

# BAB I

## PENDAHULUAN

### Latar Belakang

Coronavirus adalah keluarga besar virus RNA, yang dapat menyebabkan infeksi pernapasan ringan hingga berat pada manusia (Y. Yin & Wunderink, 2018). *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2* (SARS CoV-2) adalah virus yang baru ditemukan yang menyebabkan penyakit pernapasan yang disebut penyakit coronavirus 2019 (COVID-19) dan pertama kali dilaporkan di Kota Wuhan, Cina, pada pertengahan Desember 2019 (F. Wu et al., 2020). Peningkatan jumlah kasus berlangsung cukup cepat, dan menyebar ke berbagai negara dalam waktu singkat. Sampai dengan tanggal 9 Juli 2020, WHO melaporkan 11.84.226 kasus konfirmasi dengan 545.481 kematian di seluruh dunia (*Case Fatality Rate/CFR* 4,6%). Indonesia melaporkan kasus pertama pada tanggal 2 Maret 2020. Kasus meningkat dan menyebar dengan cepat di seluruh wilayah Indonesia. Sampai dengan tanggal 9 Juli 2020 Kementerian Kesehatan melaporkan 70.736 kasus konfirmasi COVID-19 dengan 3.417 kasus meninggal (*CFR* 4,8%) (Keputusan Menteri Kesehatan Republik Indonesia, 2020).

Coronavirus merupakan virus RNA untai tunggal yang tidak tersegmentasi dengan panjang mulai dari 26 hingga 32 kilobase, termasuk

subfamili Coronavirinae dari keluarga Coronaviridae dari ordo Nidovirales (Weiss & Leibowitz, 2011). Coronaviridae terdiri dari keluarga besar virus patogen yang umumnya ditularkan dari orang ke orang melalui sekresi pernapasan atau rute fekal-oral, tetapi juga dapat menyebar melalui transmisi zoonosis (Cui et al., 2019). Human coronaviruses (HCoVs) pertama kali diidentifikasi pada pertengahan 1960-an. Tujuh HCov yang umum adalah CoV-229E (alpha coronavirus), CoV-NL63 (alpha coronavirus), CoV-OC43 (beta coronavirus), CoV-HKU1 (beta coronavirus), coronavirus sindrom pernapasan akut parah (SARS-CoV), Middle East Respiratory Syndrome coronavirus (MERS-CoV), dan SARS-CoV-2 saat ini. CoV-229E dan CoV-OC43 adalah penyebab pilek pada orang dewasa selama pertengahan 1960-an. Manifestasi penyakit yang terkait dengan CoV-HKU1 dan CoV-NL63 termasuk pneumonia umum dan kronis. Coronavirus-HKU1 telah dilaporkan dominan pada anak-anak di Amerika Serikat tetapi kurang umum di kalangan orang dewasa. Tiga coronavirus yang sangat patogen, SARS-CoV, MERS-CoV, dan SARS-CoV-2, yang masing-masing muncul pada tahun 2002, 2012, dan 2019, telah menyebabkan penyakit pernapasan parah dan ribuan kematian di seluruh dunia (Zhu et al., 2020).

Struktur virus SARS-COV-2 ini dikodekan oleh empat gen, khususnya envelope (E), nukleokapsid (N), membran (M), dan spike glycoprotein (S) (Schoeman & Fielding, 2019). Dari empat glikoprotein, protein M dilaporkan berperan dalam menentukan bentuk selubung virus

dan menstabilkan nukleokapsid, protein N terlibat dalam proses yang berkaitan dengan genom virus, siklus replikasi virus, dan respons seluler sel inang terhadap infeksi virus. Protein E yang merupakan protein terkecil dalam struktur SARS-CoV-2 berperan dalam produksi dan pematangan virus ini. Namun, glikoprotein S merupakan monomer inti transmembran berukuran kurang lebih 180 kDa dengan dua subunit S1 dan S2. Glikoprotein ini memediasi fusi membran dan akhirnya memfasilitasi masuknya virus (pengikatan reseptor dan masuknya virion ke dalam sel target). Virus ini memiliki kemampuan alami untuk menjalani mutasi dan variasi antigenik selama periode waktu tertentu (Singh et al., 2020)

Telah ditemukan 42 mutasi missense yang diidentifikasi di semua protein non-struktural dan struktural utama, kecuali protein envelop. Dua puluh sembilan mutasi missense berada di poliprotein ORF1ab, delapan di glikoprotein permukaan, satu di protein matriks, dan empat di protein nukleokapsid. Dari catatan, tiga mutasi (D354, Y364, dan F367) terletak di domain pengikat reseptor glikoprotein permukaan. Glikoprotein permukaan spike memainkan peran penting dalam mengikat reseptor pada sel inang dan menentukan tropisme inang (D. X. Liu, 2019). Hal ini juga merupakan target utama antibodi penetral (F. Wu et al., 2020). Mutasi pada glikoprotein permukaan spike dapat menyebabkan perubahan konformasi, yang mungkin menyebabkan perubahan antigenisitas. Sampai saat ini, studi tentang lokalisasi asam amino yang terlibat dalam perubahan konformasi

struktur glikoprotein spike SARS-CoV-2 tidak tersedia. Identifikasi asam amino ini penting dan harus diselidiki dengan studi lebih lanjut (Phan, 2020).

Beberapa strain varian SARS-CoV-2 telah diidentifikasi. Beberapa varian dikaitkan dengan penularan yang lebih tinggi dan peningkatan keparahan atau durasi penyakit. Varian diklasifikasikan sebagai *Variant of Concern (VOC)* atau *Variant of Interest (VOI)*. Per Desember 2021, Lima VOC telah diidentifikasi yakni Alpha (juga dikenal sebagai B.1.1.7), pertama kali diidentifikasi di Inggris Raya; Beta (B.1.351), pertama kali diidentifikasi di Afrika Selatan; Gamma (P.1), pertama kali diidentifikasi di Brasil; Delta (B.1.617.2), pertama kali diidentifikasi di India; dan Omicron (B.1.1.529), pertama kali diidentifikasi di Afrika Selatan. Varian Omicron lebih mudah menular dibandingkan varian lainnya. Di banyak negara, Omicron telah menggantikan Delta sebagai varian dominan dari SARS-CoV-2.6 Delta dapat menyebabkan tingkat hasil yang parah lebih tinggi daripada varian lainnya (WHO, 2021).

Di mana dan bagaimana varian Omicron berevolusi masih harus diselidiki. Analisis sekuens varian SARS-CoV2 mengungkapkan bahwa Omicron sangat berbeda dengan varian SARS-CoV-2 lainnya sehingga sulit untuk mengidentifikasi kerabat terdekatnya. Hasil studi filogenetik menunjukkan bahwa varian Omicron kemungkinan telah menyimpang lebih awal dari varian SARS-CoV-2 lainnya yang telah ditemukan sebelumnya. Analisis sekuens genomik varian Omicron telah mengungkapkan sejumlah besar mutasi non-sinonim, termasuk beberapa mutasi yang terbukti terlibat

dalam penularan, keparahan penyakit, dan pelepasan kekebalan. Secara keseluruhan, lebih dari 60 substitusi/delesi/insersi telah diidentifikasi dalam varian Omicron menjadikan Omicron varian yang memiliki jumlah situs mutasi terbesar dari semua varian SARSCoV-2 yang dicirikan sejauh ini. (He et al., 2021).

Analisis genomik virus SARS-COV-2 merupakan alat penting dalam pengawasan transmisi virus serta kemunculan virus yang baru. Indonesia merupakan negara kedelapan di Asia Tenggara setelah Brunei, Kamboja, Malaysia, Myanmar, Singapura, Thailand, dan Vietnam yang melaporkan sekuens SARS-CoV-2 secara menyeluruh di kawasan tersebut. Oleh karena itu, ada kebutuhan mendesak untuk menyelidiki genom SARS-CoV-2 di setiap wilayah untuk mengetahui sumber asal penyebaran awal virus tersebut.

Meskipun program vaksinasi COVID-19 di Indonesia telah menurunkan angka kesakitan dan kematian, mutasi pada gen spike SARS-CoV-2 terus berkembang dan berpotensi menurunkan efektivitas vaksin. Sejumlah mutasi kunci seperti E484K, N501Y, L452R, dan T478K terbukti meningkatkan afinitas ikatan terhadap reseptor ACE2 sekaligus mengurangi kemampuan netralisasi antibodi yang terbentuk setelah vaksinasi atau infeksi alamiah (Harvey WT et al, 2021 & Collier DA et al, 2021). Varian Omicron yang pertama kali dilaporkan pada akhir 2021 bahkan memiliki lebih dari 30 mutasi pada protein spike, dan berbagai studi menunjukkan bahwa kombinasi mutasi tersebut dapat menurunkan

efektivitas vaksin mRNA terhadap infeksi simtomatik lebih dari 20%, meskipun perlindungan terhadap penyakit berat relatif tetap terjaga (Andrews N, 2022). Fenomena *immune escape* akibat akumulasi mutasi ini menunjukkan bahwa surveilans genomik yang mengaitkan profil mutasi dengan status vaksinasi sangat penting untuk mengevaluasi dan memperkuat kebijakan vaksinasi nasional.

Hingga saat ini belum tersedia data yang memadai mengenai hubungan profil mutasi genom SARS-CoV-2 dengan status vaksinasi di Sulawesi Selatan. Keterbatasan data lokal ini menimbulkan kesenjangan teoritis, karena pemahaman ilmiah mengenai bagaimana kombinasi mutasi memengaruhi respon imun pascavaksinasi pada populasi Indonesia masih terbatas. Selain itu terdapat kesenjangan aplikatif, yakni ketiadaan basis bukti untuk menilai kebutuhan modifikasi regimen vaksin atau pengembangan vaksin berbasis varian lokal.

Berdasarkan uraian di atas, penelitian ini penting dilakukan untuk memetakan profil mutasi genom SARS-CoV-2 sekaligus mengkorelasikannya dengan riwayat vaksinasi pada pasien COVID-19 di Sulawesi Selatan, sehingga diharapkan mampu memberikan dasar ilmiah bagi pengembangan vaksin yang lebih tepat sasaran, penyusunan strategi booster, dan pengendalian pandemi di Indonesia

## Rumusan Masalah

Berdasarkan hal-hal tersebut di atas, maka dirumuskan masalah sebagai berikut:

1. Identifikasi mutasi pada genome virus SARS CoV-2 dari pasien covid-19 di Sulawesi Selatan
2. Analisis filogenetik terhadap genom virus SARS CoV-2 dari pasien covid-19 di Sulawesi Selatan
3. Karakteristik sub varian baru virus SARS CoV-2 yang terdeteksi di Sulawesi Selatan

## Tujuan Penelitian

### 1. Tujuan Umum

Penelitian ini bertujuan untuk melihat profil mutasi virus SARS CoV-2 strain lokal Sulawesi Selatan

### 2. Tujuan Khusus

- a. Menganalisis profil mutasi genom virus SARS CoV-2 dari pasien covid-19 di Sulawesi Selatan.
- b. Menentukan Lineage dari virus SARS CoV-2 di Sulawesi Selatan berdasarkan hasil pemetaan genom dan filogeni
- c. Mendeteksi adanya sub varian virus SARS CoV-2 di Sulawesi Selatan

## Manfaat Penelitian

Manfaat dari studi ini adalah:

1. Untuk mendapatkan informasi lebih lanjut mengenai variasi genetik virus, termasuk mutasi apa saja yang dimiliki dan potensi dampak terhadap keganasan dan penularannya.

