



Analisis Variasi Genetik Sekuen Gen Pengkode Protein Spike Virus MERS-CoV (PopSet : 1843801421) Menggunakan RFLP Secara *In Silico*

Feby Yeriska, Muhammad Zainal Umar, Nada Wafiq Hijriah, Reza Fadhlurrohman,
Afifatul Achyar

Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Padang
Jl. Prof. Dr. Hamka Air Tawar Padang, Kota Padang, Sumatera Barat

Email : feby.yeriska@gmail.com

ABSTRAK

Middle East Respiratory Syndrome (MERS) merupakan penyakit pernafasan akibat virus yang menyerang saluran pernafasan. MERS-CoV diduga awalnya berasal dari unta yang hidup di negara-negara Timur Tengah. Penyebab MERS adalah betacoronavirus dan mekanisme transmisi spesifik penyakit ini antara manusia dengan unta. MERS-CoV menginfeksi melalui perlekatan antara protein spike dengan reseptor dipeptidyl peptidase-4 (DPP4) pada sel inang. Protein Spike bertanggung jawab untuk masuknya virus melalui perlekatan dan fusi dengan membran sel inang. Penelitian ini berfokus pada gen pengkode protein spike virus MERS-CoV yang bertujuan untuk mengetahui polimorfisme yang terjadi pada gen pengkode protein Spike virus MERS-CoV menggunakan metode RFLP secara in silico. Hasil RFLP in silico dalam penelitian ini menunjukkan bahwa adanya variasi genetik di dalam situs pengenalan dari enzim AflII (Alel A1 dan Alel 2 dengan frekuensi alel masing-masing 0,625 dan 0,375) di dalam 8 sekuen RNA dari gen pengkode protein Spike untuk Virus Mers-CoV NCBI PopSet 1843801421.

Kata kunci: variasi genetik, Gen Spike, MERS-CoV, Protein Spike, RFLP in silico

PENDAHULUAN

Genetika Populasi (*Population Genetics*) adalah studi tentang distribusi dan perubahan frekuensi alel dalam suatu populasi. Dalam genetika populasi, semua pengertian dibatasi oleh mekanisme utama proses evolusi, yaitu : seleksi alam, penghanyutan genetic (*genetic drift*), mutasi dan aliran gen (*gene flow*), juga faktor rekombinasi, subdivisi populasi dan struktur populasi. Genetika populasi juga merupakan studi di cabang biologi yang meneliti fenomena alam seperti adaptasi dan spesiasi.

Keanekaragaman gen adalah segala perbedaan yang ditemui pada makhluk hidup dalam satu spesies (Indrawan, *et al.*, 2007). Indonesia merupakan salah satu negara dengan keanekaragaman hayati sangat tinggi (*megabiodiversity*). Keanekaragaman hayati adalah ketersediaan keanekaragaman sumber daya hayati berupa jenis maupun kekayaan plasma nutfah (keanekaragaman genetik di dalam jenis), keanekaragaman antar jenis dan keanekaragaman ekosistem (Sudarsono, *et al.*, 2005). Keanekaragaman genetik juga dipengaruhi oleh perkawinan antara jantan dan betina (Reddy, *et al.*, 2007).



Infeksi *Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus* (MERS-CoV) berkembang menjadi salah satu masalah kesehatan di seluruh dunia. “MERS-CoV” awalnya dilaporkan pada tahun 2012 sebagai penyebab dari infeksi pernapasan yang disebabkan oleh coronavirus patogen manusia. "MERS" menginfeksi lebih dari 2000 orang di 27 negara dan 4 benua. Di Timur Tengah, Arab Saudi tercermin sebagai episentrum infeksi “MERS-CoV”. Jutaan umat Muslim datang dari seluruh dunia berangkat ke Arab Saudi untuk menunaikan ibadah haji. Situasi ini memberikan kondisi yang menguntungkan bagi virus untuk bertransmisi lebih cepat. MERS-CoV memicu kejadian penyakit pernapasan di Timur Tengah dengan penyebaran sekunder ke Eropa, Afrika, Asia, dan Amerika Utara. Penyakit yang terjadi terutama negara-negara Timur Tengah dengan kasus tertinggi 88% diikuti oleh Asia 11%, Eropa 0,8% dan Amerika Serikat 0,1% (Nassar, *et al.*, 2018).

