



Analisis Variasi Genetik Sekuen Gen Surface Glycoprotein (S) Pada SARS –CoV-2 Popset : 1843471817 Menggunakan RFLP Secara In-Silico

Karina Hukma Alya Putri, Kartika Puspita Sari, Khairunnisa, Monicha Yhuyhen Safitri,
Afif Putra, Katon Agusdi, Fahrul Rozi Oktavian, Afifatul Achyar

*Jurusan Biologi, Fakultas Ilmu Pengetahuan dan Matematika, Universitas Negeri Padang
Jalan Prof. Dr. Hamka, Air Tawar Barat, Kec. Padang Utara, Kota Padang, Sumatera Barat, 25132*
Email: afifatul.achyar@fmipa.unp.ac.id

ABSTRAK

Gen Surface glycoprotein (S) adalah gen penyandi protein pada tag lokus GU280_gp02 yang ditemukan pada virus *severe acute respiratory syndrome organism coronavirus 2* (SARS-CoV2) isolat Wuhan-Hu-1, nat-host: Homo sapiens. Virus SARS-CoV-2 adalah virus RNA untai tunggal berselubung positif yang menyebabkan penyakit coronavirus 2019 (COVID-19), protein struktural SARS-CoV-2 termasuk protein S merupakan target penting untuk pengembangan vaksin, terapi antibodi dan antigen tes diagnostik berbasis. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis variasi genetik sekuens gen glikoprotein (S) permukaan pada SARS-CoV-2 NCBI PopSet: 1843471817 menggunakan RFLP in-silico. Urutan RNA dipotong menggunakan 2 jenis enzim restriksi, yaitu *Bam*H1 dan *Bg*III. Hasil RFLP in-silico menunjukkan adanya variasi genetik pada situs restriksi enzim *Bam*HI (Alel A1 dan A2 dengan frekuensi alel 0,125 dan 0,875) dan *Bg*III (Alel B1 dan B2 dengan frekuensi alel 0,875 dan 0,125).

Kata kunci: *Gen Surface glycoprotein (S), SARS-CoV-2, RFLP in silico*

PENDAHULUAN

Genetika populasi adalah bidang biologi yang mempelajari komposisi genetic populasi biologi dan perubahan dalam komposisi genetik yang dihasilkan dari pengaruh berbagai faktor, termasuk seleksi alam. Genetika populasi mengejar tujuan mereka dengan mengembangkan model matematis abstrak dinamika frekuensi gen, mencoba untuk mengambil kesimpulan dari model-model tentang pola-pola kemungkinan variasi genetik dalam populasi yang sebenarnya dan menguji kesimpulan terhadap data empiris.

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, 2005).

Keanekaragaman gen adalah segala perbedaan yang ditemui pada makhluk hidup dalam satu spesies (Indrawan dkk., 2007). Pengetahuan tentang keragaman genetik sangat penting karena akan memberikan suatu informasi dasar dalam pengembangan selanjutnya. Menurut Wulandari (2008). Keragaman genetik digunakan sebagai bahan seleksi genotipe yang dikehendaki. Dalam keanekaragaman yang tinggi menyimpan gen berpotensi tinggi pula (Suryanto, 2003).

Perkembangan ilmu pengetahuan mempermudah mendeteksi keragaman genetik suatu individu berbasis molekuler. Keanekaragaman genetika dapat terjadi karena adanya perubahan nukleotida penyusun DNA. Perubahan ini mungkin dapat memengaruhi fenotipe suatu organisme yang dapat dipantau dengan mata telanjang, atau memengaruhi reaksi individu terhadap lingkungan tertentu. Secara umum keanekaragaman genetik dari suatu populasi dapat terjadikarena adanya mutasi, rekombinasi, atau migrasi gen dari satu tempat ke tempat lain (Suryanto, 2003).

Kebanyakan keturunan spesies mewarisi separuh gennya dari induk betina dan separuhnya lagi dari induk jantan, dengan demikian susunan genetiknya berbeda dengan kedua induknya atau dengan individu yang lain di dalam populasi (Indrawan dkk., 2007). Keanekaragaman genetik juga dipengaruhi oleh perkawinan antara jantan dan betina. Adanya perkawinan sedarah akan memengaruhi frekuensi alel dan menambah variasi genetik dalam suatu populasi.

Virus Corona atau severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV2) adalah virus yang menyerang sistem pernapasan. Penyakit karena infeksi virus ini disebut COVID-19. Virus Corona bisa menyebabkan gangguan ringan pada sistem pernapasan, infeksi paru-paru yang berat, hingga kematian.