2. Informasi genetik dari pemetaan genom virus SARS CoV-2 dapat menjadi acuan dalam pengembangan vaksin maupun pengembangan alat diagnostik covid-19.
3. Sebagai dasar untuk mengetahui pola transmisi dan epidemiologi virus SARS CoV-2, sehingga dapat menjadi acuan dalam upaya-upaya pencegahan penularan penyakit
4. Menambah wawasan terkait genome dan lineage dari virus SARS CoV-2.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### **A. Tinjauan Umum Penyakit Covid-19**

##### Definisi Covid-19

Covid-19 adalah singkatan dari Coronavirus Disease-19, merupakan suatu penyakit yang dideklarasikan oleh WHO pada tanggal 11 Maret 2020 sebagai penyakit pandemik yang disebabkan oleh virus SARS-CoV-2. Penamaan virus ini ditetapkan oleh The International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV), dimana nama virus ini sebelumnya adalah 2019-nCoV (Jin et al., 2020).

##### Epidemiologi Covid-19

Pada bulan Desember 2019, Kota Wuhan, Provinsi Cina, menjadi pusat wabah penyakit coronavirus menular baru (COVID-19) dengan etiologi yang tidak diketahui (Ramanathan et al., 2020). Upaya sedang dilakukan untuk terus lebih memahami lebih lanjut tentang penularan, tingkat keparahan, dan fitur lain yang terkait dengan COVID-19. Tampaknya hewan yang terinfeksi mungkin pertama kali menularkan virus ke manusia di pasar makanan laut. Segera, sumber infeksi sekunder ditemukan sebagai penularan virus COVID-19 dari manusia ke manusia. Menjadi jelas bahwa infeksi COVID-19 terjadi di antara kontak dekat dan paparan virus (Q. Li et al., 2020). Studi terbaru menunjukkan bahwa orang berusia 60 tahun dan populasi dengan

fungsi kekebalan yang buruk seperti diabetes, penyakit kardiovaskular, penyakit pernapasan kronis, kanker, disfungsi ginjal, dan hati memiliki risiko lebih tinggi untuk COVID-19 parah daripada anak-anak yang mungkin lebih kecil kemungkinannya. terinfeksi atau, jika demikian, dapat menunjukkan gejala yang lebih ringan atau bahkan infeksi tanpa gejala. Penyakit Coronavirus 2019 (COVID-19) menyebar dengan cepat di seluruh Tiongkok dan diekspor ke semakin banyak negara, beberapa di antaranya telah mengalami penularan selanjutnya. Menurut Organisasi Kesehatan Dunia (WHO), COVID-19 terus muncul dan merupakan masalah serius bagi kesehatan masyarakat. Pada 2 Mei Maret 2020, lebih dari tiga juta kasus dikonfirmasi COVID-19 dilaporkan oleh Organisasi Kesehatan Dunia. Dari jumlah tersebut, lebih dari 240.000 telah berakibat fatal. Sekitar 83.959 kasus dikonfirmasi di Cina, dan 4637 kematian dikonfirmasi. Penghitungan global yang berkembang termasuk lonjakan di Korea, Iran, Italia, Spanyol, Prancis, dan Jerman. Virus ini juga terus menyebar ke negara-negara Afrika termasuk Aljazair, Afrika Selatan, Senegal, Burkina Faso, Kamerun, Nigeria, dan Pantai Gading (Ouassou et al., 2020)

### Patogenesis Covid-19

Virus dapat melewati membrana mukosa yaitu mukosa nasal dan laring. Setelah melewati, selanjutnya masuk ke paru paru melalui traktus respiratorius. Kemudian, virus menyerang organ target yang mengekspresikan Angiotensin Converting Enzyme 2 (ACE2) seperti

paru paru, jantung, sistem renal dan traktus gastrointestinal. Protein S memfasilitasi virus untuk masuk ke dalam sel target. Virus yang masuk bergantung pada virus yang berikatan dengan ACE2 yaitu reseptor membrane ekstraseluler di ekspresikan pada sel epitel dan bergantung pada priming protein S (Gennaro et al., 2020). Penempelan serta masuknya virus ke sel host diperantarai oleh protein S. protein S berikatan dengan reseptor enzim ACE2 pada plasma membran sel tubuh manusia. Saat di dalam sel, virus menduplikasi materi genetik dan protein yang dibutuhkan selanjutnya membentuk virion baru di permukaan sel (Z. Wang et al., 2020)

Kemudian virus ini mengeluarkan genom RNA ke dalam sitoplasma dan golgi sel dan ditraslansikan membentuk dua lipoprotein dan protein struktural untuk bisa bereplikasi. Setelah itu, genom virus akan mulai bereplikasi. Glikoprotein pada selubung virus yang baru terbentuk masuk ke dalam golgi sel. Terjadi pembentukan nukleokapsid tersusun dari genom RNA dan protein nukleokapsid. Partikel virus akan tumbuh ke dalam retikulum endoplasma dan golgi sel. Pada tahap akhir, vesikel yang mengandung partikel virus akan bergabung dengan membrane plasma untuk melepaskan komponen virus yang baru. Masa inkubasi virus sampai muncul penyakit berkisar antara 3-7 hari (Gennaro et al., 2020) Virus yang masuk ke dalam sel selanjutnya antigen virus akan di presentasikan ke Antigen Presentation cell (APC). Presentasi sel ke APC kemudian merespon sistem imun

humoral dan seluler dimediasi oleh sel T dan sel B. IgM dan IgG terbentuk dari sistem imun humoral. Pasien positif COVID-19 disertai gejala klinis ringan menunjukkan respon imun dengan adanya peningkatan sel T terutama CD8 pada hari ke 7-9 dan ditemukan T helper folikular dan Antibody Secreting Cells (ASCs). Di hari ke 7 hingga hari ke 20 adanya peningkatan IgM/IgG secara progresif. Pada pasien positif COVID-19 dengan gejala klinis berat menunjukkan hitung limfosit rendah dan monosit, basophil dan eosinophil lebih rendah (C. Wang et al., 2020).

## Manifestasi Klinis dan Pencegahan Covid-19

### a. Manifestasi Klinis

Gejala-gejala yang dialami biasanya bersifat ringan dan muncul secara bertahap. Beberapa orang yang terinfeksi tidak menunjukkan gejala apapun dan tetap merasa sehat. Gejala COVID-19 yang paling umum adalah demam, rasa lelah, dan batuk kering. Beberapa pasien mungkin mengalami rasa nyeri dan sakit, hidung tersumbat, pilek, nyeri kepala, konjungtivitis, sakit tenggorokan, diare, hilang penciuman dan pembauan atau ruam kulit.

Menurut data dari negara-negara yang terkena dampak awal pandemi, 40% kasus akan mengalami penyakit ringan, 40% akan mengalami penyakit sedang termasuk pneumonia, 15% kasus akan mengalami penyakit parah, dan 5% kasus akan mengalami

kondisi kritis. Pasien dengan gejala ringan dilaporkan sembuh setelah 1 minggu. Pada kasus berat akan mengalami *Acute Respiratory Distress Syndrome* (ARDS), sepsis dan syok septik, gagal multi-organ, termasuk gagal ginjal atau gagal jantung akut hingga berakibat kematian. Orang lanjut usia (lansia) dan orang dengan kondisi medis yang sudah ada sebelumnya seperti tekanan darah tinggi, gangguan jantung dan paru, diabetes dan kanker berisiko lebih besar mengalami keparahan (Kemenkes RI, 2020).

Tanda dan gejala umum infeksi COVID-19 antara lain adalah gejala gangguan pernapasan akut seperti demam, batuk, dan sesak napas. Masa inkubasi rata-rata adalah 5-6 hari dengan masa inkubasi terlama 14 hari. Pada kasus yang parah, COVID-19 dapat menyebabkan pneumonia, sindrom pernapasan akut, gagal ginjal, dan bahkan kematian. Tanda dan gejala klinis yang dilaporkan pada sebagian besar kasus adalah demam, dengan beberapa kasus berbeda seperti kesulitan bernapas, dan yang pada hasil pemeriksaan sinar-X menunjukkan pneumonia di bagian kedua paru-paru (Tosepu et al., 2020).

b. Pencegahan

Kunci penerapan di pelayanan kesehatan dan masyarakat merupakan tindakan pencegahan dan mitigasi. Langkah- langkah pencegahan yang paling efektif di masyarakat meliputi: (Direktorat Jendral Pencegahan dan Pengendalian Penyakit, 2020)

- 1) Melakukan kebersihan tangan menggunakan hand sanitizer jika tangan tidak terlihat kotor.
- 2) Menghindari menyentuh mata, hidung dan mulut
- 3) Terapkan etika batuk atau bersin dengan menggunakan lengan atas bagian dalam atau tisu, kemudian buanglah tisu ke tempat sampah
- 4) Pakailah masker medis jika memiliki gejala pernapasan dan melakukan kebersihan tangan setelah membuang masker.
- 5) Menjaga jarak (minimal 1 m) dari orang yang mengalami gejala gangguan pernapasan.

## Kasus dan Derajat Penyakit Covid-19

Definisi operasional kasus COVID-19 yaitu kasus suspek, kasus probable, kasus terkonfirmasi, dan kontak erat. (Perhimpunan Dokter Paru Indonesia, dkk. 2020)

### a. Kasus Suspek

Seseorang yang memiliki salah satu dari kriteria berikut:

- 1) Seseorang yang memenuhi salah satu kriteria klinis dan salah satu kriteria epidemiologi:

- Kriteria Klinis:

Terdapat 3 atau lebih gejala/ tanda akut berikut:  
demam/ riwayat demam, batuk, kelelahan, sakit kepala, myalgia, nyeri tenggorokan, pilek, sesak nafas, mual, diare, dan penurunan kesadaran.

- Kriteria Epidemiologi

Pada 14 hari terakhir sebelum timbul gejala memiliki riwayat tinggal atau bekerja ditempat beresiko tinggi penularan.

- 2) Seseorang dengan ISPA Berat
- 3) Seseorang tanpa gejala (asimtomatik) yang tidak memenuhi kriteria epidemiologis dengan hasil Rapid antigen SARS Cov-2 positif

b. Kasus *Probable* (Terkonfirmasi)

Seseorang yang memiliki salah satu dari kriteria berikut:

- 1) Seseorang yang memenuhi kriteria klinis dan memiliki riwayat kontak erat dengan kasus *probable*
- 2) Kasus suspek dengan gambaran radiologis sugestif kearah COVID-19
- 3) Seseorang dengan gejala akut anosmia (hilangnya kemampuan indra penciuman) atau ageusia (hilangnya kemampuan indra perasa)
- 4) Orang dewasa yang meninggal dengan distres pernapasan dan memiliki riwayat kontak erat dengan kasus *probable*.

c. Kasus Konfirmasi:

Seseorang yang dinyatakan positif terinfeksi virus COVID-19 dengan kriteria sebagai berikut:

- 1) Seseorang dengan hasil RT-PCR Positif

- 2) Seseorang dengan hasil Rapid antigen SARS-CoV-2 Positif dan memenuhi kriteria definisi kasus *probable*
- 3) Seseorang tanpa gejala (asimtomatik) dengan hasil rapid antigen SARS-CoV-2 Positif

d. Kontak Erat

Orang yang memiliki riwayat kontak dengan kasus *probable*. riwayat kontak yang dimaksud antara lain:

- 1) Kontak tatap muka/ berdekatan dengan kasus *probable*
- 2) Sentuhan fisik langsung dengan kasus *probable*
- 3) Orang yang memberikan perawatan langsung terhadap kasusu *probable*
- 4) Situasi lainnya yang mengindikasikan adanya kontak berdasarkan penelitian risiko local yang ditetapkan oleh tim penyelidikan epidemiologi setempat.