Coronavirus memiliki famili besar yang menyebabkan penyakit pada manusia dan hewan. Pada manusia dapat menyebabkan penyakit dengan gejala mulai dari *common cold* sampai meninggal dunia. Coronaviruses (*CoVs*) adalah virus RNA untai tunggal positif-sense milik keluarga Coronaviridae dan ordo Nidovirales (Chen, Liu, & Guo, 2020). Masa inkubasi merupakan periode antara infeksi dan munculnya tanda-tanda penyakit. Sebanyak 12 studi melaporkan masa inkubasi MERS. Rata-rata masa inkubasi dari virus MERS yaitu 5-6 hari (Park Jun, *et al.*, 2018). Gejala MERS-CoV berkisar dari gejala seperti influenza ringan hingga penyakit pernapasan akut yang parah (Memish, *et al.*, 2013).

Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus (MERS-CoV) adalah patogen reservoir zoonosis yang telah menyebabkan banyak wabah di pengaturan perawatan kesehatan, yang melibatkan banyak petugas kesehatan (Alfaraj *et al.*, 2018a; Memish dan Al-Tawfiq, 2014). MERS disebabkan oleh virus RNA untai tunggal bernama MERS-corona virus (MERS-CoV) yang termasuk dalam genus Beta coronavirus. (Almaghrabi *et al.* 2017). MERS-CoV memiliki tingkatan taksa, yaitu *Viruses; Riboviria* (realm); *Orthornavirae* (kingdom); *Pisuviricota* (phylum); *Pisoniviricetes* (class); *Nidovirales* (order); *Cornidovirineae* (suborder); *Coronaviridae* (family); *Orthocoronavirinae* (subfamily); *Betacoronavirus* (genus); *Merbecovirus* (subgenus); *Middle East respiratory syndrome-related coronavirus* (species) (ICTV, 2021). Tiga protein MERS-CoV diekspresikan pada virus : protein spike permukaan (S), glikoprotein membran (M), dan protein selubung (E). Protein S bertanggung jawab untuk masuknya virus melalui perlekatan dan fusi dengan membran sel inang. Reseptor sel inang MERS-CoV diidentifikasi sebagai cluster diferensiasi 26, juga dikenal sebagai *dipeptidyl peptidase-4* (Xia, *et al.*, 2014).



Virus ini memiliki genom yang tidak tersegmentasi dan berpotensi menyebabkan penyakit pernapasan, dengan tingkat keparahan yang bervariasi pada manusia dan hewan (Guy J. S., *et al.*, 2000). Genom MERS-CoV mengkodekan 10 protein yang terdiri dari dua poliprotein replika (ORF1ab dan ORF1a), empat protein struktural (E, N, S, dan M), dan empat protein nonstruktural (ORFs 3, 4a, 4b, dan 5). Selain gen rep dan struktural, ada gen protein aksesori yang diselengi antara gen protein struktural yang dapat mengganggu respon imun bawaan inang pada hewan yang terinfeksi. Analisis urutan genom menunjukkan bahwa Tylonycteris bat coronaviruses HKU4 dan HKU5 secara filogenetik terkait dengan MERS-CoV (mereka semua mewakili garis keturunan betacoronavirus C) (Zeinab, *et al.*, 2020).