Klasifikasi *SARS-CoV2*

Kingdom : *Riboviria*
Order : *Nidovirales*
Suborder : *Cornidovirineae*
Family : *Coronaviridae*
Subfamily : *Orthocoronavirinae*
Genus : *Betacoronavirus*
Spesies : *Severe acute respiratory syndrome-SARS-related coronavirus (SARS-CoV-2)*

Struktur dan Morfologi dari spesies SARS-CoV2

Virus adalah materi genetik yang diselubungi lapisan protein atau capsid. Cara hidup virus Corona, seperti virus lain, adalah menempel pada sel inang. Virus mengandalkan metabolisme inang untuk memenuhi kebutuhan dan memperbanyak diri, hingga mengambil alih kehidupan induk. Dengan cara hidup ini, struktur **virus corona** tidak

bisa dikategorikan sebagai makhluk hidup. Struktur virus berukuran sangat kecil dan bersifat parasit intraseluler obligat atau menempel pada inang. Virus memiliki materi genetik RNA atau DNA untuk memperbanyak diri.

Coronavirus adalah virus yang berbentuk bulat dan berdiameter sekitar 100-120 nm. Struktur virus berukuran sangat kecil dan bersifat parasit intraseluler obligat atau menempel pada inang. Virus memiliki materi genetik RNA atau DNA untuk memperbanyak diri. Materi genetik sangat penting bagi virus sehingga terlindung dalam lapisan protein atau capsid. Dikutip dari situs Balai Besar Karantina Pertanian Tanjung Priok, struktur virus Corona berbentuk bola dengan ukuran besar.

Beberapa jenis **virus corona** bersifat pleomorfik dengan kecenderungan bulat. Diameter rata-rata partikel adalah 125 nm dengan struktur virus Corona yang khas berupa amplop dan tonjolan seperti paku. Panjang genom Coronavirus berkisar antara 27 sampai 32 kilobasa. Amplop pada struktur virus Corona adalah lapisan lipid ganda yang terdiri atas protein penyusun membran (M), envelope (E), dan spike (S). Protein E dan M sangat penting dalam membentuk selubung dan mempertahankan struktur virus Corona. Struktur virus Corona rata-rata memiliki 74 S di permukaannya. Sedangkan dalam amplop, tersimpan protein nukleokapsid (N) yang melindungi informasi genetik RNA virus. Amplop, M, dan N melindungi virus Corona saat berada di luar inang.

Secara umum, bentuk virus corona bulat, dilapisi beberapa protein di permukaannya. Terdiri dari protein membran, protein spike (penancap), protein E (cangkang) dan protein N (nukleokapsida). Berikut beberapa protein virus corona NSP yang berperan menyebabkan Covid-19 pada manusia.

- a. Protein NSP1 penyabotase
- b. Protein NSP3 pengurai
- c. Protein NSP4 dan NSP6 pembuat gelembung
- d. Protein NSP7 dan NSP8 bantu NSP12 memperbanyak RNA
- e. Protein NSP10 yang mampu berkamuflase
- f. Protein NSP13 pengurai RNA
- g. Protein NSP13 pengurai RNA
- h. Protein NSP15 pembersih sisa RNA

Terdapat beberapa fungsi lain dari protein yang di dapat dari virus corona diantaranya adalah protein ORF3a yang dapat memicu peradangan yakni salah satu gejala paling berbahaya dari Covid-19, protein ORF6 yang berfungsi pemblok sinyal ke sistem kekebalan tubuh, protein ORF7a yang dapat memicu bunuh diri pada sel yang terinfeksi. Banyak protein yang berbeda dalam mereplikasi dan menyerang sel, spike merupakan protein utama yang digunakan virus corona untuk hidup di dalam reseptor protein yang bertindak seperti pintu masuk ke dalam sel manusia. Ketika protein spike terikat dengan reseptor manusia, maka membran virus akan bergabung dengan membran manusia, memungkinkan genom virus masuk ke dalam sel-sel tubuh dan mulai menginfeksi.

Uji *in silico* adalah suatu istilah untuk percobaan atau uji yang dilakukan dengan metode simulasi komputer. Uji *in silico* telah menjadi metode yang digunakan untuk mengawali penemuan senyawa obat baru dan untuk meningkatkan efisiensi dalam optimasi aktivitas senyawa induk. Kegunaan uji *in silico* adalah memprediksi, memberi hipotesis, memberi penemuan baru atau kemajuan baru dalam pengobatan dan terapi (Hardjono, 2013; Achyar *et al.* 2021).

