immune response*”, artinya infeksi dengue memicu kuat sistem imun bawaan (termasuk produksi interferon, aktivasi sel NK, makrofag, dll). Ini konsisten dengan pengetahuan bahwa interferon tipe I merupakan lini

pertahanan pertama terhadap infeksi virus. Istilah seperti “*adaptive immune response*” atau “*B cell activation*” menunjukkan keterlibatan imunitas adaptif (antibodi, sel B/T) – ini mungkin muncul jika sampel diambil agak lambat atau pasien sudah memasuki fase recovery dimana antibodi diproduksi. Sementara itu, gen *down-regulated* bila terkait “*metabolic process*” atau “*cellular homeostasis*”, bisa mengindikasikan bahwa sumber daya sel dialihkan dari fungsi normal ke melawan infeksi.

- **Analisis hasil KEGG:** Lihat jalur KEGG teratas. Jalur “**Cytokine-cytokine receptor interaction**” biasanya mencakup interaksi berbagai interleukin, interferon, chemokine dengan reseptornya – banyak gen imun akan muncul di sana (misal IL1, IL6, interferon-stimulated genes). Jalur “**Toll-like receptor signaling**” menunjukkan aktivasi reseptor imun bawaan (TLR7, TLR3 untuk virus RNA) yang mengarah ke produksi interferon dan inflamasi (melalui adaptor MyD88, TRIF, NF- κ B). Munculnya jalur “**Jak-STAT signaling**” sejalan dengan aktivasi *cytokine signaling* (karena banyak reseptor sitokin mengaktifkan STAT). Jalur “**Apoptosis**” atau “**p53 signaling**” yang diperkaya dapat menandakan sel yang terinfeksi atau imun teraktivasi mengalami regulasi kematian sel – ini relevan karena apoptosis bisa menjadi mekanisme pertahanan untuk mencegah replikasi virus, atau sebaliknya berkontribusi pada kerusakan jaringan.
- **Konteks imunologi dengue:** Hubungkan temuan di atas dengan patogenesis dengue. Sebagai contoh, bila data menunjukkan *interferon signaling aktif*, kita tahu interferon berperan melawan virus – tapi dengue memiliki mekanisme untuk menghambat sinyal interferon, yang bisa membedakan kasus ringan vs berat. Jika *NF- κ B/inflamasi* sangat aktif, itu bisa menjelaskan gejala demam dan inflamasi, namun juga perlu diatur agar tidak berlebihan (hiperinflamasi bisa berkontribusi pada DHF). Munculnya *chemokine pathways* mungkin terkait rekrutmen sel imun ke lokasi infeksi.
- **Implikasi untuk pengembangan vaksin:** Inilah inti yang ingin dipahami mahasiswa. Tanyakan: “*Bagaimana kita menggunakan informasi ini untuk vaksin?*” Misalnya, gen dan jalur yang sangat aktif pada infeksi dengue akut (yang mungkin berkontribusi melawan virus) adalah target yang diinginkan oleh vaksin untuk diaktifkan. Jika **jalur interferon** penting, vaksin yang baik harus mampu memicu respons interferon awal (mungkin dengan adjuvant yang mengaktifkan TLR mirip infeksi alami). Jika **aktivasi sel B** muncul (misal adanya *TNFSF13B/BAFF* yang tinggi, terkait stimulasi sel B), maka vaksin tentu bertujuan menginduksi sel B memproduksi antibodi protektif, namun dengan kontrol agar tidak terjadi *antibody-dependent enhancement*. Jalur “*T cell receptor signaling*” bila muncul, berarti peran sel T penting – vaksin dengue sebaiknya juga memicu imunitas seluler (sel T) selain antibodi.
- **Pertimbangkan perbedaan DF vs DHF:** Walau tidak diwajibkan, menarik untuk berpikir apakah data menunjukkan perbedaan antara dengue biasa dan dengue berat. Studi sebelumnya melaporkan bahwa pada pasien yang berkembang menjadi DHF, ekspresi gen imun bawaan tertentu justru **lebih lemah** pada fase awal dibandingkan DF, sedangkan gen pro-apoptosis lebih tinggi. Hal ini menggambarkan bahwa kurangnya aktivasi imun awal bisa berkontribusi ke parahnya penyakit. Bagi vaksin, ini berarti vaksin harus **meningkatkan respon imun awal yang kuat tapi terkontrol** sehingga infeksi nyata tidak sempat menyebabkan penyakit berat.
- **Simpulkan temuan:** Mahasiswa dapat menyusun kesimpulan singkat: proses imun apa yang paling dominan dari analisis mereka, dan bagaimana hal tersebut relevan dengan strategi vaksin. Misalnya: “*Analisis GO menunjukkan dominansi proses respon antiviral*”

dan inflamasi, sedangkan analisis KEGG menguatkannya dengan jalur interferon dan TLR signaling. Ini menegaskan bahwa vaksin dengue perlu mengaktivasi jalur imun bawaan antivirus secara efektif. Selain itu, teridentifikasinya jalur sel B/T menunjukkan perlunya respons antibodi yang kuat dan tersedianya memori imun adaptif dari vaksin.”