Pada 1980-an, berbagai jenis penanda molekuler DNA telah diselidiki, misalnya *Restriction Fragment Length Polymorphism* (RFLP), *Random Amplified Polymorphic DNA* (RAPD), *Amplified Fragment Length Polymorphism* (AFLP), *Single-Strand Conformation Polymorphism* (SSCP) dan DNA Mikrosatelit. RFLP adalah metode yang diciptakan oleh Grodzicker, *et al.* pada tahun 1974 untuk mengidentifikasi polimorfisme DNA di antara individu yang berbeda. Prinsip dasarnya adalah sebagai berikut : pertama, DNA genom dari individu yang berbeda dipotong menjadi fragmen DNA dengan berbagai ukuran, menggunakan enzim restriksi yang diketahui. Kedua, fragmen DNA yang dicerna dipisahkan melalui analisis elektroforesis. Kelebihan utama RFLP adalah : 1) Ketepatan yang tinggi, karena dihasilkan dari situs tertentu melalui enzim restriksi yang diketahui dan hasilnya konstan sepanjang waktu dan lokasi. 2) Kodominasi, artinya peneliti dapat membedakan heterozigot dari homozigot. 3) Netralitas selektif mengacu pada situasi di mana alel yang berbeda dari gen tertentu memberikan kecocokan yang sama. Kekurangan dari RFLP adalah sebagai berikut : 1) Tahapan yang kompleks dan memakan waktu. 2) RFLP hanya dapat memeriksa mutasi spesifik di lokasi pemotongan enzim, yang membatasi identifikasi variasi genom keseluruhan. 3) Polimorfisme penanda RFLP relatif rendah dan harus dideteksi oleh radioisotop, yang membatasi penerapannya (Wanjie Yang, *et al.*, 2013).

Variasi genetik mampu dikaji secara *in silico* menggunakan sekuen gen yang terdapat pada database genbank NCBI. Uji *in silico* merupakan suatu istilah percobaan atau uji yang dilakukan dengan metode simulasi komputer. Kegunaan uji *in silico* adalah untuk memprediksi, memberi hipotesis, serta memberi penemuan baru dalam pengobatan dan terapi. Secara sederhana, *in silico* dapat diartikan sebagai metode untuk menyiasati pendekatan kondisi nyata ke dalam simulasi berbasis komputer menggunakan program aplikasi (*software*) tertentu. Studi *in silico* merupakan studi awal sebelum dilanjutkan dengan metode lain, seperti *in vivo* dan *in vitro* untuk membantu memprediksi serta memberikan hipotesis suatu penelitian (Achyar, *et al.*, 2021).



MERS-CoV merupakan kelompok virus yang bergenom RNA untai tunggal sehingga dapat bermutasi dengan lebih cepat. Mutasi ini diduga pada akhirnya akan menyebabkan variasi genetik (polimorfisme) sehingga penelitian ini dilakukan untuk mengetahui polimorfisme yang terjadi pada gen pengkode protein spike MERS-CoV (PopSet : 1843801421).

METODE PENELITIAN

Penelitian ini termasuk ke dalam jenis penelitian deskriptif. Penelitian dilakukan pada bulan Juli – November 2021 yang dilakukan secara *virtual from home* dalam menganalisis data dan mengumpulkan informasi objek penelitian. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah berupa sekuen nukleotida RNA MERS-CoV PopSet 1843801421 yang diunduh dari situs NCBI yang diisolasi dan diamplifikasi dari kultur sel 8 isolat virus MERS-CoV oleh Badr M. Al-Shomrani, *et al.* (2020) di Saudi Arabia. Metode dalam penelitian ini dilakukan dengan tahapan sebagai berikut.

Skrining kandidat enzim restriksi

Skrining enzim restriksi yang akan digunakan pada RFLP *in silico* dengan menggunakan situs <http://insilico.ehu.es/restriction/>. Situs ini dapat membandingkan pola restriksi dari sampel sekuen DNA yang diuji. Situs tersebut memiliki tools yaitu “*compare restriction pattern of many sequences*”. Sekuen gen yang sudah didapatkan dalam bentuk “FASTA”, kemudian diunggah pada slot yang sudah disediakan. Selanjutnya akan terlihat hasil alignment sekuen, jika sekuen tersebut sama maka akan dibuang untuk mempermudah analisis. Langkah selanjutnya yaitu “*only restriction enzymes with known bases (no N,R,Y...)*” digunakan agar memperoleh kandidat enzim restriksi dengan sisi pengenalan yang pasti. Kemudian “*get the list restriction enzyme*” dipilih untuk mendapatkan enzim restriksi yang akan digunakan.