Salah satu metode *in silico* yang banyak digunakan adalah *molecular docking*, ini adalah metode komputasi yang digunakan untuk memprediksi interaksi dua molekul menghasilkan model yang mengikat. Dalam banyak aplikasi penemuan obat, *docking* dilakukan antara molekul kecil dan makromolekul, misalnya *docking protein-ligan*. (Amberg, 2013; Fernando *et al.*, 2018).

Molekuler *docking* merupakan suatu prosedur komputasi untuk memprediksi konformasi protein atau molekul asam nukleat (DNA atau RNA), dan ligan yang merupakan molekul kecil atau protein lain. Dengan kata lain, molekuler *docking* mencoba untuk memprediksi struktur antarmolekul yang kompleks terbentuk antara dua atau lebih konstituen molekul (Dias, 2008).

METODE PENELITIAN

Sekuen gen *Surfaceglyco protein* yang digunakan untuk uji *insilico* diunduh dalam format fasta dari NCBI dengan nomor identitas NCBI PopSet 1843471817 yang dikirimkan oleh Zhang, Y., Chen, C., Song, Y., Zhu, S., Wang, D., Zhang, H., Han, G., Weng, Y., Xu, J., Xu, J., Yu, P., Jiang, W., Yang, X., Lang, Z., Yan, D., Wang, Y., Song, J., Gao, G.F., Wu, G. and Xu, W. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/popset/1843471817>). Dalam PopSet tersebut terdapat 8 sekuen gen pengkode outer membrane protein *surface glycoprotein*.

Skrining kandidat enzim restriksi yang akan dipakai pada RFLP *in silico* dilakukan dengan *tools* pada situs <http://insilico.ehu.es/restriction/>. Tools ini akan membandingkan pola restriksi dari banyak sekuen DNA yang diuji serta enzim restriksi yang memotongnya. Pada situs tersebut, tools yang dipilih adalah “*compare restriction pattern of many sequences*”. Sekuen gen yang sudah diunduh dalam bentuk fasta, diunggah pada kolom yang disediakan. Pada langkah selanjutnya akan terlihat hasil alignment masing-masing sekuen dan sekuen yang sama akan dibuang untuk mempermudah analisis. Langkah selanjutnya, opsi “*only restriction enzymes with known bases (no N,R,Y...)*” dipilih agar mendapatkan enzim restriksi dengan sisi pengenalan restriksi yang pasti. Kemudian tombol “*get the list restriction enzyme*” dipilih untuk memperoleh kandidat enzim restriksi yang akan digunakan pada tahap berikutnya, yaitu RFLP secara *in silico*

Restriction-Fragment Length Polymorphism (RFLP) secara *in silico* atau restriksi secara virtual dilakukan menggunakan tools pada situs <https://www.benchling.com/>. Situs ini gratis tetapi harus melakukan registrasi untuk membuat akun menggunakan email. Tahap awal yang dilakukan adalah melakukan **import 8 sekuen gen *Surface glycoprotein*** yang sudah diunduh dari NCBI ke dalam folder project di situs Benchling. Restriksi *in silico* dilakukan dengan mengklik simbol gunting pada pojok kanan layar. Kemudian tools “find enzyme” dipilih dan nama enzim restriksi yang sudah ditentukan sebelumnya pada saat skrining, diketikkan pada kolom yang tersedia. Selanjutnya, menu “run digest” diklik untuk melakukan restriksi. Adapun gambar elektroforegram diperoleh dengan mengklik menu “virtual digest” (Achyar *et al.* 2021)

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

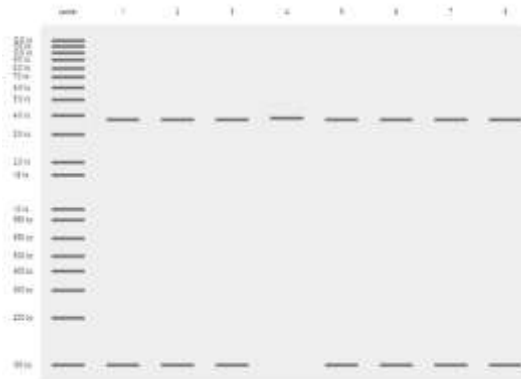
Skrining kandidat enzim restriksi

Berdasarkan output yang diperoleh dari skrining kandidat enzim restriksi pada situs <http://insilico.ehu.es/restriction/>, terdapat sisi pengenalan enzim restriksi diantaranya. Kedua sisi pengenalan ini dipilih karena menunjukkan variasi sisi pemotongan pada semua sekuen gen *Surface glycoprotein* virus SARS-CoV2 dalam PopSet 1843471817.

