

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang**

Pada akhir bulan Desember 2019 di Wuhan, Cina, beberapa pasien dirawat di rumah sakit dengan diagnosis awal pneumonia dari etiologi yang tidak diketahui. Pasien-pasien ini secara epidemiologis terkait dengan makanan laut dan hewan basah di pasar grosir Wuhan. Interaksi yang terjadi antara hewan liar dengan manusia menjadi sumber terjadinya infeksi zoonosis seperti *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus* (SARS-CoV) dan *Middle Eastern Respiratory Syndrome Coronavirus* (MERS-CoV) yang menjadi epidemik pada tahun 2002 dan 2012 (Müller et al., 2018). Virus corona merupakan jenis virus RNA yang dapat menginfeksi saluran pernafasan akut pada manusia. Selain itu, virus ini memiliki kemampuan untuk menginfeksi berbagai inang dari spesies yang berbeda, sehingga penyakit ini memiliki kompleksitas patogen yang sangat rumit (Ye et al., 2020).

Kasus infeksi SARS-CoV-2 dapat menyebabkan pneumonia dan infeksi saluran pernapasan atas maupun bawah. Dua gejala klinis utamanya berupa demam dan batuk, gejala lain dapat berupa sesak napas, nyeri otot (mialgia) atau kelelahan, kebingungan, sakit kepala, sakit tenggorokan, dan bahkan gangguan pernafasan akut yang mengarah pada kegagalan multiorgan. Infeksi SARS-CoV-2 pada orang lanjut usia dengan penyakit komorbid seperti diabetes, hipertensi, atau penyakit jantung, dapat menyebabkan kegagalan pernapasan yang bahkan mengakibatkan kematian (Rothan & Byrareddy, 2020). Pada awal bulan Maret 2020, World Health Organization menyatakan penyakit ini sebagai pandemik di seluruh dunia (WHO, 2020). Hingga bulan April 2021, kasus CoViD-19 telah mencapai jumlah 151 juta di seluruh belahan dunia dengan tingkat kematian mencapai angka 2%. Hal yang sama terjadi di Indonesia dimana kasus positif CoViD-19 terus mengalami peningkatan setiap bulannya

bahkan hingga saat ini kasus yang dilaporkan sudah mencapai 1,6 juta dengan tingkat kematian mencapai 2,7% (Go, 2021). Jumlah pasien CoViD-19 semakin meningkat dari waktu ke waktu dikarenakan penyakit ini sangat mudah menular. Beberapa cara untuk mencegah penyebaran penyakit ini ialah dengan melakukan tracing, tracking, treatment, dan vaksinasi (Hidayat et al., 2020).

SARS-CoV-2 termasuk ke dalam jenis virus RNA sense positif yang diselubungi oleh lapisan lipid. Virus corona masuk ke dalam famili coronaviridae yang terdiri dari grup alfa, beta, delta, dan gamma coronavirus. Virus SARS-CoV-2 termasuk ke dalam kelompok Betacoronavirus (Jaimes et al., 2020). Isolat  $\beta$ -coronavirus yang ditemukan di Wuhan Cina pada bulan Januari 2020 dengan nama Wuhan-Hu-1 (Nomor GenBank: NC\_045512) memiliki kemiripan 96% dengan SARS-CoV (Chen et al., 2020). Komponen struktural virus SARS-CoV-2 dengan ukuran genom ~30kb ini terdiri dari protein Spike (S), protein Membran (M), protein Envelope (E), protein Nukleokapsid (N), dan material genetik berupa RNA (Gralinski & Menachery, 2020).

Protein S memiliki peranan penting dalam mekanisme infeksi virus SARS-CoV-2 terhadap sel inang. Protein S mengenali reseptor Angiotensin Converting Enzyme 2 (ACE-2) pada permukaan sel inang target sehingga virus ini dapat masuk dan memperbanyak diri pada sel yang terinfeksi yang selanjutnya akan tersebar dengan cepat pada sel yang memiliki reseptor ACE-2 (Jiang et al., 2020).

Protein S merupakan glikoprotein berukuran besar dengan berat molekul 220 kDa yang terdiri dari dua subunit yaitu S1 (domain pengikat reseptor) dan S2 (domain fusi). Subunit S1 terdiri dari dua domain yang disebut N-terminal domain (NTD) dan C-terminal domain (CTD) yang mengandung receptor binding domain (RBD). Sedangkan subunit S2 berisi elemen yang diperlukan untuk fusi membran, termasuk peptide fusi membran internal

(FP), 7-peptide repeats (HR), membrane-proximal external region (MPER), dan domain transmembran (TM) (Walls C et al., 2020).