RFLP secara *in silico*

RFLP adalah metode analisis sekuen nukleotida menggunakan enzim restriksi tertentu sehingga diperoleh polimorfisme berupa perbedaan panjang fragmen hasil restriksi atau pemotongan. RFLP dilakukan secara *in silico* atau restriksi secara virtual menggunakan situs <https://www.benchling.com/>. Pada tahap awal harus melakukan registrasi dengan menggunakan email. Jika sudah registrasi, dilanjutkan dengan import sekuen RNA yang sudah diunduh dari NCBI ke dalam folder project di situs Benchling. Selanjutnya mengklik tanda gunting pada pojok kanan. Kemudian tools “*find enzyme*” dipilih dan nama-nama enzim restriksi yang sudah ditentukan sebelumnya pada saat skrining, diketik pada kolom. Selanjutnya, klik menu “*run digest*” untuk restriksi. Dengan tools “*virtual digest*” dapat melihat gambar elektroforegram.

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

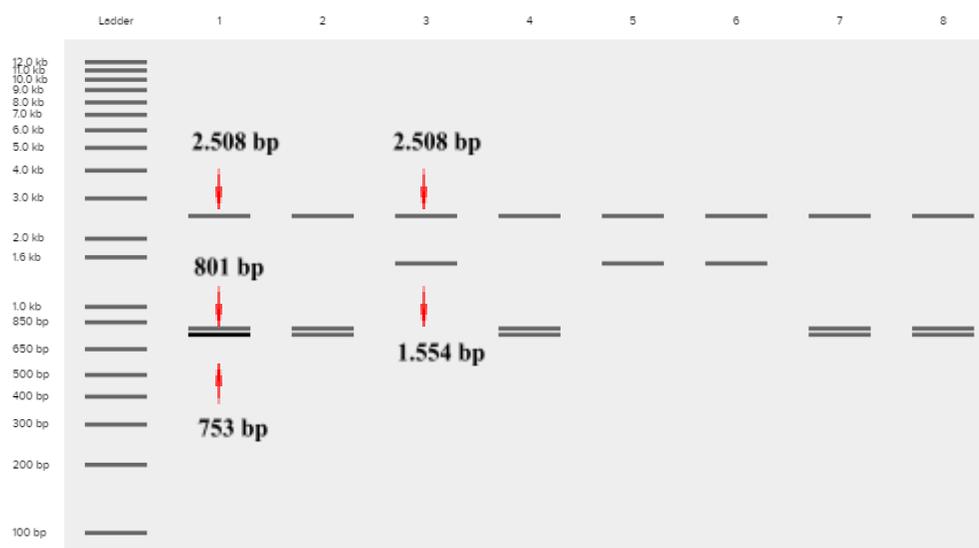
Skrining kandidat enzim restriksi

Berdasarkan output yang diperoleh dari skrining kandidat enzim restriksi pada situs <http://insilico.ehu.es/restriction/>, terdapat 8 sisi pengenalan enzim restriksi diantaranya C↓TTAA_G yang dikenali oleh enzim *AflII*. Sisi pengenalan ini dipilih karena menunjukkan variasi pemotongan pada semua sekuen gen dalam PopSet 1843801421.

AflII merupakan enzim restriksi yang berasal dari cyanobacterium *Anabaena flos-aquae* CCAP 1403/13f. Beberapa enzim adalah isoschizomer, yaitu enzim dengan spesifisitas pengenalan yang sama yang terjadi pada strain yang berbeda dan ini sering terjadi dalam berbagai kombinasi dengan endonuklease lain pada strain cyanobacteria yang berbeda (P. R. Whitehead and N. L. Brown, 1985). Isoschizomers enzim *AflII* adalah *BfrI*, *BspTI*, *Bst98I*, *BsTAFI*, *MspCI*, *Vha4641*.