RFLP secara *insilico*

RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*) adalah teknik yang umum digunakan untuk penentuan genotip (*genotyping*) melalui pemotongan sekuen RNA dengan enzim restriksi. Fragmen gen hasil restriksi dipisahkan menggunakan elektroforesis dan divisualisasi menggunakan teknik *Southern Blotting* (Dai dan Long, 2015). Menurut Siti *et al.*, (2013) metode RFLP sebagai salah satu metode untuk mengetahui polimorfisme dalam mengkaji sejarah evolusi populasi manusia (garis keturunan/silsilah) dan untuk mengetahui adanya mutasi. Metode RFLP adalah metode analisis menggunakan enzim restriksi yang memotong urutan nukleotida khas pada lokasi tertentu yang berbeda sehingga dihasilkan fragmen yang panjangnya berbeda (Theodore, 2000).

RFLP secara *insilico* pada 8 fragmen gen *Surface glycoprotein* virus SARS-CoV2 dalam PopSet 1843471817 dilakukan pada aplikasi Benchling menggunakan enzim restriksi yang telah dipilih pada tahap skrining kandidat enzim restriksi, yakni enzim *BamHI* dan *BgIII*. Hasil RFLP *insilico* divisualisasikan dengan elektroforesis gel virtual seperti pada Gambar1 untuk restriksi dengan enzim *BamHI* dan Gambar2 untuk restriksi dengan enzim *BgIII*



Gambar 1. Elektroforegram hasil restriksi dengan enzim *Bam*HI secara *in silico*.
Kiri : Ladder Life 1 kb plus : MT2631411.1, MT263142.1, MT263143.1, MT263144.1, MT263145.1, MT263146.1, MT263147.1, MT263148.1.

Restriksi dengan enzim *Bam*HI pada 8 fragmen gen *Surface glycoprotein* virus pada SARS-CoV2 menghasilkan dua variasi alel, yaitu alel A1 yang menghasilkan satu pita RNA berukuran 3822 bp dan alel A2 yang menghasilkan dua pita RNA berukuran 3751 bp dan 71 bp (Gambar 1 dan Tabel 1). Hal ini karena alel A2 memiliki situs pengenalan restriksi *Bam*HI (A'GATC_T) dan sisi pemotongan pada basa ke-3822, sedangkan alel A1 tidak memiliki situs pengenalan restriksi *Bam*HI Alel A1 memiliki frekuensi alel lebih tinggi dibandingkan alel A2 karena memiliki persentase kehadiran fragmen 0,875 % dari 8 sekuen pada NCBI PopSet 1843471817.



Gambar 2. Elektroforegram hasil restriksi dengan enzim *Bgl*III secara *in silico*.
Kiri : Ladder Life 1 kb plus : MT2631411.1, MT263142.1, MT263143.1, MT263144.1, MT263145.1, MT263146.1, MT263147.1, MT263148.1.

Restriksi dengan enzim *Bgl*III pada 8 fragmen gen *Surface glycoprotein* virus SARS-CoV2 menghasilkan dua variasi alel, yaitu alel B1 yang menghasilkan dua pita fragmen

berukuran 2457 bp dan 1365 bp serta alel B2 yang menghasilkan tiga pita berukuran 1876 bp, 579 bp dan 1365 bp (Gambar 2 dan Tabel 1). Hal ini karena alel B2 memiliki situs pengenalan restriksi BgIII (GGATCC) dan sisi pemotongan pada basa ke-1878 sedangkan alel B1 tidak memiliki situs pengenalan restriksi BgIII. Alel B1 memiliki frekuensi alel lebih tinggi dibandingkan alel B2 karena memiliki persentase kehadiran fragmen 0,875% dari 8 sekuen pada NCBI PopSet 1843471817.

Tabel 1. Frekuensi Alel Gen *Surface Glycoprotein* virus SARS-CoV2 Berdasarkan Hasil RFLP *In Silico*

Enzim Restriksi	Situs Pengenalan Restriksi	Ukuran Fragment (bp)	Alel	Jumlah Kehadiran Fragment (N = 8)	Persentase Kehadiran Fragment (%)	Frekuensi Alel
<i>Bmg</i> HI	GGATCC	3822 bp	A1	1	12,5 %	0,125
		3751bp dan 71 bp	A2	7	87,5 %	0,875
<i>Bg</i> III	A'GATC_ T	2457 bp dan 1365 bp	B1	7	87,5 %	0,875
		1878 bp, 579 bp dan 1365 bp	B2	1	12,5 %	0,125

Berdasarkan hasil RFLP *in silico* diketahui terdapat variasi genetik dalam sisi pengenalan restriksi enzim *Bam*HI dan *Bg*III pada sekuen RNA gen yang diisolasi dan diamplifikasi dari 8 fragmen *Surface glycoprotein* virus SARS-CoV2.