Menurut Fernández, (2020) mutasi dari virus SARS-CoV-2 sangat perlu untuk diperhatikan dalam penanganan wabah. Mutasi virus dapat menyebabkan peningkatan kemampuan penularan, perubahan jalur patogenesis, perubahan respon sistem imun, serta resistensi virus terhadap terapi. Pada tanggal 15 Maret 2020, tim peneliti dari *the West China Hospital of Sichuan University* melaporkan mutasi baru dari SARS-CoV-2 yang diprediksi sudah tersebar luas ke seluruh penjuru dunia dan membutuhkan perhatian khusus. Penelitian tim Shang et al., 2020 dari University of Minnesota mempelajari protein Spike yang ada pada permukaan SARS-CoV-2 dan menemukan bahwa beberapa mutasi terjadi pada galur SARS-CoV-2 yang membentuk “ridge” yang sangat rapat pada protein S hasil dari kristalografi sinar-x. Ridge pada SARS-CoV-2 lebih solid dibandingkan dengan virus SARS, hal ini menjadi salah satu alasan mengapa SARS-CoV-2 lebih mudah menular.

Penelitian Ou et al., (2020), menemukan 32 galur mutan RBD yang dapat dikelompokkan menjadi 10 jenis mutan. Diantara 32 galur mutan RBD, tiga jenis mutasi (N354D/D364Y, V367F, W436R) menunjukkan peningkatan afinitas terhadap ACE-2 manusia secara signifikan, yang ditunjukkan oleh penurunan nilai  $\Delta G$ -nya. Oleh karena itu, mutan ini diprediksi bersifat lebih infeksius pada manusia. Penelitian lain yang dilakukan oleh Banerjee & Ray, (2020) dari India telah menunjukkan tiga titik mutasi yang sering terjadi (G476S, V483A, D614G) di subunit S1 SARS-CoV-2 yang diisolasi dari Amerika Utara. Dua mutasi G476S dan V483A berada pada RBD protein Spike, sedangkan mutasi D614G berada diluar RBD.

Mutasi D614G merupakan satu dari beberapa mutasi yang terjadi pada protein S, mutasi tersebut merubah asam amino aspartat menjadi asam amino glisin pada posisi 614.

Mutasi D614G berada pada daerah C-terminal yang menghubungkan antara subunit S1 dengan subunit S2. Gugus karboksil pada asam aspartat 614 dapat membentuk ikatan hidrogen dengan gugus hidroksil pada asam amino arginin 859, sedangkan pada mutan glisin 614 ikatan hidrogen tidak dapat terbentuk. Efek mutasi D614G dapat menyebabkan banyaknya pelepasan subunit S1 dari protein Spike sehingga virus dapat masuk meski tidak berinteraksi dengan reseptor ACE2 (Zhang et al., 2020; Fernández, 2020).

Mutan D614G CoViD-19 menyebar dengan kecepatan yang luarbiasa. Menurut (Korber et al., 2020) pada awal bulan Februari 2020 dari 33 sekuen yang diamati tidak ditemukan adanya mutasi, namun pada bulan Maret 2020 sekuen yang baru ditemukan 26% diantaranya mengalami mutasi dan terus meningkat disetiap bulannya bahkan pada bulan April dan Mei mencapai angka 65% dan 70%. Data ini berkorelasi dengan meningkatnya jumlah virus load pada pasien CoViD-19.

Genom virus SARS-CoV-2 memiliki varian yang berbeda untuk setiap negara, seluruh genom virus yang berasal dari pasien COVID-19 dikumpulkan dan dipublikasikan pada database online *Global Initiative on Sharing All Influenza Data* (GISAID). GISAID merupakan database yang dengan cepat membagikan data berupa urutan genetik, klinis dan epidemiologi dari semua virus influenza dan virus corona yang menyebabkan pandemik di seluruh negara. Data – data GISAID dapat membantu para peneliti memahami bagaimana virus berevolusi dan menyebar selama epidemik dan pandemik yang terjadi (Elbe & Buckland-Merrett, 2017).

Urutan genom dari virus SARS-CoV-2 dapat membantu informasi terkait sifat patogen dan juga epidemiologinya. Dalam beberapa dekade metode sekuensing digunakan untuk memahami penularan wabah yang diakibatkan oleh virus seperti influenza. Epidemiologi genomik merupakan istilah yang mencakup segala hal mulai dari dinamika kependudukan

hingga rekonstruksi kejadian penularan terhadap individu pada saat wabah terjadi (Gardy & Loman, 2018).