## Diagnosis covid-19

### *Pengelolaan Spesimen dan Mekanisme Pemeriksaan*

Hasil tes pemeriksaan negatif pada spesimen tunggal, terutama jika spesimen berasal dari saluran pernapasan atas, belum tentu mengindikasikan ketiadaan infeksi. Oleh karena itu harus dilakukan pengulangan pengambilan dan pengujian spesimen. Spesimen saluran pernapasan bagian bawah (*lower respiratory tract*) sangat direkomendasikan pada pasien dengan gejala klinis yang parah atau progresif. Pengambilan spesimen PDP dan ODP untuk pemeriksaan RT-PCR dilakukan sebanyak dua kali berturut-turut serta

bila terjadi kondisi perburukan. Pengambilan spesimen OTG untuk pemeriksaan RT-PCR dilakukan pada hari pertama dan ke empat belas (Direktorat Jendral Pencegahan dan Pengendalian Penyakit, 2020).

#### *Pemeriksaan Covid-19*

Jenis-jenis alat tes ini harus divalidasi pada populasi dan tempat yang sesuai. Tes yang tidak cukup baik bisa melewatkan pasien positif infeksi (negatif palsu) atau keliru menetapkan pasien mengalami penyakit ini padahal tidak demikian (positif palsu), sehingga semakin menghalangi upaya pengendalian penyakit. (*World Health Organization, 2020*)

##### a. Tes Serologi

Rapid test hanya dapat digunakan untuk penunjang diagnosis saja karena test ini akan reaktif bila sudah terbentuk antibodi dalam darah pasien yang sudah bergejala. Rapid test terdiri dari 2 jenis yaitu: antigen deteksi, dan antibodi deteksi. Salah satu kesulitan utama dalam melakukan uji diagnostik tes cepat adalah memastikan negatif palsu, karena perlu mempertimbangkan onset paparan dan durasi gejala sebelum memutuskan pemeriksaan serologi. IgM dan IgA dilaporkan terdeteksi mulai hari 3-6 setelah onset gejala, sementara IgG mulai hari 10-18 setelah onset gejala. Pemeriksaan jenis ini tidak direkomendasikan WHO sebagai dasar diagnosis utama. Pasien negatif serologi masih perlu observasi dan diperiksa ulang bila dianggap ada faktor risiko tertular (Susilo. dkk, 2020)

Metode ini dimaksudkan untuk mendeteksi respon tubuh terhadap adanya mikro organisme yang masuk dalam tubuh seseorang secara alamiah atau mendeteksi spesifik protein sebagai antigen penyebab penyakit infeksi mikro organisme ke manusia. antibodi yang terdeteksi dari darah pasien yang dicurigai menderita COVID-19 dalam pemeriksaan ini menandakan bahwa bila positif maka kemungkinan orang tersebut pernah terpapar virus tersebut atau masih dalam proses terjadinya infeksi dalam tubuh orang tersebut. Namun hal ini tak berarti bahwa bila positif maka dia menderita COVID-19 karena bisa saja terjadi reaksi silang dengan jenis lain dari virus corona yang mana jumlah jenisnya sangat banyak. Untuk jenis antigen apabila terdeteksi berarti ada protein virus tersebut dalam tubuh pasien. Rapid test hanya dapat digunakan untuk penunjang diagnosis saja karena test ini akan reaktif bila sudah terbentuk antibodi dalam darah pasien yang sudah bergejala. (Burhanuddin. dkk, 2020)

Tes diagnostik cepat berbasis deteksi antigen (RDT) ini dapat mendeteksi adanya protein virus (antigen) COVID-19 yang menggunakan sampel dari saluran pernapasan seseorang. Jika konsentrasi antigen sasaran pada sampel cukup, antigen tersebut akan mengikat antibodi tertentu yang terdapat pada strip kertas terbungkus plastik dan akan menghasilkan tanda visual, biasanya dalam waktu 30 menit. Tes ini digunakan pada tahap awal untuk

mengidentifikasi infeksi pada fase akut. Jenis tes diagnostik cepat COVID-19 lain adalah tes untuk mendeteksi keberadaan antibodi di dalam darah orang yang diyakini telah terinfeksi COVID-19. Kekuatan respons tubuh menghasilkan antibodi bergantung pada beberapa faktor, seperti usia, status nutrisi, tingkat keparahan penyakit, dan pengobatan atau infeksi tertentu seperti HIV yang melemahkan sistem imun. (*World Health Organization, 2020*)

b. Tes Molekuler

Saat ini tes standar untuk deteksi SARSCoV-2 adalah teknik *reverse transcription quantification polimerase chain reaction* (RT-PCR) menggunakan sampel bahan swab nasofaring atau orofaring, sputum atau cairan bilas bronkial (*bronkhial lavage*). Penggunaan RT-PCR memerlukan protokol standar antara lain *ribo nucleic acid* (RNA) harus diekstraksi dan adanya virus RNA dikonfirmasi dengan RT-PCR. Ada beberapa gen target yang digunakan untuk mendeteksi SARS-CoV-2 yaitu gen E (*Envelope*), gen N (nukleokapsid), gen S (*Spike*) dan gen RdRp. Pasien disebut terkonfirmasi COVID-19 bila pada deteksi dengan RT-PCR ditemukan urutan unik dari RNA virus. Hasil positif RT-PCR menunjukkan bahwa kemungkinan seseorang terinfeksi COVID-19, sedangkan hasil negatif belum dapat menyingkirkan seseorang terinfeksi COVID-19. Pemeriksaan RT-PCR untuk SARSCoV-2 saat ini merupakan tes kualitatif dan sampai sekarang belum ada

standarisasi untuk menentukan ambang batas viral load pada *host* yang berbeda-beda. (Pusparini, 2020)

Dua teknologi deteksi asam nukleat yang umum digunakan untuk SARS-CoV-2 adalah reaksi berantai polimerase kuantitatif waktu nyata (RT-PCR) dan sekuensing. Metode identifikasi otoritatif untuk SARS-CoV-2 adalah kultur darah virus dan sekuensing yang tinggi dari seluruh genom. Namun, penerapan teknologi sekuensing klinis terbatas karena ketergantungan peralatan dan biaya tinggi. Jadi RT-PCR adalah metode yang paling umum, efektif dan langsung untuk mendeteksi virus patogen dalam sekresi pernapasan dan darah (Li. dkk, 2020)

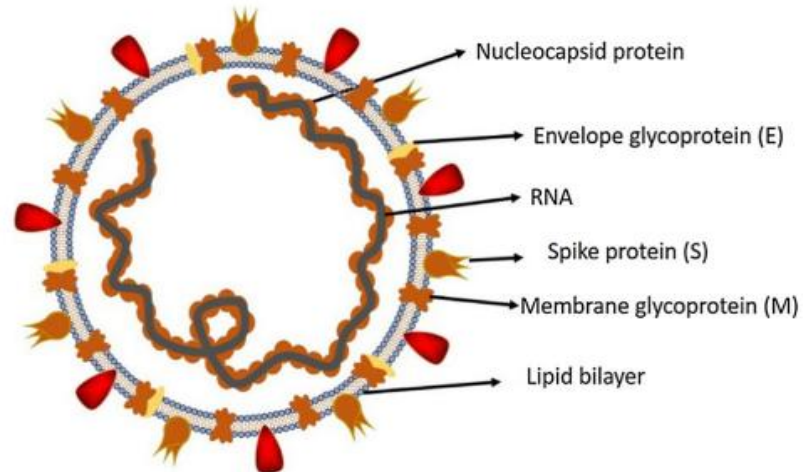
Total RNA diekstraksi dari sampel usap nasofaring dan oropharing dari pasien yang diduga menderita infeksi SARS-CoV-2 dalam waktu 2 jam menggunakan kit isolasi RNA sampel pernapasan. (Xiang. dkk, 2020)

## **B. Tinjauan Tentang Virus SARS CoV-2**

### **1. Struktur Virus SARS CoV-2**

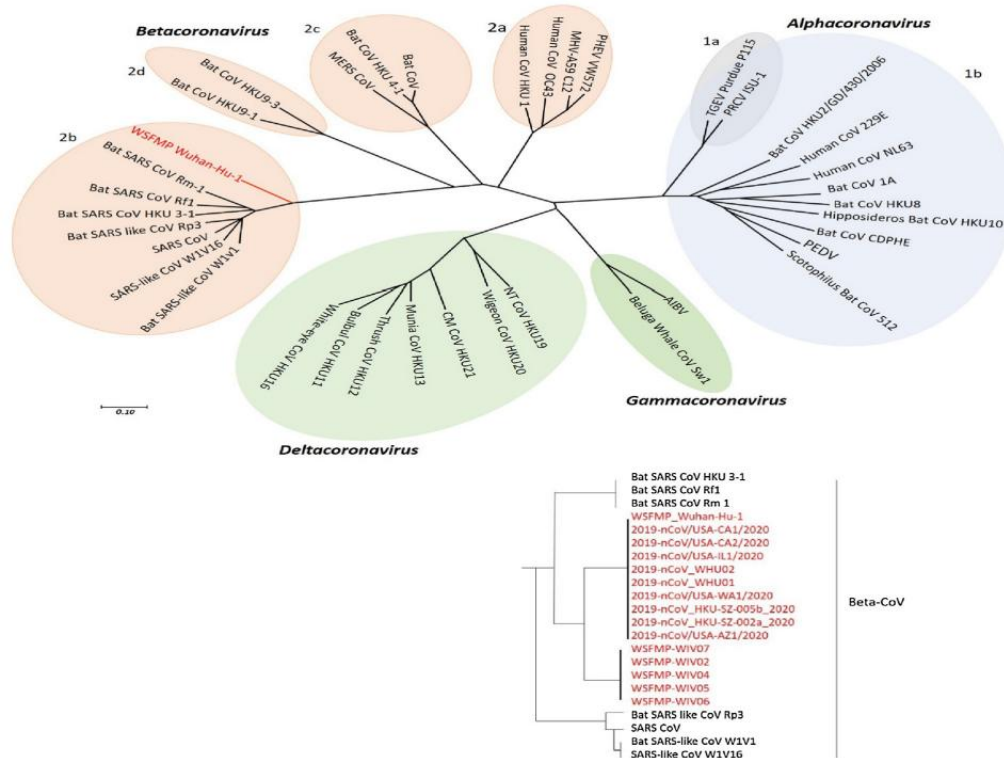
SARS-CoV-2 adalah jenis coronavirus, yang berbentuk bola, virus yang diselimuti dengan proyeksi permukaan yang memunculkan penampilan korona. (Gorkhali et al., 2021). Virus corona berukuran sangat kecil (diameter 65–125 nm) dan mengandung RNA untai tunggal

sebagai bahan nukleat, ukuran panjangnya berkisar antara 26 hingga 32 kbs.



**Gambar 2 1 . Struktur coronavirus manusia menyebabkan sindrom pernapasan (Shereen et al., 2020)**

Coronavirus termasuk dalam subfamili *Coronavirinae* dalam famili *Coronaviridae* dan subfamili tersebut berisi empat genera: *Alphacoronavirus*, *Betacoronavirus*, *Gammacoronavirus*, dan *Deltacoronavirus*. Genom CoVs (27-32 kb) merupakan RNA positif-sense beruntai tunggal (+ssRNA) yang lebih besar daripada virus RNA lainnya. Protein nukleokapsid (N) membentuk kapsid di luar genom dan genom selanjutnya dikemas oleh selubung yang berasosiasi dengan tiga protein struktural: protein membran (M), protein spike (S), dan protein *envelope* (E) (Brian & Baric, 2005).



