

## Studi Bioinformatika Mutasi Genetik pada Gen Pengkode Protein Spike dari Virus Sars-Cov-2 di Indonesia

Muhammad Ilham Hardian \*, Bertha Rusdi

Prodi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Bandung, Indonesia.

\* ilham.hardian17@gmail.com, bertha.rusdi78@gmail.com

**Abstract.** SARS-CoV-2 is a new type of virus that causes the current pandemic. Corona virus gene mutations have become popular since the discovery of SARS-CoV-2 variants in the UK (B.1.1.7), South Africa (B.1.351), India (B.1.617.1 and B.1.617.2). The purpose of this study was to analyze the genetic mutations of L452R and N501Y in SARS-CoV-2 virus isolates found in Indonesia to obtain an overview of their role in the ACE2 receptor binding site. The benefits of this research are expected to provide scientific information regarding genetic mutations of SARS-CoV-2 isolates that are useful for vaccine development and various other studies. A bioinformatic study that began with the search for the sequence of genes encoding the SARSCoV2 protein S that had mutations from Indonesian patient isolates on the Global Initiative on Sharing All Influenza Data (GISAID) page. Furthermore, the SARSCoV2 genome sequence that was first reported in Wuhan (Wuhan-1) was extracted from the National Center for Biotechnology Information (NCBI) page for comparison. The sequence of the gene encoding the protein S that had been obtained by GISAID was compared to the sequence of the gene encoding the protein S of the Wuhan-1 isolate using the Clustal Omega software. To compare the amino acid sequences of these isolates, the Coding Sequences (CDS) of protein S of the wuhan-1 isolate were translated into amino acid sequences using Skaminsky115. The nucleotide and amino acid sequences of protein S that have been obtained are then analyzed to map the position of RBD related to the mutation that occurs. The results of the study are genomic data that have been carried out by aligning the amino acid sequences of several Indonesian isolates and Wuhan-Hu-1 isolates. Then found mutations in the sequence of DNA bases and amino acid bases that are thought to be in the area around the RBD, namely in the order of (471, 472, 478, 480, 534).

**Keywords:** *Genetic mutation, SARS-CoV-2, Sequence alignment, Spike protein, Receptor Binding Domain (RBD).*

**Abstrak.** SARS-CoV-2 merupakan jenis virus baru penyebab pandemi saat ini. Mutasi gen virus corona menjadi populer semenjak ditemukannya varian SARS-CoV-2 di Inggris (B.1.1.7), Afrika Selatan (B.1.351), India (B.1.617.1 dan B.1.617.2). Tujuan dari penelitian ini adalah menganalisis mutasi genetik L452R dan N501Y pada isolat virus SARS-CoV-2 yang ditemukan di Indonesia untuk mendapatkan gambaran terhadap perannya pada daerah pengikatan reseptor ACE2. Manfaat penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai mutasi genetik isolat SARS-CoV-2 yang berguna untuk pengembangan vaksin dan berbagai penelitian lainnya. Studi bioinformatik yang diawali dengan pencarian urutan gen pengkode protein S SARSCoV2 yang mengalami mutasi dari isolat pasien Indonesia pada laman Global Initiative on Sharing All Influenza Data (GISAID). Selanjutnya urutan genom SARSCoV2 yang dilaporkan pertama kali di Wuhan (Wuhan-1) diekstrak dari laman National Center for Biotechnology Information (NCBI) untuk dijadikan pembandingan. Urutan gen pengkode protein S yang telah diperoleh dr GISAID dibandingkan terhadap urutan gen pengkode protein S isolat Wuhan-1 menggunakan perangkat lunak Clustal Omega. Untuk membandingkan urutan asam amino isolat-isolat tersebut, Coding Sequens (CDS) protein S isolat wuhan-1 diterjemahkan menjadi urutan asam amino menggunakan Skaminsky115. Urutan nukleotida dan asam amino protein S yang telah diperoleh kemudian dianalisis untuk memetakan posisi RBD berkaitan dengan mutasi yg terjadi. Hasil penelitian berupa data genomik yang telah dilakukan penyejajaran urutan asam amino dari beberapa isolat Indonesia dan isolat Wuhan-Hu-1. Kemudian ditemukan mutasi pada urutan basa DNA dan basa asam amino yang diduga berada pada daerah sekitar RBD yaitu pada urutan ke-(471, 472, 478, 480, 534).