Efek mutasi pada gen virus perlu dimonitor karena berpotensi mengubah struktur protein dan sifatnya. *Genomik surveillance* berguna untuk memperhatikan evolusi virus dari waktu ke waktu, khususnya jika perubahannya terjadi pada bagian yang dikenali oleh antibodi atau sistem imun manusia. Simulasi dinamika molekul merupakan metode yang dapat mengamati perubahan struktur protein secara dinamik sehingga efek mutasi yang terjadi pada protein S dapat diamati secara langsung dalam rentang waktu tertentu. Hal ini menjadi salah satu upaya dalam membantu *genomic surveillance*.

Pada bulan Mei 2020, tercatat 9 sekuens genom virus SARS-CoV-2 yang berasal dari Indonesia dan telah diunggah di database GISAID, tujuh diantaranya berasal dari Eijkman dan dua lainnya berasal dari Lembaga Penyakit Tropis Universitas Airlangga (LPT UNAIR). Data sekuens yang diunggah ke GISAID berfungsi untuk memudahkan peneliti dalam membandingkan ribuan sekuens genom virus SARS-CoV-2. Sehingga perkembangan mutasi virus SARS-CoV-2 dapat dipetakan dari awal penyebaran di Indonesia. Kepala Lembaga biologi molekuler (LBM) Eijkman, Prof. Amin Soebandrio menyatakan jika data hasil sekuensing dapat digunakan untuk menelusuri penyebaran virus di dalam negeri dengan cara menelusuri pergerakan pasien positif yang melakukan kontak dengan orang lain. Hingga bulan Februari 2021 Indonesia sudah berhasil mengunggah 190 sekuens lengkap virus SARS-CoV-2 dengan berbagai metode sekuensing yang ada di berbagai daerah di Indonesia.

Simulasi dinamika molekul merupakan suatu tools bioinformatik yang dapat digunakan untuk mengetahui perilaku suatu protein secara dinamik. Simulasi ini didasarkan pada medan gaya setiap residu asam amino yang didapatkan secara empiris dan tersedia didalam program yang digunakan. Setiap asam amino memiliki rantai samping yang berbeda

– beda sehingga medan gaya yang dihasilkan setiap asam amino akan berbeda satu sama lainnya. Medan gaya ini yang menyebabkan protein dapat bergerak atau dinamik per satuan waktu selama simulasi berlangsung. Sehingga ketika ada perubahan asam amino dinamika protein yang dimutasikan dapat berbeda antara satu sama lain. Simulasi dinamika molekul *coarse grained* dapat mempercepat waktu simulasi dikarenakan residu asam amino dibuat menjadi lebih sederhana.

Berdasarkan latar belakang yang telah dipaparkan, pada penelitian ini dilakukan pemetaan mutasi yang terjadi pada protein S SARS-CoV-2 galur Indonesia. Selanjutnya struktur Protein S mutan dan natif dimodelkan dan dilakukan simulasi dinamika molekul *coarse grained* untuk mengetahui efek mutasi terhadap perilaku struktural dari protein S dari SARS-CoV-2 di Indonesia.

## **1.2 Identifikasi Masalah**

Berdasarkan latar belakang yang telah dipaparkan, dapat diidentifikasi masalah yang menjadi dasar penelitian ini yaitu:

1. Bagaimana pemetaan mutasi protein Spike SARS-CoV-2 di Indonesia?
2. Apa pengaruh mutasi terhadap compactness antara subunit S1 dan S2 terkait dengan kemampuan transmisi virus?
3. Apa pengaruh mutasi terhadap konformasi epitop protein spike terkait dengan *escaping* antibodi?

## **1.3 Maksud dan Tujuan Penelitian**

Maksud penelitian ini untuk analisis pengaruh mutasi terhadap kestabilan protein S SARS-CoV-2 strain Indonesia yang kemudian dapat digunakan untuk membantu upaya *Genomic surveillance* CoViD-19

Adapun tujuan penelitian ini adalah:

1. Memetakan mutasi pada struktur protein Spike SARS-CoV-2 di Indonesia
2. Menganalisis pengaruh mutasi terhadap *compactness* subunit S1 dan S2 pada protein Spike SARS-CoV-2 di Indonesia.
3. Menganalisis perubahan epitop pada protein spike menggunakan simulasi dinamika molekul *Coarse Grained*.

#### **1.4 Manfaat Penelitian**

Penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat untuk perkembangan ilmu pengetahuan dan berkontribusi dalam memetakan mutasi asam amino pada protein Spike di Indonesia serta efek mutasi. Data dari penelitian ini dapat digunakan sebagai bahan pertimbangan dari kandidat vaksin subunit berbasis protein Spike di Indonesia.