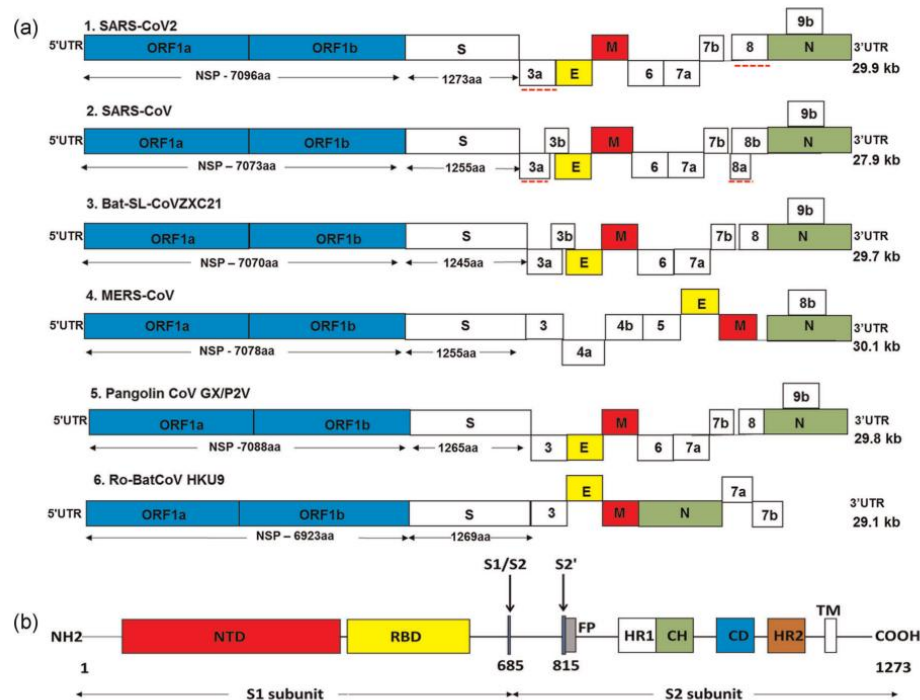
**Gambar 2 2** Pohon filogenetik coronavirus

(konten berwarna merah adalah tambahan terbaru dari SARS-CoV-2 yang baru muncul dan WSFMP Wuhan-Hu-1 digunakan sebagai referensi di pohon); Pohon filogenetik yang menunjukkan hubungan Wuhan-Hu-1 (dilambangkan dengan warna merah) dengan coronavirus tertentu didasarkan pada urutan nukleotida genom lengkap. Virus dikelompokkan menjadi empat genera (prototipe ditampilkan): Alphacoronavirus (biru langit), Betacoronavirus (merah muda), Gammacoronavirus (hijau) dan Deltacoronavirus (biru muda) (Shereen et al., 2020).

## 2. Genom Virus SARS Cov-2

SARS-CoV-2 memiliki organisasi genom yang mirip dengan virus corona lainnya. Dua pertiga genom mengkode untuk protein gen 1 yang terkait dengan sintesis RNA virus dan sepertiga bertanggung jawab untuk mengkode semua protein struktural dan aksesori (Rota et al., 2003). Pada SARS CoV-2, dua pertiga pertama dari genom terdiri dari gen replikasi yang mengkode poliprotein besar, pp1a dan pp1ab, yang kemudian diubah menjadi 16 protein nonstruktural melalui proses

pembelahan proteolitik menggunakan beberapa protease: protease mirip kimotripsin yang dikodekan secara viral dan dua protease mirip papain. Open Reading Frames (ORFs) untuk protein struktural seperti protein spike (S), envelope (E), membran (M), dan nucleocapsid (N) menempati sepertiga yang tersisa dari genom. Selain komponen genom yang dibagikan oleh coronavirus lain, genom SARSCoV juga memiliki delapan ORF yang mengkode protein aksesori bernama ORFs 3a, 3b, 6, 7a, 7b, 8a, 8b, dan 9b (Xiang et al., 2014). Protein aksesori berbeda dari protein nonstruktural karena tidak memiliki homologi dengan protein dari kelompok virus lain. Mereka umumnya kecil dan memiliki peran tidak langsung dalam fungsi virus. Delapan gen aksesori disusun sedemikian rupa sehingga dua terletak di antara gen S dan E (ORFs 3a dan 3b), lima ditemukan di antara gen M dan N, dan satu terletak di dalam gen N (Romano et al., 2020).



**Gambar 2 3 (a) Struktur genom SARS-CoV-2 dan virus corona lainnya**

. Genom CoVs terdiri dari 5' dan 3' untranslated region (UTR) dan open reading frame (ORF) 1a/b (kotak biru). Gen struktural yang ada pada ujung 3' mengkode protein struktural termasuk spike (S; kotak putih), amplop (E; kotak kuning), membran (M; kotak merah), dan nukleokapsid (N; kotak hijau) yang merupakan fitur umum untuk semua CoV. Selain itu, gen aksesori yang ditempatkan di antara gen struktural yang mengkode protein aksesori. Perbandingan daerah pengkodean SARS-CoV-2 dengan CoV yang berbeda menunjukkan organisasi genom yang mirip dengan SARS-CoV, kelelawar SL-CoVZXC21, dan trenggiling CoV GX/PP2V. Di sini tidak ada perbedaan yang mencolok dalam ORF1 dari CoV yang berbeda tetapi ini mengkodekan untuk NSP dengan panjang yang bervariasi dan ada perbedaan dalam gen aksesori. Garis putus-putus merah menunjukkan variasi penting antara SARS-CoV-2 dan SARS-CoV. Garis putus-putus merah: variasi penting antara SARS-CoV-2 dan SARS-CoV. (b) glikoprotein spike (S) SARS-CoV-2. Wilayah S1 protein lonjakan mengandung N-Terminal Domain (NTD; kotak merah) dan domain-C atau domain pengikatan reseptor (RBD; kotak kuning). Subunit S2 berisi peptida fusi (FP; kotak abu-abu), *Heptad Repeat 1* (HR1; kotak putih), *Center Helix* (CH; hijau), *Conector Domain* (CD; kotak biru), *Heptad Repeat 2* (HR2; kotak coklat), dan *Transmembran Domain* (TM). Panah hitam: situs pembelahan pada batas S1/S2 (R685) dan S2' (R815) segi empat (Kadam et al., 2021).

## 2.1. Nonstruktural (Nsp)

NSP melakukan banyak fungsi dalam siklus hidup virus.

Berikut ini pengelompokan nsp secara luas menurut fungsinya, meskipun banyak nsp melakukan peran ganda dan tumpang tindih.

### **2.1.1 Nsp 1**

Wilayah 5' dari gRNA mengkode protein modulasi respons imun inang nsp1 dan nsp2. Analisis catRAPID (alat komputasi yang menghitung kapasitas pengikatan RNA protein) lebih dari 10.000 interaksi mengungkapkan bahwa wilayah 5' menunjukkan kecenderungan kuat untuk berinteraksi dengan protein manusia yang berkorelasi dengan infeksi virus (Vandelli et al., 2020). Urutan asam amino nsp1 SARS-CoV dan SARSCoV-2 adalah 84% identik yang menunjukkan fungsi umum yang dilakukan oleh nsp1 pada kedua virus (Thoms et al., 2020).

Nsp1 berinteraksi dengan subunit kecil ribosom inang untuk menghentikan sintesis protein antivirus dengan mematikan sintesis protein inang dalam sel yang terinfeksi (Schubert et al., 2020). Nsp 1 menurunkan regulasi translasi inang dengan berinteraksi dengan subunit ribosom 40S. Interaksi ini di sisi lain menginduksi pembelahan endonukleolitik di dekat 5'UTR mRNA inang, menargetkan mereka untuk degradasi. Selain itu, mRNA virus dilindungi dari pembelahan karena adanya urutan pemimpin ujung 5'. SARS-CoV melanggar respons imun inang melalui penghambatan ekspresi interferon tipe I (Narayanan et al., 2008) serta jalur pensinyalan antivirus inang dalam sel yang terinfeksi. Nsp1, dengan demikian, mempercepat ekspresi gen virus yang efisien dalam sel yang terinfeksi (Wathelet et al., 2007).

### 2.1.2 Nsp 2

Fungsi nsp2 tidak sepenuhnya diketahui. Diperkirakan berasosiasi dengan endosom inang dan mengganggu lingkungan sel inang (A. Silvia, 2020). Nsp2 juga merupakan protein yang sangat terkonservasi di antara virus corona. Nsp2 dan nsp3 dari SARS-CoV terdeteksi tidak hanya sebagai protein olahan yang matang tetapi juga sebagai prekursor nsp2 dan nsp3, menunjukkan peran prekursor dalam replikasi (Graham et al., 2006). Hasil ini menunjukkan bahwa nsp2 mungkin terlibat dalam mengatur fungsi nsp1 dan nsp3. Telah ditemukan bahwa mutan yang dihasilkan telah menurun tetapi tidak menunda pertumbuhan, ketika seluruh urutan pengkodean nsp2 terdelesi dalam SARS-CoV, menunjukkan peran nsp2 yang sangat diperlukan untuk replikasi dalam kultur. Demikian pula, pada SARS-CoV-2, protein lain yang dilampirkan nsp2 dapat memberikan beberapa wawasan (Kumar et al., 2020). Nsp2 berinteraksi dengan kompleks protein inang PHB1 dan PHB2, yang terlibat dalam biogenesis mitokondria (Kumar et al., 2020).

Sejumlah penelitian memetakan interaksi host-viral dari SARS-CoV-1/2 dan MERS telah mengidentifikasi protein inang yang berinteraksi dengan Nsp2. Studi-studi tersebut telah melibatkan Nsp2 dalam proses mulai dari represi translasi hingga transpor endosom, biogenesis ribosom, dan pengikatan filamen

aktin. Nsp2 di SARS-CoV-2 dan coronavirus lainnya telah diamati untuk melokalisasi ke endosom dan kompleks replikasi-transkripsi (RTC); tetapi saat ini tidak jelas peran apa yang dimainkan Nsp2 di wilayah ini. Meskipun Nsp2 hadir pada SARS-CoV-1, CoV-2, MERS—dan pada virus corona yang terkait erat pada kelelawar, trenggiling, dan hewan lain, ada variasi urutan yang cukup besar di berbagai spesies yang berbeda. Tingkat kemampuan variatif ini dapat menunjukkan adaptasi Nsp2 yang cepat di bawah tekanan seleksi spesifik inang (Verba et al., 2021). Selama pandemi 2020, protein tidak bermutasi secara signifikan. Lima residu, T85, I120, A318, V381, dan L550, menunjukkan tingkat mutasi lebih tinggi dari 0,01 (Vilar & Isom, 2021)

### **2.1.3 Nsp 3**

Nsp3 adalah protein multifungsi terbesar yang dikodekan oleh genom SARS-CoV-2. Nsp3 menunjukkan beberapa domain termasuk biquitin-like domain 1 (Ubl1)—a RNA-binding domain, terminal N yang sangat bervariasi, ADP-ribose phosphatase domain (ADRP; juga dikenal sebagai domain makro dan domain X), domain unik SARS (SUD), domain pengikatan RNA, dan domain transmembran. ADRP memiliki wilayah pengikatan ADP-ribose (ADPR) yang berinteraksi dengan pensinyalan imun inang, khususnya pensinyalan faktor nuclear factor kappa B (NF- $\kappa$ B) dan

karenanya, memainkan peran utama dalam generasi badai sitokin di jaringan inang (Claverie, 2020).

Sangat menarik, wilayah pengikatan ADPr virus menunjukkan identitas yang signifikan hanya dengan modul pengikatan ADP-ribosa manusia di seluruh proteom manusia yang lengkap. Ini menunjukkan bahwa situs pengikatan ADPr virus dapat berpartisipasi secara fungsional dalam deMARilasi/MARilasi protein inang. ADPr mendeMARilasi faktor transkripsi "*signal transducer and activator of transcription 1*" (STAT1). STAT1 bekerja sebagai saklar penting dalam pensinyalan imun bawaan yang dimediasi melalui reseptor interferon. DeMARilasi STAT1 menghasilkan makrofag yang diaktifkan IFN- $\gamma$  dan ekspresi gen yang distimulasi interferon.