**Kata Kunci:** *Mutasi genetik, SARS-CoV-2, Penyejajaran urutan, Protein spike, RBD (Receptor Binding Domain).*

## A. Pendahuluan

Pandemi *Coronavirus disease* (COVID-2019) pertama kali dilaporkan terjadi di Wuhan, provinsi Hubei, China pada Desember 2019 (Lan et al., 2020; Lee et al., 2020). SARS-CoV-2 merupakan jenis virus baru penyebab pandemi saat ini. Jika dilakukan analisis filogenetik, virus SARS-CoV-2 ini berhubungan dekat dengan dua jenis virus korona asal kelelawar, bat-SLCoVZC45 dan bat-SL-CoVZXC21 dengan homologi sebesar 89–96,3%. SARS-CoV-2 ditransmisikan melalui droplet atau kontak langsung (Lee et al., 2020). Rute transmisi SARS-CoV-2 antar individu adalah transmisi langsung seperti bersin, transmisi kontak, inhalasi tetesan, batuk, termasuk kontak dengan selaput lendir hidung, mata, dan mulut (Peng et al., 2020). SARS-CoV-2 dapat menular dari manusia ke manusia dengan masa inkubasi virus setelah masuk tubuh sekitar 3-7 hari, bahkan hingga 14 hari (Zhu et al., 2020).

Mutasi adalah perubahan yang terjadi pada bahan genetik (DNA atau RNA), baik pada taraf urutan gen (mutasi titik) maupun pada taraf kromosom. Mutasi gen dapat mengarah pada variasi-variasi baru pada spesies (Sutapa & Kasmawan, 2017). Varian SARS-CoV-2 yang ditemukan di Inggris yaitu B.1.1.7 yang memiliki karakteristik mutasi pada gen S, kemudian disebut sebagai 20I/501Y.V1 (Parwanto, 2021; Rambaut Andrew et al, 2020). Selain varian B.1.1.7 di atas, ditemukan juga varian B.1.351 di Afrika Selatan. Varian B.1.351 memiliki 8 mutasi pada gen S, 3 diantaranya yaitu K417N, E484K dan N501Y. Istilah lain untuk varian B.1.351 yaitu 501Y.V2. Dilaporkan bahwa varian B.1.351 memiliki afinitas terhadap ACE2 20 kali lebih kuat dibanding varian SARS-CoV-2 yang mewabah di Wuhan, China (Tegally et al., 2020; Zhou et al., 2021).

Dari penjelasan diatas dapat disimpulkan bahwa terjadinya mutasi dapat menyebabkan variasi genetik virus SARS-CoV-2. Peran protein spike dalam pengikatan reseptor dan fusi membran menunjukkan bahwa vaksin berdasarkan protein spike dapat menginduksi antibodi untuk memblokir pengikatan dan fusi virus atau menetralkan infeksi virus (Du et al., 2009). Di antara semua protein struktural SARS-CoV, protein spike adalah komponen antigenik utama yang bertanggung jawab untuk menginduksi respons imun inang, menetralkan antibodi dan atau kekebalan protektif terhadap infeksi virus. Oleh karena itu, protein spike telah dipilih sebagai target penting untuk pengembangan vaksin dan antivirus. Variasi genetik pada bagian virus yang berperan pada bagian yang akan dikenali oleh antibodi dapat mempengaruhi efikasi vaksin COVID-19. Dengan demikian pada penelitian kali ini akan dilakukan studi bioinformatika mengenai variasi genetik SARS-CoV-2 pada isolat yang berasal dari populasi di Indonesia merupakan varian L452R dan N501Y. Rumusan permasalahan pada penelitian ini adalah pada bagian gen pengkode protein spike terjadinya mutasi genetik pada isolat SARS-CoV-2 varian L452R dan N501Y di populasi Indonesia dan apakah mutasi genetik tersebut terjadi pada bagian RBD?

Tujuan dari penelitian ini adalah menganalisis mutasi genetik L452R dan N501Y pada isolat virus SARS-CoV-2 yang ditemukan di Indonesia untuk mendapatkan gambaran terhadap perannya pada daerah pengikatan reseptor ACE2.

Manfaat penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai mutasi genetik isolat SARS-CoV-2 yang berguna untuk pengembangan vaksin dan berbagai penelitian lainnya.