Gen *Surface glycoprotein* berfungsi untuk memungkinkan virus/parasit untuk menghindari sistem kekebalan pada sel inang khususnya pada mamalia yang memiliki variasi antigenik yang luas dan gen ini juga membantu dalam membangun infeksi kronik

pada sel inangnya. Oleh karena itu Keragaman genetik atau variasi genetik pada gen *Surface glycoprotein* SARS-CoV2 menjadi informasi yang sangat penting untuk menentukan strategi terhadap pengendalian virus SARS-CoV2 terkhusus pada proses pembuatan vaksin untuk penyakit virus corona.

PENUTUP

Hasil RFLP in silico pada penelitian ini menunjukkan adanya variasi genetik dalam sisi pengenalan restriksi enzim *Bam*HI (alel A1 dengan frekuensi alel 0,125 dan alel A2 dengan frekuensi alel 0,875) dan *Bgl*II (alel B1 dengan frekuensi alel 0,0875 dan alel B2 dengan frekuensi alel 0,125) pada 8 sekuen RNA gen *Surface glycoprotein* virus SARS-CoV2 NCBI PopSet 1843471817.

REFERENSI

Achyar, A., Atifah, Y., Putri, D.H. 2021. In silico study of developing a method for detecting pathogenic bacteria in refillable drinking water samples. *Journal of Physics: Conference Series*, 1940 (1): 012062.

Achyar, A., Hindayageni, A., Humaira, F., Wijaya, N.N., Aqsha, N., Zultatunni'mah, Z. 2021. Analysis of Genetic Variations in Poly Gene Sequences in Dengue Virus 2 Using In-Silico RFLP. *Bioscience*, 5(1): 80-86.

Atlas, RM. 1993. Parks, LC. (ed). *Handbook of Microbiological Media*. London. CRC. Press, Inc.

Brock, TD. & Madigan, MT., 1991. *Biology of Microorganisms*. Sixth ed. Prentice-Hall International, Inc.

Bonang, G., Koeswardono, E, S., 1982, *Mikrobiologi Kedokteran Untuk Laboratorium Dan Klinik*, Edisi I. Jakarta : Gramedia.

Colome, JS. Et al. 1986. *Laboratory Exercises in Microbiology*. New York. West Publishing Company.

Dwiprahasto, I. 2005. *Kebijakan Untuk Meminimalkan Risiko Terjadinya Resistensi Bakteri Di Unit Perawatan Intensif Rumah Sakit*, JMKP, Vol. 08 No. 04: 177-18.

Gould, D. dan Brooker, C., 2003, *Mikrobiologi Terapan Untuk Perawat*. Jakarta. EGC.

Hart, T. dan Shears, P. 2004. *Atlas Berwarna Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta Hipokrates.

Hariato, K., 2006. *Mikrobiologi Menguak Dunia Mikroorganisme*. jilid 1. Bandung: Yrama Widya.

Kuntaman. 2006. *Kegunaan Klinis Uji Kepekaan Antibiotik*. Workshop on Prudent Use Antibiotic 19-21 Mei: Surabaya.

Levinson, W. 2004. *Medical Microbiology & Immunology*. Examination & Board review 8th edition New York: McGraw-Hill.

Naim, R. 2003. *Cara Kerja dan Mekanisme Resistensi Antibiotik*, (online), (<http://www.pikiran-rakyat.com>, diakses 15 Maret 2006).

Pelczar, M. J. & E. C. S. Chan. 1986. Penterjemah. Ratna Siri Hadioetomo dkk. *Dasar-Dasar Mikrobiologi 1*. Jakarta : Universitas Indonesia Press.

Sudarsono. 2005. *Taksonomi Tumbuhan tingkat tinggi*. Malang : Universitas Negeri Malang.

Suriawiria. Unus. 1980. Mikrobiologi Umum. Departemen Biologi FMIPA. Bandung : ITB.

Suryanto, D. 2003. *Melihat Keanekaragaman Organisme Melalui Beberapa Teknik Genetika Molekuler*. Sumatera Utara : USU digital library.