Akibatnya, badai sitokin dihasilkan yang merupakan penyebab mendasar untuk tingkat keparahan yang terkait dengan infeksi SARS-CoV-2. Selain itu, enzim pengubah angiotensin 2 (ACE2), reseptor SARS-CoV-2, juga di bawah kendali interferon dan promotornya menunjukkan situs pengikatan STAT1, sehingga deMARilasi STAT1 mungkin menetapkan sirkuit yang juga dapat merangsang ekspresi ACE2 mempercepat penggandaan SARS-CoV-2 di dalam host (Kadam et al., 2021).

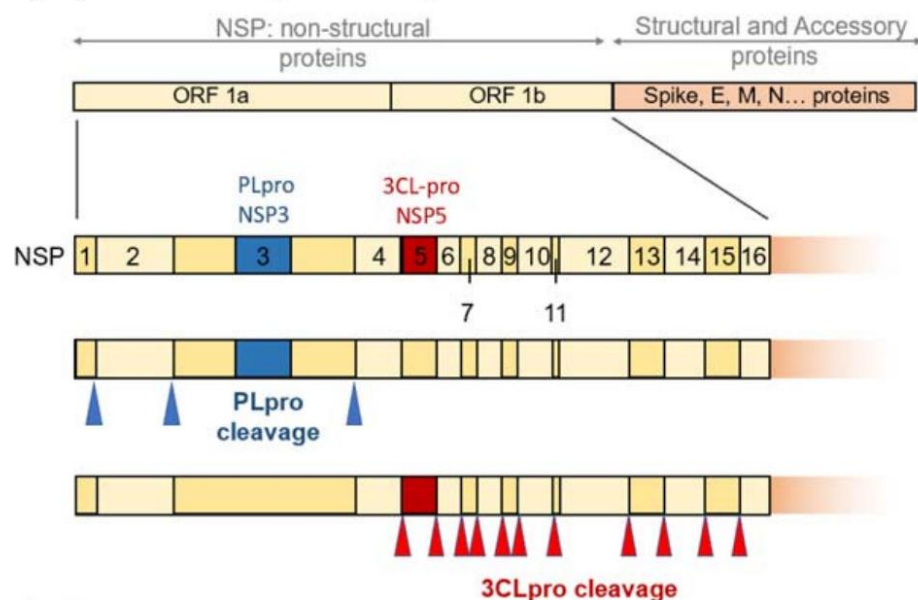
#### **2.1.4 Nsp 4**

Protein nsp4 dari SARS-CoV memiliki panjang sekitar 500 asam amino dan memiliki massa molekul terhitung sekitar 56 kDa. Diperkirakan mengandung empat domain transmembran, (Oostra et al., 2007) dengan kedua ujungnya menonjol keluar di sisi sitoplasma membran, dan tiga daerah loop. Dari 16 protein nonstruktural, hanya nsp3, nsp4, dan nsp6 yang memiliki domain transmembran (Sakai et al., 2020). Domain transmembran pertama mungkin menampilkan urutan sinyal pembelahan dan terletak setelah asam amino 32. Tiga domain transmembran yang diprediksi lainnya terletak di antara residu 280 dan 400, kira-kira meninggalkan ekor terminal-C sitoplasma dari sekitar 100 asam amino. Selain itu, motif glikosilasi atipikal terjadi pada posisi 131 antara domain transmembran diduga pertama dan kedua. Loop 1 dan 3 terletak di lumen retikulum endoplasma (ER), sedangkan loop 2 dan N- dan C-termini adalah sitosol (Oostra et al., 2007). Nsp4 adalah protein ORF1ab N-terminal paling, yang memiliki kesamaan lebih dari 50% dan identitas dengan kelompok virus corona lainnya, menunjukkan pentingnya fungsi protein nsp4 untuk replikasi virus (Gorkhali et al., 2021).

#### **2.1.5 Nsp 5**

Pemrosesan prekursor poliprotein bergantung pada dua protease virus, NSP3 dan NSP5. Seperti yang ditunjukkan pada

Gambar (4), domain *papain-like protease* (PLpro) dari NSP3 bertanggung jawab atas pembelahan proteolitik nsp 1-4. Protein NSP5, atau *3C-like protease* (3CLpro), bertanggung jawab atas pemrosesan wilayah pembelahan lain yang menghasilkan nsp 5-16. Karena kedua protease ini penting untuk replikasi virus, mereka adalah target obat yang jelas (Moustaqil et al., 2021). Nsp 5, juga dikenal sebagai 3CLpro, adalah protease sistein 33,8 kDa, yang memproses dua poliprotein replikasi, pp1a (486 kDa) dan pp1ab (790 kDa). Monomer 3CLpro memiliki 3 domain; domain I (residu 8-101), domain II (residu 101-184) dan domain III (residu 201-303), dan loop panjang (residu 185-200) yang menghubungkan domain II dan III (Gorkhali et al., 2021).



**Gambar 2 4 Skema organisasi genom SARS-CoV-2** dengan fokus pada protein non-struktural Nsp1-16. Seperti yang digambarkan, dua protease dikodekan dalam ORF1a: NSP3 atau protease mirip papain (PLpro) dan NSP5, atau protease mirip 3C (3CLpro). PLpro bertanggung jawab atas tiga pembelahan proteolitik, sementara 3CLpro memotong poliprotein besar di sebelas tempat berbeda (Moustaqil et al., 2021).

Protein virus, terutama yang berasal dari virus RNA yang memiliki batasan yang lebih ketat pada ukuran genomnya, sering melakukan banyak tugas. Selain menjalankan fungsi intrinsiknya dalam siklus hidup virus, banyak yang telah berevolusi untuk mengganggu respons imun bawaan atau dengan cara lain mengkooptasi mesin sel inang untuk memfasilitasi replikasi virus yang optimal. Protease virus corona adalah penentu penting virulensi virus (Frieman et al., 2008).

#### **2.1.6 Nsp 6**

SARS-CoV nsp6 adalah protein membran sekitar 34 kDa yang terdiri dari enam heliks transmembran yang diprediksi dengan C-terminus yang sangat *conserved* (Baliji et al., 2009). Nsp6 adalah komponen umum dari virus korona alfa dan beta dan berada di Retikulum Endoplasma (ER) sel inang. Telah ditemukan bahwa keberadaan beberapa residu fenilalanin di wilayah membran luar nsp6 mendukung afinitas antara wilayah ini dan membran ER, melengkapi pengikatan protein yang lebih stabil ke ER. Ketiga protein yaitu nsp3, nsp4, dan nsp6 dari SARS-CoV diperlukan untuk pembentukan membran ganda. Nsp3 menginduksi proliferasi dan gangguan membran ketika diekspresikan sendiri, dan nsp4 menginduksi vesikel membran tunggal. Nsp3 dan nsp4, bagaimanapun, memiliki kemampuan untuk memasangkan membran ketika diekspresikan bersama.

Nsp6 juga memiliki kemampuan proliferasi membran, menginduksi vesikel perinuklear yang terlokalisasi di sekitar pusat pengorganisasian mikrotubulus. Aktivitas ini tampaknya memerlukan bentuk lengkap (*full-length*) nsp3 untuk bertindak karena vesikel membran ganda dengan nsp4 dan nsp6 tidak terlihat dalam sel yang mengekspresikan pemotongan terminal-C nsp3 (Gorkhali et al., 2021).

### **2.1.7 Nsp 7 dan Nsp 8**

Nsp7 adalah protein alfa heliks sekitar 10 kDa, yang memiliki domain tunggal dengan lipatan baru yang terdiri dari lima struktur sekunder heliks. Nsp7 melokalisasi ke membran sitoplasma. Inti pusat terdiri dari bundel heliks N-terminal (HB), yang berisi heliks HB1, HB2, dan HB3. Ada interaksi rantai samping antar-heliks hidrofobik yang menstabilkan dan menahan heliks bersama-sama. SARS-CoV nsp7 dimerisasi dan berinteraksi dengan protein lain seperti nsp5, nsp8, nsp9, dan nsp13.14 Wilayah HB dari nsp7 *conserved* dan diketahui berinteraksi dengan nsp8.

Nsp8 memiliki massa molekul sekitar 22 kDa dan unik untuk virus corona.<sup>14</sup> Keempat monomer nsp8 memiliki konformasi yang berbeda: nsp8I dan nsp8II.<sup>58</sup> Nsp8I digambarkan sebagai struktur seperti “klub golf” yang menyimpan “poros” terminal-N domain, yang selanjutnya berisi tiga heliks

(NH1-3) dan domain "kepala" terminal-C, sementara nsp8II memiliki domain kepala yang serupa, tetapi heliks poros NH3 membengkok menjadi dua heliks yang lebih pendek. N-terminal diketahui sangat terkonservasi, menunjukkan bahwa domain ini mungkin memiliki peran penting dalam interaksi dengan molekul atau kompleks lain (Gorkhali et al., 2021).

Nsp8 unik untuk coronavirus dan dilaporkan hanya mampu mensintesis RNA *de novo* dengan kestabilan rendah pada *template* ssRNA. Ada interkoneksi yang stabil dari molekul nsp8 seperti tongkat golf dalam struktur heksadekamerik, yang unik karena tidak hanya melibatkan penumpukan subunit proteinnya. Genom mereka yang sangat besar dan aktivitas proofreading diduga menunjukkan bahwa coronavirus mungkin berbeda dari virus RNA lain dan berbagi kesamaan yang belum pernah terjadi sebelumnya dengan bentuk kehidupan berbasis DNA dalam mekanisme biosintesis genom. Hexadecamer mungkin menjadi faktor yang mengikat dan mengikuti RdRp, memberikan prosesivitas tinggi untuk replikasi yang efisien dari genom virus corona yang sangat besar. Mode pengikatan seperti itu akan memberikan rasio molar 8:1 antara nsp7–nsp8 dan RdRp, yang sesuai dengan kelimpahan alami nsps yang dikodekan orf1a dalam mesin replikasi dan transkripsi (tiga hingga lima kali lipat

lebih banyak dari yang dikodekan orf1b nsps seperti RdRp, helicase, exonuclease (Zhai et al., 2005)

### **2.1.8 Nsp 9**

Nsp9 adalah protein pengikat RNA untai tunggal yang terlibat dalam virulensi virus. Nsp9 dari SARS-CoV-2 berbagi identitas urutan 97% dengan ortolog SARS-CoV. Struktur Nsp9 terdiri dari serangkaian loop panjang yang diproyeksikan ke luar dari inti b-barrel tertutup 6-untai (Arya et al., 2021). SARS-CoV nsp9 telah terbukti memiliki kemampuan mengikat RNA dan DNA melalui berbagai metode. Nsp9 juga melokalisasi endosom akhir di wilayah replikasi dengan nsp7, nsp8, dan nsp10 dan kemungkinan merupakan anggota kompleks replikasi (Miknis et al., 2009).

SARS-CoV nsp9 juga mengandung dimer di unit asimetris. Pada setiap monomer, terdapat tujuh untai dan satu heliks yang tersusun menjadi domain kompak tunggal, yang membentuk laras berbentuk kerucut yang diapit oleh heliks terminal-C. Heliks memiliki dua situs hidrofobik, salah satunya menghadap laras dan yang lainnya berinteraksi dengan heliks monomer kedua. Dimer ini dirakit oleh interaksi hidrofobik dan selanjutnya distabilkan oleh empat ikatan hidrogen panjang yang melibatkan atom rantai utama (Egloff et al., 2004).