## B. Metodologi Penelitian

Studi bioinformatik yang diawali dengan pencarian urutan gen pengkode protein S SARSCoV2 yang mengalami mutasi dari isolat pasien Indonesia pada laman Global Initiative on Sharing All Influenza Data (GISAID). Selanjutnya urutan genom SARSCoV2 yang dilaporkan pertama kali di Wuhan (Wuhan-1) diekstrak dari laman National Center for Biotechnology Information (NCBI) untuk dijadikan pembanding. Urutan gen pengkode protein S yang telah diperoleh dr GISAID dibandingkan terhadap urutan gen pengkode protein S isolat Wuhan-1 menggunakan perangkat lunak Clustal Omega. Untuk membandingkan urutan asam amino isolat-isolat tersebut, Coding Sequens (CDS) protein S isolat wuhan-1 diterjemahkan menjadi urutan asam amino menggunakan Skaminsky115. Urutan nukleotida dan asam amino protein S yang telah diperoleh kemudian dianalisis untuk memetakan posisi

RBD berkaitan dengan mutasi yg terjadi.

### C. Hasil Penelitian dan Pembahasan

Pada penelitian ini telah dilakukan pencarian data untuk melihat perbedaan urutan dibagian protein Spike dari isolat pasien COVID-19 di Indonesia untuk melakukan analisis mutasi pada RBD yang terdapat di urutan protein S. Ditemukan bahwa protein Spike dari SARS-CoV-2 menghasilkan antibodi poliklonal dan dengan kuat menetralkan masuknya SARS-CoV-2 ke dalam sel melalui perantara pelekatan protein S sehingga banyak digunakan sebagai target molekuler untuk vaksinasi dan imunoterapi. Mutasi pada RBD diperkirakan dapat mempengaruhi efektifitas vaksin karena mutasi ini dapat mengubah konformasi protein S yang sebelumnya dikenali oleh antibodi menjadi tidak dikenali antibodi hasil vaksin. (Salvatori et al., 2020).

**Tabel 1.** Isolat Indonesia

| No. | Isolat           | Kode Akses      |
|-----|------------------|-----------------|
| 1   | Surabaya 1       | EPI_ISL_2570811 |
| 2   | Surabaya 2       | EPI_ISL_2570805 |
| 3   | Jakarta 1        | EPI_ISL_2364675 |
| 4   | Sumatera Selatan | EPI_ISL_1969250 |
| 5   | Jakarta 2        | EPI_ISL_2429144 |
| 6   | Jakarta 3        | EPI_ISL_2500468 |
| 7   | Jakarta 4        | EPI_ISL_2382404 |
| 8   | Bali             | EPI_ISL_1824605 |

Setelah dilakukan penyejajaran urutan basa DNA pada isolat Wuhan-Hu-1 dan Indonesia ditemukan beberapa mutasi. Seperti terlihat pada **Error! Reference source not found.** bagian A isolat yang berasal dari Surabaya termasuk kedalam mutasi yang terjadi pada varian Delta ditemukan beberapa perbedaan urutan basa yaitu residu ke-480 mengalami mutasi *missense* yaitu pada isolat Wuhan-Hu-1 terdapat guanin sedangkan pada isolat Indonesia terdapat adenin. Baris lainnya isolat Indonesia terjadi delesi dimana urutan basa hilang beserta dengan urutan asam amino. Pada bagian B isolat yang berasal dari Jakarta dan Sumatera Selatan termasuk kedalam mutasi yang berada dalam varian Kappa, mutasi yang ditemukan yaitu pada isolat Sumatera Selatan urutan DNA ke-480 pada Wuhan-Hu-1 adalah timin sedangkan pada isolat Indonesia adalah guanin. Mutasi ditemukan juga pada isolat Jakarta mengalami perubahan yaitu adenin sedangkan pada isolat Wuhan-Hu-1 yaitu guanin. Bagian C isolat yang berasal dari Jakarta yang dibagi menjadi Jakarta 2 dan Jakarta 3, mutasi terjadi pada urutan DNA ke-471 yaitu sitosin, sedangkan pada isolat Wuhan-Hu-1 adalah timin. Kemudian mengalami delesi yang ditandai dengan (-). Bagian D yaitu isolat yang berasal dari Jakarta 4 dan Bali tidak mengalami perubahan pada urutan basa DNA.



Bali.