RFLP secara *in silico*

Perkembangan ilmu pengetahuan dengan pemanfaatan teknologi saat ini merupakan sebuah hal yang menguntungkan dalam berbagai aspek keilmuan, terutama dalam bidang genetika. Dengan hadirnya berbagai macam *tools* bioinformatika, proses *screening* enzim restriksi dan visualisasi fragmen hasil restriksi dapat dilakukan secara *in silico* yang bertujuan untuk memprediksi hasil *genotyping* sebelum melakukan RFLP secara nyata di laboratorium (Achyar *et al.*, 2021).



Gambar 1. Elektroforegram hasil restriksi dengan enzim *AflII* secara *in silico*.

Ladder Life kb Plus, (1) MT226600.1, (2) MT226601.1, (3) MT226602.1, (4)
MT226603.1, (5) MT226604.1, (6) MT226605.1, (7) MT226606.1, (8) MT226607.1



RFLP secara *in silico* pada 8 sekuen RNA (yang sudah dikonversi menjadi cDNA) gen pengkode protein spike MERS-CoV NCBI PopSet 1843801421 dilakukan pada website Benchling menggunakan enzim restriksi yang telah dipilih pada tahap skrining kandidat enzim restriksi, yaitu enzim *AflIII*. Hasil RFLP *in silico* divisualisasikan dengan elektroforesis gel secara virtual seperti pada Gambar 1 untuk restriksi dengan enzim *AflIII*.

Restriksi dengan menggunakan enzim *AflIII* pada 8 sekuen gen pengkode protein spike MERS-CoV menghasilkan dua variasi alel, yaitu Alel A1 yang menghasilkan tiga pita RNA berukuran 2508 bp; 801 bp dan 753 bp, sedangkan Alel A2 menghasilkan dua pita RNA berukuran 2508 bp dan 1554 bp (Gambar 1 dan Tabel 1). Hal ini karena alel A1 memiliki situs pengenalan restriksi *AflIII* (C'TTAA_G) dengan sisi pemotongan pada basa ke-1483, 682 dan 3991. Sedangkan pada Alel A2 memiliki situs pengenalan restriksi *AflIII* (C'TTAA_G) dengan sisi pemotongan pada basa ke-1483 dan 3991. Alel A1 memiliki frekuensi alel lebih tinggi dibandingkan alel A2 karena memiliki persentase kehadiran fragmen 62,5% dari 8 sekuen pada NCBI PopSet 1843801421.

Tabel 1. Frekuensi Alel Gen Pengkode Protein Spike Berdasarkan Hasil RFLP *In Silico*

Enzim Restriksi	Situs Pengenalan Restriksi	Ukuran fragmen (bp)	Alel	Sampel Sekuen	Jumlah kehadiran fragmen (N = 8)	Persentase kehadiran fragmen (%)	Frekuensi Alel
<i>AflIII</i>	C'TTAA_G	2508	A1	1, 2, 4, 7 dan 8	5	62,5%	0,625
		801					
		753					
		2508	A2	3, 5 dan 6	3	37,5%	0,375
		1554					

Genom MERS-CoV terorganisasi dengan cara yang sama seperti spesies virus corona lainnya. Dua pertiga dari genom MERSCoV terdiri atas dua kerangka bacaan yang tumpang tindih (ORF1a dan ORF1b) yang diterjemahkan ke dalam kompleks replikasi-transkripsi dengan 16 protein non-struktural. Sepertiga yang tersisa dari genom mengkodekan empat protein struktural, protein spike (S), envelop (E), membran (M) dan



nukleokapsid (N), serta lima protein aksesori (ORF3, ORF4a, ORF4b, ORF5 dan ORF8b) yang tidak diperlukan untuk replikasi genom tetapi mungkin terlibat dalam virulensi.