Informasi struktural menunjukkan senyawa yang mengganggu antarmuka dimer Nsp9 dapat dikembangkan sebagai obat melawan penyakit coronavirus (Arya et al., 2021). Selama pandemi 2020, nsp9 SARS-CoV-2 menunjukkan mutasi yang sangat sedikit. Hanya satu residu, M101, yang mengalami mutasi lebih tinggi dari 0,01 (Gorkhali et al., 2021).

### **2.1.9 Nsp 10**

nsp10 adalah protein domain tunggal kecil, panjang 139 asam amino yang memiliki identitas urutan 99% dengan Nsp10 SARS-CoV. Nsp10 bertindak sebagai protein scaffold untuk membentuk kompleks metilasi tutup mRNA dengan Nsp14 (exonuclease dan N7-methyltransferase) dan Nsp16 (20 - Omethyltransferase). Struktur kristal Nsp10 (PDB ID: 6ZCT) menunjukkan bahwa Nsp10 terdiri dari *anti-parallel b-sheet*, domain heliks, dan dua situs pengikatan untuk ion  $Zn^{2+}$  (Arya et al., 2021).

Struktur kristal heterodimer SARS-CoV-2 nsp10-nsp16 dalam kompleks dengan S-adenosylmethionine (SAM) telah dipecahkan. Permukaan hidrofobik Nsp10 yang bermuatan positif berinteraksi dengan kantong hidrofobik bermuatan negatif di permukaan nsp16, sehingga menstabilkan situs pengikatan SAM. Pada coronavirus lain, struktur ini ditemukan terlibat dalam pengikatan RNA nonspesifik (Gorkhali et al., 2021).

### 2.1.10 Nsp 12

Replikasi SARS-CoV-2 didominasi oleh kompleks replikasi/transkripsi yang mengandung beberapa subunit. Kompleks ini terdiri dari protein non-struktural virus (nsp) dan inti dari kompleks tersebut adalah RdRp dan nsp12. Fungsi nsp12 memerlukan faktor aksesori, termasuk nsp7 dan nsp8. Nsp12 sendiri memiliki sedikit aktivitas. Kehadiran nsp7 dan nsp8 secara signifikan meningkatkan kombinasi nsp12 dan RNA template-primer (M. Y. Wang et al., 2020).

Nsp12 adalah 103 kDa multi-subunit RNA-dependent RNA polymerase (RdRp). Bersama dengan Nsp7 dan Nsp8, membentuk kompleks replikasi untuk replikasi dan transkripsi genom RNA virus. SARS-CoV-2 Nsp12 sangat mirip dengan SARS-CoV yang memiliki kemiripan sekuens 96%. SARS-CoV-2 Nsp12 berisi domain N-terminal ekstensi *nidovirus-unique RdRp associated nucleotidyltransferase* (NiRAN) (residu 60–249) dan domain RdRp (residu 366-920), saling terhubung oleh domain *interface* (Arya et al., 2021).

RNA-dependent RNA polymerase, yang mengkatalisis sintesis RNA virus, adalah komposisi penting dari replikasi/transkripsi virus corona. RdRp adalah target obat antivirus yang penting (M. Y. Wang et al., 2020).

Selama pandemi 2020, nsp12 adalah salah satu protein yang paling banyak bermutasi. Salah satu residu P323 dimutasi dengan laju 0,996. Residu bermutasi lainnya dengan tingkat mutasi lebih tinggi dari 0,01 adalah V776, A185, E254, A656, T739, dan V720. Situs yang paling sering bermutasi P323 terletak di luar situs aktif protein. Namun, mungkin memiliki peran dalam pelipatan protein dan interaksi dengan nsp7 dan nsp8 (Gorkhali et al., 2021).

#### **2.1.11 Nsp 13**

Nsp13, sebuah helikase dari SARS-CoV-2, menunjukkan 100% kemiripan dengan SARS-CoV. Nsp13 melakukan aktivitas helikase selama sintesis RNA dan juga berkontribusi dalam pembatasan 5'-RNA. Nsp ini melepaskan RNA untai ganda dalam arah 5'–3' dan menyajikan *template* untai tunggal ke polimerase untuk pemanjangan lebih lanjut (Kadam et al., 2021).

SARS-CoV-2 nsp13, terdiri dari 596 asam amino, memiliki bentuk piramida segitiga yang terdiri dari lima domain. Helikase nsp13 memisahkan RNA atau DNA untai ganda dengan polaritas 5'→3'. SARS-CoV RdRp, nsp12, meningkatkan efisiensi katalitik nsp13 dua kali lipat dengan meningkatkan ukuran langkah pelepasan asam nukleat.<sup>28</sup> Selain aktivitas helikase pada DNA untai ganda dan RNA, ia juga mampu melepaskan dupleks

RNA/DNA. Selain itu, ia memiliki aktivitas NTPase serta aktivitas capping 5' mRNA (Arya et al., 2021).

Analisis tingkat mutasi residu asam amino nsp13 selama pandemi 2020 mengungkapkan bahwa lima residu, E261, K218, H290, K460, dan A598, menunjukkan tingkat mutasi lebih besar dari 0,01 (Vilar & Isom, 2021).

#### **2.1.12 Nsp 14**

Proofreading eksonuklease yang berkontribusi pada ketepatan replikasi pada virus DNA dan organisme seluler telah diketahui dengan baik; namun, proofreading pada virus RNA tidak diketahui sampai saat ini. Protein nonstruktural coronavirus 14 (nsp14) telah terbukti berfungsi sebagai exoribonuclease proofreading. Selain itu, nsp14 menunjukkan aktivitas metil transferase (guanin-N7) untuk pembatasan mRNA virus. Kedua peran penting untuk replikasi dan transkripsi virus.

Protein nonstruktural 14 (nsp14) dari coronavirus (CoV) penting untuk replikasi dan transkripsi virus. Domain N-terminal exoribonuclease (ExoN) memainkan peran proofreading untuk pencegahan mutagenesis mematikan, dan domain C-terminal berfungsi sebagai (guanin-N7) metil transferase (N7-MTase) untuk pembatasan mRNA. Dasar molekuler dari kedua fungsi ini tidak diketahui. Satu molekul nsp10 berinteraksi dengan ExoN dari

nsp14 untuk menstabilkan dan merangsang aktivitasnya (Ma et al., 2015).

Dalam kasus SARS-CoV-2, domain ExoN dari nsp14 diyakini memiliki fungsi penting tambahan selain meningkatkan ketepatan replikasi virus. ExoN diyakini penting dalam sintesis RNA, resistensi analog nukleosida antivirus, kemampuan, antagonisme imun, dan virulensi selain replikasi fidelitas tinggi. Ini juga telah terlibat untuk meningkatkan rekombinasi, yang penting dalam evolusi virus (Gorkhali et al., 2021).

Nsp14 menunjukkan tingkat variasi mutasi yang sangat rendah selama pandemi 2020. Hanya dua residu, M501 dan N129, yang menunjukkan tingkat mutasi lebih tinggi dari 0,01 (Vilar & Isom, 2021).

### **2.1.13 Nsp 15**

Nsp15 adalah endoribonuklease yang memotong RNA secara khusus pada ujung 3' uridilat. Domain endoribonucleasenya unik untuk nidovirales yang menginfeksi vertebrata, termasuk coronavirus. Aktivitas endonuklease Nsp15 membantu virus menghindari sistem kekebalan dengan mencegah deteksi dsRNA virus oleh inang. Nsp15 memotong 50-poliuridin dari untai negatif RNA virus, yang merupakan pola molekuler terkait-patogen (*patogen-associated molecular pattern/PAMPs*) untuk MDA-5, sensor utama infeksi virus RNA

(Hackbart et al., 2020). Aktivitas Nsp15 membatasi akumulasi PAMP ini dan karenanya mengurangi respons imun inang. Protomer Nsp15 terdiri dari tiga domain: domain terminal-N kecil, domain tengah, dan domain NendoU katalitik terminal-C yang besar. Domain terminal-N dan domain tengah menyediakan sebagian besar area *interface* untuk perakitan oligomer sementara domain terminal-C menghadap ke luar menyediakan enam wilayah aktif di permukaan (Arya et al., 2021).

Oligomer endonuklease SARS-CoV-2 nsp15 ditemukan mirip dengan homolog SARS-CoV, H-CoV-229E, dan MERS-CoV. Lipatan monomer heksamer SARS-CoV-2 menunjukkan kemiripan yang lebih tinggi (88%) dengan SARS-CoV dibandingkan dengan H-CoV-229E dan MERS-CoV. Enzim SARS-CoV-2 kemungkinan besar beroperasi dengan cara yang identik dengan homolog SARS-CoV, H-CoV-229E, dan MERS CoV mereka. Namun demikian, sifat katalitik diferensial dan spesifisitas substrat yang berpotensi diubah mungkin ada dalam kasus homolog. Heksamer distabilkan oleh interaksi domain oligomerisasi terminal-N, tetapi setiap domain subunit juga berkontribusi pada interaksi oligomer (Gorkhali et al., 2021).

Selama pandemi 2020, protein ini ditemukan bermutasi pada frekuensi sedang. Empat residu asam amino, K13, T34,

R207, dan T115, menunjukkan tingkat mutasi lebih tinggi dari 0,01 (Vilar & Isom, 2021).

#### **2.1.14 Nsp 16**

Nsp16 adalah m<sup>7</sup>GpppA (Cap-1) spesifik, bergantung pada Sadenosil metionin (SAM), nukleosida 20-O-metiltransferase dan mengkatalisis pembatasan 50 metil mRNA virus. Pembatas 50 metil melindungi RNA virus dari degradasi oleh inang 50-exoribonucleases dan berfungsi untuk menghindari induksi respon imun bawaan. Gangguan genetik SARS-CoV Nsp16 menyebabkan pengurangan sepuluh kali lipat dalam sintesis RNA virus. Oleh karena itu, Nsp16 adalah target obat lain yang menarik untuk Covid-19. SARS-CoV-2 Nsp16 berbagi identitas 93,3% dengan SARS-CoV Nsp16 (Arya et al., 2021).

SARS-CoV nsp16, meskipun memiliki lipatan metiltransferase yang bergantung pada SAM, tidak menunjukkan aktivitas enzimatis ini sendirian. SARS-CoV nsp16 hanya aktif dengan adanya mitra stimulatornya nsp10. 2'-O-MTase yang dikodekan oleh SARS-CoV terdiri dari dua subunit; subunit katalitik nsp16 dan subunit pengaktif nsp10. Nsp10 membantu nsp16 untuk mengikat substrat RNA yang tertutup serta donor metil SAM (Gorkhali et al., 2021). Hanya satu residu asam amino, R216, dari nsp16 yang menunjukkan tingkat mutasi lebih tinggi dari 0,01 selama pandemi SARS-CoV-2 2020 (Vilar & Isom, 2021).