**not found.** bagian A isolat Surabaya ditemukan beberapa perbedaan urutan asam amino yaitu (aa 478) terdapat mutasi *missense* prolin- leusin. Urutan selanjutnya isolat Surabaya mengalami delesi sehingga salah mengartikan asam amino yang seharusnya leusin, lisin dan serin menjadi prolin. Bagian B isolat Jakarta dan Sumatera Selatan mengalami perubahan pada residu ke-480 yaitu histidin, sedangkan asam amino pada isolat Wuhan-Hu-1 yaitu glisin (a). Pada baris lainnya mengalami perubahan pada aa 480 yaitu fenilalanin, sedangkan pada isolat Wuhan-Hu-1 yaitu leusin. Perubahan tersebut adalah mutasi *missense* dimana urutan DNA dan asam amino berubah. Bagian C isolat Jakarta 2 dan Jakarta 3 terjadi kesenjangan atau gap pada residu ke-471, sedangkan pada isolat Wuhan-Hu-1 residu ke-480 yaitu isoleusin. Perubahan tersebut adalah mutasi diam dan delesi karena terjadi mutasi pada urutan DNA sedangkan urutan asam amino tidak terjadi mutasi akan tetapi mengalami delesi atau penghapusan bagian tertentu. Bagian D isolat Jakarta 4 dan Bali setelah dilakukan penyejajaran urutan asam amino tidak ditemukan perbedaan urutan asam amino.

|                                           |                 |     |
|-------------------------------------------|-----------------|-----|
| <b>A</b>                                  |                 |     |
| (a)                                       |                 |     |
| Wuhan-Hu-1                                | LEULEUGLYLSASNP | 480 |
| Indonesia/Surabaya/EPI_ISL_2570811        | LEULEUGLYLSASNP | 478 |
| Indonesia/Surabaya/EPI_ISL_2570805        | LEULEUGLYLSASNP | 478 |
| (b)                                       |                 |     |
| Wuhan-Hu-1                                | LYSSERGLNILEAR  | 540 |
| Indonesia/Surabaya/EPI_ISL_2570811        | LYSSERGLNILEAR  | 534 |
| Indonesia/Surabaya/EPI_ISL_2570805        | LYSSERGLNILEAR  | 534 |
| <b>B</b>                                  |                 |     |
| (a)                                       |                 |     |
| Indonesia/Jakarta/EPI_ISL_2364675         | LEULEUGLYLSASNP | 480 |
| Wuhan-Hu-1                                | LEULEUGLYLSASNP | 480 |
| Indonesia/SumateraSelatan/EPI_ISL_1969250 | LEULEUGLYLSASNP | 480 |
| (b)                                       |                 |     |
| Indonesia/Jakarta/EPI_ISL_2364675         | LYSSERGLNILEAR  | 518 |
| Wuhan-Hu-1                                | LYSSERGLNILEAR  | 540 |
| Indonesia/SumateraSelatan/EPI_ISL_1969250 | LYSSERGLNILEAR  | 540 |
| <b>C</b>                                  |                 |     |
| (a)                                       |                 |     |
| Wuhan-Hu-1                                | LEULEUGLYLSASNP | 480 |
| Indonesia/Jakarta/EPI_ISL_2429144         | LEULEUGLYLSASNP | 471 |
| Indonesia/Jakarta/EPI_ISL_2500468         | LEULEUGLYLSASNP | 472 |
| (b)                                       |                 |     |
| Wuhan-Hu-1                                | LYSSERGLNILEAR  | 540 |
| Indonesia/Jakarta/EPI_ISL_2429144         | LYSSERGLNILEAR  | 531 |
| Indonesia/Jakarta/EPI_ISL_2500468         | LYSSERGLNILEAR  | 532 |
| <b>D</b>                                  |                 |     |
| (a)                                       |                 |     |
| Wuhan-Hu-1                                | LEULEUGLYLSASNP | 480 |
| Indonesia/Jakarta/EPI_ISL_2382404         | LEULEUGLYLSASNP | 480 |
| Indonesia/Bali/EPI_ISL_1824605            | LEULEUGLYLSASNP | 480 |
| (b)                                       |                 |     |
| Wuhan-Hu-1                                | LYSSERGLNILEAR  | 540 |
| Indonesia/Jakarta/EPI_ISL_2382404         | LYSSERGLNILEAR  | 540 |
| Indonesia/Bali/EPI_ISL_1824605            | LYSSERGLNILEAR  | 540 |

**Gambar 2.** Hasil penyejajaran urutan Asam amino isolat Wuhan-Hu-1 dengan A. Isolat Surabaya, B. Isolat Jakarta dan Sumatera Selatan, C. Isolat jakarta 2 dan jakarta 3, D. Isolat Jakarta 4 dan Bali.

## D. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penyejajaran urutan basa DNA dan urutan asam amino yang mengalami mutasi berada pada daerah sekitar RBD (urutan ke-455 sampai 501) yaitu pada urutan asam amino ke (471, 472, 478, 480, 534). Mutasi pada protein spike terjadi pada RBD (*Receptor Binding Domain*) diperkirakan mengganggu pengenalan antibodi SARS-CoV-2 yang diarahkan terhadap protein spike SARS-CoV-2. Namun demikian, perlu dilakukan pengujian lebih lanjut untuk membuktikan hipotesa tersebut, dengan melihat interaksi antibodi dengan protein spike yang telah bermutasi.