Partikel virus memasuki sel dengan dua cara, yang mungkin berdampak pada tropisme jaringan secara luas virus ini yang bereplikasi terutama di sel epitel saluran pernapasan tetapi juga dapat menginfeksi banyak jenis sel lainnya. Melalui jalur endosom, domain S1 dari protein lonjakan (spike) MERSCoV (S) mengikat reseptornya, *dipeptidyl peptidase-4* (DPP4), menginduksi endositosis partikel virus dan perubahan konformasi subunit S2 dari protein S yang kemudian mentransfer virus ke fusi membran inang dan melakukan *uncoating* virus RNA. MERS-CoV juga dapat memasuki sel inang melalui mekanisme non-endosomal dengan fusi langsung virus dengan membran plasma setelah pembelahan protein S oleh protease manusia (A. Bleibtreu, *et al.*, 2020).

Berdasarkan hasil analisis RFLP yang dilakukan secara *in silico*, dapat diketahui adanya variasi genetik (polimorfisme) dalam sisi pengenalan restriksi enzim *AflIII* pada sekuen RNA gen pengkode protein spike MERS-CoV yang diisolasi dan diamplifikasi dari kultur sel 8 isolat virus MERS-CoV oleh Badr M. Al-Shomrani, *et al.* (2020) di Saudi Arabia. Menurut Dae-Won Kim, *et al.* (2016) dalam jurnal penelitiannya, variasi genetik gen pengkode protein spike terjadi akibat perubahan gen S yang terkait dengan evolusi virus dan kemungkinan penanda genetik dari perubahan transmisibilitas. Pada penelitian lainnya juga dikemukakan bahwa variasi genetik gen pengkode protein spike terjadi akibat substitusi nukleotida/variasi asam amino gen spike yang secara signifikan mempengaruhi transmisi virus, penyebaran penyakit ke sel inang yang diperluas dan evolusinya di lokasi geografis yang berbeda (Sayed S. Sohrab dan Esam I. Azhar, 2019).

PENUTUP

Hasil analisis dengan RFLP secara *in silico* pada penelitian ini menunjukkan adanya variasi genetik (polimorfisme) dalam sisi pengenalan restriksi enzim *AflIII* (alel A1 dan alel A2) pada 8 sekuen RNA gen pengkode Protein Spike virus MERS-CoV NCBI PopSet 1843801421.

Penelitian ini diharapkan mampu memberikan gambaran terkait polimorfisme yang terjadi pada sekuen RNA MERS-CoV dari NCBI PopSet 1843801421 sebelum dilakukan secara nyata di dalam laboratorium, meskipun kami meyakini penelitian ini masih jauh dari kata sempurna sehingga kritik beserta saran membangun akan sangat bermanfaat bagi kami untuk menyempurnakan penelitian ini kedepannya.

REFERENSI

A. Bleibtreu, M. Bertine , C. Bertin, N. Houhou-Fidouh, B. Visseaux. 2020. Review



Focus on Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV) Le point sur le MERS-Cov. *Médecine et maladies infectieuses* 50 (2020), 243–251. <https://doi.org/10.1016/j.medmal.2019.10.004>