**Tabel 2. 1 Struktur dan fungsi protein nonstruktural SARS-CoV (Gorkhali et al., 2021)**

Nama	Nama Fungsional	Struktur (SARS CoV-2)	Fungsi
Nsp1	Faktor virulansi	Struktur Cryo-EM dan struktur Kristalografi Sinar-X PDB: 7K5I, 7K3 N, 7K7 P.	Ini menghambat translasi inang, menyebabkan invasi dari respon imun inang dan menyebabkan ekspresi gen virus yang efisien dalam sel yang terinfeksi
Nsp2	<i>Endosome associated protein</i>	-	Ini sama sekali tidak diketahui. Dalam SARS-CoV-2 juga, protein lain yang dilampirkan nsp2 mungkin menawarkan beberapa petunjuk. Nsp2 berinteraksi dengan kompleks protein inang PHB1 dan PHB2, yang terlibat dalam biogenesis mitokondria
Nsp3	Memotong dan melepaskan penanda protein	Kristalografi Sinar-X PDB: 6YW L, 6WEY, 6WOJ, 7CZ4, 7CJD, 7C33, 7LLZ, 7LOS, 7CMD, 7JIW, 7LLZ	Ini melepaskan nsp1 dan nsp2 dari poliprotein, berinteraksi dengan nsps virus lain serta RNA untuk membentuk kompleks replikasi/transkripsi dan menghilangkan tag dari protein lama yang ditetapkan untuk dihancurkan
Nsp4	Pembuat vesikel membran ganda		Nsp3, 4, dan 6 diperkirakan berfungsi untuk nukleasi dan kompleks replikasi virus pada vesikel membran ganda di sitoplasma.
Nsp5	Protease (3CLpro)	Kristalografi Sinar-X PDB: 6M2N, 2M2N, 7L0D, 6M2Q, 7JKV, 7JQ3, 7JPY, 7JPZ, 7JQ0, 7JQ1, 7JQ4, 7JQ5, 7JQ2	3CLpro pertama-tama secara otomatis dibelah dari poliprotein untuk menghasilkan enzim matang, yang kemudian membelah <i>downstream</i> nsps di 11 wilayah untuk melepaskan nsp4-nsp16.
Nsp6	Pembuat vesikel membran ganda		Nsp3, 4, dan 6 diperkirakan berfungsi untuk nukleasi dan kompleks replikasi virus pada vesikel membran ganda di sitoplasma.

Nsp7	Copy Assistant	Struktur Nsp7-nsp8-nsp12 (Kristalografi Sinar-X) PDB: 7JLT, 6YHU, 7DCD, 7BW4, 6M71	Dimerisasi SARS Cov dan berinteraksi dengan protein lain seperti nsp5, nsp8, nsp9, dan nsp13
Nsp8	Primase	Struktur Nsp7-nsp8-nsp12 (Kristalografi Sinar-X) PDB: 7JLT, 6YHU, 7DCD, 7BW4, 6M71	Enzim Nsp8 mampu de novo memulai replikasi dan telah diusulkan untuk beroperasi sebagai primase. Nsp8 diketahui melokalisasi bersama dengan RdRp untuk menyalin genom SARS-CoV
Nsp9	RNA binding RNA	Kristalografi Sinar-X PDB: 6WXD	Ini adalah protein pengikat RNA untai tunggal, yang menampilkan lipatan pengikat oligosakarida / oligonukleotida
Nsp10	Methyltransferase stimulator	Struktur sebagai kompleks nsp10-nsp16-SAM (Kristalografi Sinar-X) PDB: 7BQ7,7JYY	Ini merangsang nsp16 untuk menjalankan aktivitas S-adenosil-L-metionin (SAM)-dependent methyltransferase (MTase)
Nsp12	RNA-dependent RNA polymerase	Struktur sebagai nsp7-nsp8-nsp12 (Mikroskop elektron) PDB: 6M71, 7JLT, 6YHU, 7DCD, 7BW4, 7AAP	Nsp12, dalam hubungannya dengan nsp7, nsp8, dan komponen penting lainnya dari mesin sintesis RNA, membentuk kompleks replikasi virus
Nsp13	Helicase	Kristalografi Sinar-X PDB: 6ZSL, 7NI0, 7NN0, 7NNG	Ini melepaskan dsRNA atau DNA dengan polaritas 5'→3', menggunakan energi dari hidrolisis nukleotida
Nsp14	<i>Proofreading</i> Exonuclease	-	Domain exoribonuclease N-terminalnya memiliki peran proofreading, yang mencegah mutagenesis mematikan, sedangkan domain C-terminal berfungsi sebagai (guanine-N7) methyltransferase (N7-MTase) untuk capping mRNA

Nsp15	Endonuclease	Kristalografi Sinar-X PDB: 7KEG, 7KEH, 7KF4	Nsp15 secara istimewa memotong uridin pada 3' dengan cara yang bergantung pada mangan. Ini dianggap sebagai cara penting bagi virus untuk bersembunyi dari pertahanan antivirus
Nsp16	Methyltransferase	Struktur sebagai kompleks nsp10-nsp16-SAM (Kristalografi Sinar-X) PDB: 7BQ7,7JYY	Nsp16 merekrut RNA dan SAM tertutup termetilasi N7 yang mempromosikan perakitan kompleks nsp10/nsp16 yang aktif secara enzimatik. Kompleks ini mengubah 7mGpppG (cap-0) menjadi 7mGpppG2'Om (cap-1) RNA dengan metilasi 2'-OH N

## **2.1. Protein Struktural**

Ujung 3 dari genom SARS-CoV-2 terdiri dari empat struktur gen penyandi protein, yang meliputi spike (S), membran (M), envelope (E), dan nukleokapsid (N). Dari memasuki sel inang hingga pembentukan partikel virus, berbagai proses virus bergantung pada protein ini (Bakhshandeh et al., 2020).

### **2.2.1. Protein S**

Spike atau S glikoprotein adalah protein transmembran yang berada pada permukaan luar virus, dengan berat molekul hampir 150 kDa yang menentukan kisaran inang dan patogenisitas virus dengan kontribusinya terhadap masuknya virus melalui mediasi perlekatan partikel virus ke membran plasma sel inang (Bakhshandeh et al., 2020). Protein S atau Spike merupakan glikoprotein struktural yang terlibat dalam interaksi inang-virus selama virus masuk ke dalam sel inang. Mereka memfasilitasi perlekatan partikel virus ke sel inang untuk memediasi fusi membran dan masuknya virus ke dalam sel inang. Protein S terpapar pada permukaan virus, menjadikannya salah satu target utama dari desain obat dan antibodi netralisasi. Dengan demikian, protein S berada di bawah studi ekstensif untuk desain terapi dan vaksin (Gorkhali et al., 2021).

Protein S dari SARS-CoV-1 dan SARS-CoV-2 membentuk homo-trimer yang menonjol di permukaan virus yang memfasilitasi masuknya virus ke dalam sel inang melalui interaksi dengan enzim pengubah angiotensin 2 (ACE2) yang merupakan reseptor utama mereka yang diekspresikan dalam sel saluran pernapasan bagian bawah. Namun, dalam beberapa keadaan, mereka mungkin menggunakan CD209L sebagai reseptor alternatif (Bakhshandeh et al., 2020).

Protein S terdiri dari dua subunit yang disebut S1 dan S2. S1 mengikat dengan reseptor seluler inang sedangkan subunit S2 memfasilitasi fusi membran virus dengan sel inang. Sebagian besar virus Corona memiliki pembelahan S1 dan S2 dengan hanya ikatan nonkovalen di antara mereka. SARS-CoV-2 menunjukkan pengecualian untuk ini dengan memiliki situs pembelahan furin yang tidak terbelah antara subunit S1 dan S2 yang kemudian dibelah selama biosintesis virus. Semua Coronavirus mengaktifkan fusi membran ketika S dibelah oleh inang enzim di wilayah S2-prime melalui perubahan ireversibel ekstensif dalam konformasi struktural mereka (Gorkhali et al., 2021).

Domain S1 protein spike bertindak sebagai antigen permukaan utama. Ini berisi dua subunit, N-terminal domain (NTD) dan C-terminal domain (CTD) (Ke et al., 2020). S1-CTD

bertindak sebagai receptor-binding domain (RBD). RBD berinteraksi dengan 18 residu ACE-2 (Lan et al., 2020). RBD dilindungi oleh glikosilasi yang biasanya diamati pada glikoprotein virus termasuk protein S dari SARS-CoV dan HIV-1. Tetapi persentase glikosilasi protein S SARS-CoV-2 lebih rendah dibandingkan dengan protein S HIV-1 (Watanabe et al., 2020). Ketiga RBD membentuk trimer dan berputar ke atas untuk memberikan konfirmasi yang dapat diakses reseptor (Coutard et al., 2020). Domain S2 adalah subunit fusi membran. Ini berisi fusion peptide (FP), heptad repeat 1 (HR1), central helix (CH), konektor domain (CD), heptad repeat 2 (HR2), dan domain transmembran (TM). Ada dua situs pembelahan, satu di batas S1/S2 (R685) dan kedua di S2' (R815) (Ke et al., 2020). HRs trimerises untuk membentuk struktur coiledcoil dan menyeret amplop virus serta bilayer sel inang ke dekat, memfasilitasi fusi merek (Walls et al., 2020). Pada batas subunit S1 dan S2, terdapat furin cleavage site (RRAR). Situs ini membedakan SARS-CoV-2 dari SARS-CoV dan CoV lainnya. Fitur lain yang luar biasa dari SARS-CoV-2 adalah penambahan residu prolin pada awal situs pembelahan furin (Wrapp et al., 2020), Prolin yang dimasukkan ini menciptakan putaran yang diperkirakan menghasilkan glikosilasi terkait-O pada posisi S673, T678, dan S686. Selain itu, glikan terkait-O dapat berkontribusi pada perisai kuat epitop SARS-CoV-

2 (Andersen et al., 2020). Urutan asam amino protein S SARS-CoV-2 adalah 76% identik dengan SARS-CoV sementara itu menunjukkan lebih banyak identitas, yaitu 97% dengan kelelawar CoV RaTG13. Wilayah yang berinteraksi dengan ACE2 (asam amino 460-520) sangat *conserved* di antara CoVs (Vandelli et al., 2020). Menariknya, identitas antara SARS-CoV dan SARS-CoV-2 menurun di wilayah RBD. Hanya 74% RBD identik yang mungkin menjelaskan mengapa mereka mengikat dua reseptor berbeda pada sel inang (Ou et al., 2021).

Dalam kasus SARS-CoV, telah diamati bahwa mutasi pada RBD dapat terjadi untuk diadopsi dengan sel inang selama perjalanan dalam kultur sel (Cui et al., 2019). Dengan demikian, secara teoritis ada kemungkinan bahwa SARS-CoV-2 memperoleh mutasi pada RBD sebagai adaptasi selama transmisi lintas spesies. Mutasi pada RBD tidak hanya meningkatkan stabilitas struktural protein S tetapi juga dapat melemahkan pengikatan antibodi terhadap strain lain. Setelah interaksi awal antara domain S1 dan reseptor inang ACE2, segmen S2 memediasi fusi membran inang dan membran virus yang memungkinkan genom RNA virus masuk ke dalam sel inang (Kadam et al., 2021).

### **3.2.2. protein M**

Membran atau protein M menentukan bentuk selubung virus. Protein ini dapat berfungsi sebagai protein transmembran kecil melalui pengikatan ke semua protein struktural lainnya. Protein M juga berkontribusi pada pengemasan genom RNA virus menjadi ribonukleokapsid heliks selama pembentukan virion (C. Yin, 2020).

Protein membran (M) SARS-CoV-2 dan virus corona lainnya berperan penting dalam perakitan virus melalui interaksi protein-protein, interaksi M-nukleokapsid (N), M-M, dan M-spike (S) Selama virus infeksi, telah disarankan bahwa protein M berikatan dengan protein S virus dan reseptor permukaan inang, yang mendorong fusi membran. Protein ini menghasilkan antigenisitas yang ditunjukkan oleh virus terhadap respons imun inang. Sebagai protein yang paling banyak ditemukan dalam virion coronavirus, protein M juga dapat menjadi salah satu komponen penting dari perakitan dan morfogenesis virus, berkontribusi pada regulasi replikasi (Gorkhali et al., 2021).