## Acknowledge

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Ibu apt. Bertha Rusdi, M.Si., Ph.D. selaku dosen pembimbing utama dan ibu Dr. apt. Dina Mulyanti, M.Si. selaku pembimbing serta yang senantiasa memberikan bimbingan, motivasi, perhatian, meluangkan waktunya, memberikan kritik dan saran dalam penyusunan skripsi ini.

## Daftar Pustaka

- [1] Du, L., He, Y., Zhou, Y., Liu, S., Zheng, B. J., & Jiang, S. (2009). The spike protein of SARS-CoV - A target for vaccine and therapeutic development. In *Nature Reviews Microbiology* (Vol. 7, Issue 3, pp. 226–236). Nat Rev Microbiol. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2090>
- [2] Lan, J., Ge, J., Yu, J., Shan, S., Zhou, H., Fan, S., Zhang, Q., Shi, X., Wang, Q., Zhang, L., & Wang, X. (2020). Structure of the SARS-CoV-2 spike receptor-binding domain bound to the ACE2 receptor. *Nature*, 581(7807), 215–220. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2180-5>
- [3] Lee, J., Choi, M., Jung, Y., Kyun, S., Lee, C., & Kim, J. (2020). A novel rapid detection for

- SARS-CoV-2 spike 1 antigens using human angiotensin converting enzyme 2 (ACE2). *Biosensors and Bioelectronics*, 171(January). <https://doi.org/10.1016/j.bios.2020.112715>
- [4] Parwanto, E. (2021). *Virus Corona (SARS-CoV-2) penyebab COVID-19 kini telah bermutasi*. <https://www.jbiomedkes.org/index.php/jbk/article/view/169/99>
- [5] Rambaut Andrew et al. (2020). *Preliminary genomic characterisation of an emergent SARS-CoV-2 lineage in the UK defined by a novel set of spike mutations - SARS-CoV-2 coronavirus / nCoV-2019 Genomic Epidemiology - Virological*. <https://virological.org/t/preliminary-genomic-characterisation-of-an-emergent-sars-cov-2-lineage-in-the-uk-defined-by-a-novel-set-of-spike-mutations/563>
- [6] Salvatori, G., Luberto, L., Maffei, M., Aurisicchio, L., Aurisicchio, L., Roscilli, G., Roscilli, G., Palombo, F., Marra, E., & Marra, E. (2020). SARS-CoV-2 spike protein: An optimal immunological target for vaccines. In *Journal of Translational Medicine* (Vol. 18, Issue 1, p. 222). BioMed Central Ltd. <https://doi.org/10.1186/s12967-020-02392-y>
- [7] Sutapa, G. N., & Kasmawan, I. G. A. (2017). Efek induksi mutasi radiasi gamma  $^{60}\text{Co}$  pada pertumbuhan fisiologis tanaman tomat (*Lycopersicon esculentum* L.). *Jurnal Keselamatan Radiasi Dan Lingkungan*, 1(2), 5–11.
- [8] Tegally, H., Wilkinson, E., Giovanetti, M., Iranzadeh, A., Fonseca, V., Giandhari, J., Doolabh, D., Pillay, S., San, E. J., Msomi, N., Mlisana, K., von Gottberg, A., Walaza, S., Allam, M., Ismail, A., Mohale, T., Glass, A. J., Engelbrecht, S., van Zyl, G., ... de Oliveira, T. (2020). Emergence and rapid spread of a new severe acute respiratory syndrome-related coronavirus 2 (SARS-CoV-2) lineage with multiple spike mutations in South Africa. In *medRxiv*. medRxiv. <https://doi.org/10.1101/2020.12.21.20248640>
- [9] Zhou, D., Dejnirattisai, W., Supasa, P., Liu, C., Mentzer, A. J., Ginn, H. M., Zhao, Y., Duyvesteyn, H. M. E., Tuekprakhon, A., Nutalai, R., Wang, B., Paesen, G. C., Lopez-Camacho, C., Slon-Campos, J., Hallis, B., Coombes, N., Bewley, K., Charlton, S., Walter, T. S., ... Sreaton, G. R. (2021). Evidence of escape of SARS-CoV-2 variant B.1.351 from natural and vaccine-induced sera. *Cell*, 184(9), 2348-2361.e6. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2021.02.037>