- Achyar, A., Alvenaya H., Fadhila H., *et al.* 2021. Analysis of Genetic Variations in POLY Gene Sequences in Dengue Virus 2 Using In-Silico RFLP. *Bioscience*, 5 (1), pp. 80-86 ISSN: Print 1412-9760 – Online 2541-5948.
- Achyar, A., Atifah, Y., Putri, DH. 2021. In silico study of developing a method for detecting pathogenic bacteria in refillable drinking water samples. *Journal of Physics: Conference Series*, 1940(1): 012061.
- Alfaraj SH, Al-Tawfiq JA, Altuwaijri TA, Alanazi M, Alzahrani N, Memish ZA. 2018. Middle East respiratory syndrome coronavirus transmission among health care workers: Implication for infection control. *Am J Infect Control* 2018a;46 (February (2)):165–8.
- Badr M. Al-Shomrani, Manee M. Manee, Sultan N. Alharbi, *et al.* 2020. Genomic Sequencing and Analysis of Eight Camel-Derived Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus (MERS-CoV) Isolates in Saudi Arabia. *Viruses*. 2020 Jun; 12(6): 611. PMID: 32503352 Published online 2020 Jun 3. DOI: 10.3390/v12060611.
- Chen, Y., Liu, Q., & Guo, D. (2020). Emerging coronaviruses: Genome structure, replication, and pathogenesis. *Journal of Medical Virology*, 92(4), 418–423.
- Dae-Won Kim, You-Jin Kim, Sung Han Park, *et al.* 2016. Variations in Spike Glycoprotein Gene of MERS-CoV, South Korea, 2015. *Emerg Infect Dis*. 2016 Jan ; 22(1) : 100–104. PMID: 26691200 DOI: 10.3201/eid2201.151055.
- Guy, J. S., Breslin, J. J., Breuhaus, B., Vivrette, S., & Smith, L. G. (2000). Characterization of a coronavirus isolated from a diarrheic foal. *Journal of Clinical Microbiology*, 38(12), 4523–4526.
- Indrawan Mochamad. Richard B. Premack. Jatna Supriatna. 2007. *Biologi Konservasi*. Edisi Revisi. Jakarta : Yayasan Obor Indonesia.
- International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV). 2021 [20 Desember 2021]; Tersedia di <https://talk.ictvonline.org/taxonomy/>.
- M.S. Nassar , M.A. Bakhrebah , S.A. Meo, M.S. Alsuabeyl , W.A. Zaher. 2018. Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus (MERS-CoV) infection: epidemiology, pathogenesis and clinical characteristics. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences* 2018; 22: 4956-4961.



- Memish ZA, Zumla A and Al-Tawfiq JA. 2013. How great is the risk of Middle East respiratory syndrome coronavirus to the global population? *Expert Review of Anti-Infective Therapy* 11: 979–981.
- NCBI. Middle East respiratory syndrome-related coronavirus. Tersedia di https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?mode=Info&id=1335626&lvl=3&keep=1&srchmode=1&unlock&lin=s&log_op=lineage_toggle. Diakses pada 20 Desember 2021.
- Park, JE., Jung, S., Kim, A. 2018. MERS transmission and risk factors: a systematic review. *BMC Public Health* 18, 574. DOI.org/10.1186/s12889-018-5484-8.
- Philip R. Whitehead and Nigel L. Brown. 1985. Three Restriction Endonucleases from *Anabaena flos-aquae*. *Journal of General Microbiology*, 131, 951-958.
- Reddy, A., Prakash, V., dan Shiveji, S. 2007. A Rapid, Non-Invasive, PCR-Based Method for Identification of Sex of The Endangered Old World Vultures Implications for Captive Breeding Programmes. *Current Science*, 92 (5).
- S. Xia, Q. Liu, Q. Wang, *et al.*, “Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV) entry inhibitors targeting spike protein,” *Virus Research*, vol. 194, pp. 200–210, 2014.
- Sayed S. Sohrab and Esam I. Azhar. 2019. Genetic diversity of MERS-CoV spike protein gene in Saudi Arabia. *J Infect Public Health*, 2020 May; 13(5) : 709-717. PMID: 31831395 PMCID: PMC7102590 DOI: 10.1016/j.jiph.2019.11.007.
- Sударsono. 2005. *Taksonomi Tumbuhan Tinggi*. Malang : Universitas Negeri Malang.
- Wanjie Yang, Xiaolong Kang, Qingfeng Yang, Yao Lin and Meiyang Fang. 2013. Review on the development of genotyping methods for assessing farm animal diversity. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 4 (2).
- Zeinab Abdelrahman, Mengyuan Li, dan Xiaosheng Wang. 2020. Comparative Review of SARS-CoV-2, SARS-CoV, MERS-CoV, and Influenza A Respiratory Viruses. DOI.org/10.3389/fimmu.2020.552909.

UCAPAN TERIMA KASIH

Kami ucapkan terima kasih atas kesempatan yang telah diberikan oleh Jurusan Biologi, Universitas Negeri Padang melalui acara Seminar Nasional Biologi 2021 sehingga kami dapat menerbitkan artikel ini. Kami juga berharap artikel ini dapat bermanfaat bagi para pembaca untuk keperluan penelitian yang akan datang.