Glikoprotein M membran adalah protein transmembran dengan tiga domain N-terminal. Protein ini diglikosilasi dalam aparatus Golgi setelah ekspresinya dan bergabung dengan protein selubung lain seperti protein Spike (S) dan protein Nukleokapsid (N) dan juga satu sama lain selama perakitan virus.

Protein 156 N menciptakan kompleks dengan RNA genomik dan protein M yang mengaktifkan pengembangan interaksi virion di intermediet kompartemen *interface* ER dan Golgi dengan kompleks ini (Escors et al., 2001).

Protein M dari SARS-CoV dilaporkan berinteraksi dengan NF- $\kappa$ B sel inang, menurunkan ekspresi gen siklooksigenase 2 (Cox 2). Selain itu, protein M dapat berkontribusi pada patogenesis dengan meniru respon inflamasi host yang dimediasi NF- $\kappa$ B- dan Cox-2. Sangat mirip dengan SARS-CoV, protein M SARS CoV-2 mungkin memiliki peran yang sama dalam patogenesis. Dalam laporan yang sangat menarik, analisis *in silico* menunjukkan bahwa protein M dari SARS-CoV-2 homolog dengan protein transpor gula prokariotik semiSWEET (pengangkut gula); Sangat menarik untuk memahami peran protein M dalam metabolisme energi virus (Thomas, 2020).

### **3.2.3. protein N**

Nukleokapsid atau protein N adalah penyusun struktural SARSCoV-2 yang terikat pada genom RNA virus. Protein ini mengambil bagian dalam berbagai proses yang terkait dengan genom virus, termasuk siklus replikasi virus, sinyal genom virus, dan respons sel inang terhadap infeksi virus (Bakhshandeh et al., 2020).

Protein N berkisar antara 43 hingga 50 kDa dan berikatan dengan gRNA. Secara keseluruhan, itu dibagi menjadi tiga domain yang dilestarikan, yaitu, N arm, central linker (CL), dan C tail. NTD dan CTD adalah domain struktural dan fungsional yang penting. Fungsi NTD adalah mengikat RNA dan sebagian besar ditempati oleh asam amino bermuatan positif (Kang et al., 2020).

Protein N adalah protein kapsid yang fungsi utamanya melindungi RNA genomik dengan mengemasnya. Protein N melakukannya dengan terlebih dahulu mengenali RNA genomik, menggabungkan dirinya dengan RNA genomik dan membentuk kapsid dengan mengasosiasikan diri ke dalam oligomer (Surjit & Lal, 2008). Protein N memiliki berbagai peran. Itu dapat memanipulasi mesin seluler inang, yang sangat penting dalam siklus hidup virus corona. Protein N dari coronavirus juga dapat menderegulasi siklus sel inang dengan menghambat proses fase S (Gorkhali et al., 2021). Ini dapat menurunkan regulasi produk gen seperti cyclin E dan cyclin dependent kinase (CDK2) yang diekspresikan selama fase S dari siklus sel. Selain itu, protein N dapat menghambat produksi interferon (IFN) (Surjit & Lal, 2008). Meskipun infeksi SARS-CoV tidak menghasilkan INF, penelitian menunjukkan bahwa sel-sel yang telah diinduksi INF dapat mencegah infeksi SARS-CoV (Bojian Zheng et al., 2004). Selain itu, protein N dapat meningkatkan produksi protein

siklooksigenase-2 (COX2), yang merupakan elemen proinflamasi terpenting yang diinduksi selama infeksi virus corona (Yan et al., 2006).

#### **3.2.4. protein E**

Bukti struktural menunjukkan bahwa terminal N-amino dari selubung atau protein E adalah urutan hidrofilik pendek yang terdiri dari 7-12 asam amino. Hal ini diikuti oleh segmen tengah hidrofobik besar dengan 25 asam amino yang dikenal sebagai domain transmembran dan memiliki C-terminus hidrofilik panjang yang merupakan sebagian besar protein. Protein E terlibat dalam proses produksi dan pematangan virus melalui interaksi dengan protein membran sel inang (Chang et al., 2020).

Protein E adalah protein yang paling *conserved* di seluruh CoV yang dipelajari, dan karenanya, menampilkan fitur dan fungsi karakteristik umum. Misalnya, protein SARS-CoV E identik dengan SARS-CoV-2 kecuali untuk empat variasi (yang diharapkan tidak mempengaruhi fitur atau fungsi protein E. Dengan demikian, fitur yang ditunjukkan oleh protein SARS-CoV E termasuk aktivitas saluran ion juga dianggap ditunjukkan oleh protein SARS-CoV-2 E (Wilson et al., 2004).

#### **2.2. Protein Assesoris**

Genom virus corona unik di antara Nidovirus karena mengkodekan sejumlah variabel protein aksesori yang fungsinya

tampaknya tidak penting untuk replikasi virus tetapi tampaknya memainkan peran yang relevan dalam patogenesis. Dalam kasus SARSCoV-2, protein aksesori kurang dicirikan dibandingkan protein lain yang terkandung dalam genom virus, dan sebagian besar pemahaman mereka didasarkan pada studi fungsional ekstensif yang dilaporkan pada SARS-CoV dan virus terkait lainnya seperti MERS-CoV. Meskipun protein ini tidak penting untuk replikasi virus, diketahui bahwa beberapa telah terbukti memainkan peran penting dalam interaksi virus-host (Redondo et al., 2021).

Sebagian besar CoV mengandung delapan protein aksesori di mana beberapa protein aksesori diekspresikan secara selektif dalam beberapa CoV saja. Setidaknya ada enam ORF pengkode protein aksesori yang dijelaskan dalam SARS-CoV-2 termasuk 3a, 6, 7a, 7b, 8 (8b) dan 9b. SARS-CoV dan SARS-CoV-2 menunjukkan variasi protein aksesori (Gambar 1a). Misalnya, protein 8a tidak ada pada SARS-CoV-2 dan 8b adalah 37 asam amino lebih lama dibandingkan dengan SARS-CoV (Shereen et al., 2020; A. Wu et al., 2020).

### **3. Patofisiologi Virus SARS CoV-2**

Glycoprotein yang merupakan spike protein, membentuk permukaan luar coronavirus, dan glycoprotein inilah yang merupakan awal langkah infeksi virus pada inang, yaitu berikatan dengan sel manusia yang sensitif terhadap spike protein tersebut, sebagai jalan masuknya virus ke tubuh manusia, dan lalu menginfeksi manusia.

Pengkodean genom terjadi setelah masuk ke sel dan memfasilitasi ekspresi gen, yang mengkode protein aksesori yang berguna, sehingga terjadi adaptasi coronavirus terhadap inang (Sahin, 2020).

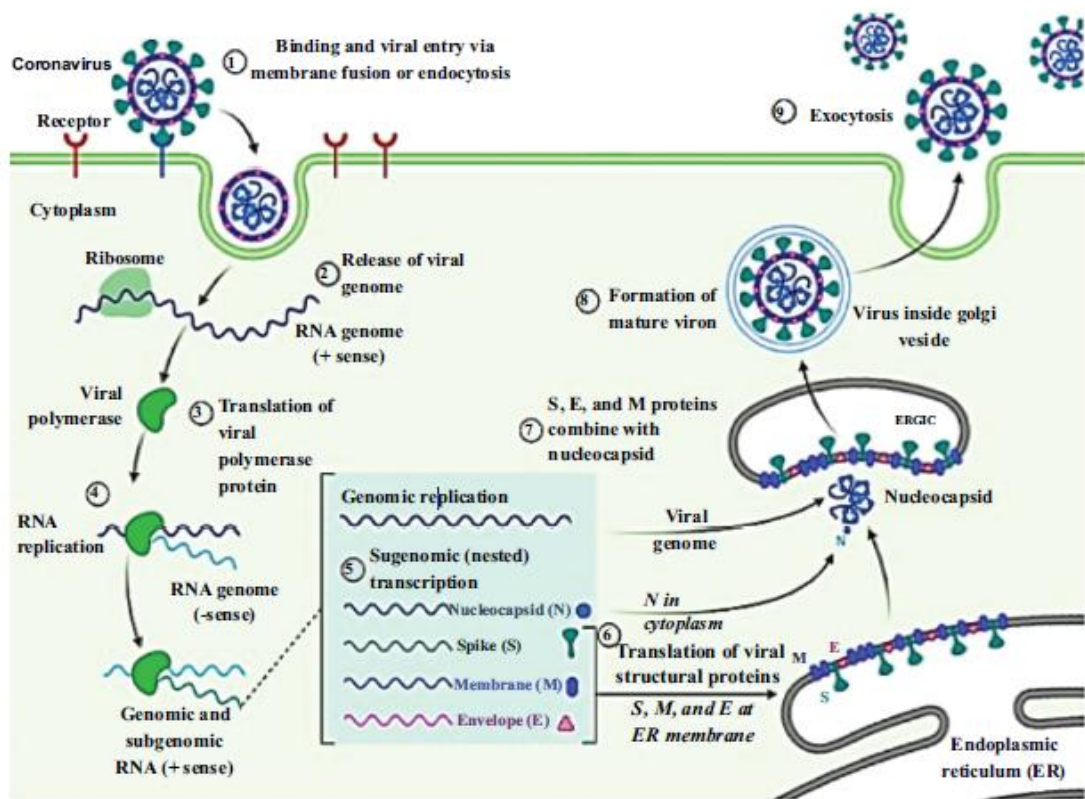
Virus SARS-CoV-2 akan mengendalikan sel manusia untuk kemudian memperbanyak diri dengan proses yang bersamaan dengan pembelahan sel. ORF1 yang merupakan gen spesifik dari semua coronavirus berfungsi melakukan kode protein untuk tahap replikasi dari pembentukan nucleokapsid virus. Coronavirus lain kebanyakan mengenali aminopeptidase atau karbohidrat sebagai kunci reseptor untuk masuk ke dalam sel tubuh manusia, selain SARS-CoV dan MERS-CoV yang mengenali eksopeptidase sebagai kunci reseptornya. Proses atau mekanisme dari masuknya virus pada sel manusia bergantung pada protease selular yang mana diantaranya yaitu human airway trypsin-like protease (HAT), cathepsin dan transmembrane protease serine 2 (TMPRSS2) yang memisahkan spike protein virus dan menjaga perubahan penetrasi virus yang lebih lanjut. (Shereen et al., 2020).

Virus menyerang manusia terutama pada saluran pernapasan khususnya pada sel-sel yang melapisi alveoli dari paru-paru. Virus SARS-CoV-2 diketahui mempunyai glikoprotein di daerah *enveloped spike* atau protein S. Mekanisme dalam menginfeksi manusia, maka protein S virus akan berikatan dengan reseptor ACE2 pada membran plasma sel tubuh manusia (Parwanto, 2020).

Virus ini di dalam sel kemudian akan melakukan penggandaan materi genetik maupun protein yang dibutuhkan dan akan membentuk virion baru di permukaan sel.(Tao Zhang et al., 2020) Setelah berhasil masuk ke dalam sel , seperti halnya SARS-CoV, maka selanjutnya virus ini akan mengeluarkan genom RNA ke dalam sitoplasma sel induk dan juga sel golgi inang, dan nantinya akan terjadi proses translasi membentuk dua lipoprotein dan protein struktural untuk dapat bereplikasi. (De Wit et al., 2016) (Duan et al., 2020) . Proses awal dari patomekanisme COVID-19 adalah proses perlekatan protein spike dari virus dengan sel host (manusia). Jika sel host telah dapat dimasuki virus , maka terjadilah proses kode genom sehingga terjadi ekspresi gen yang membantu terjadinya adaptasi coronavirus pada host manusia. Perubahan genom dapat disebabkan oleh rekombinasi, pertukaran gen, insersi gen, atau delesi, yang menyebabkan outbreak di kemudian hari.(Sahin, 2020)(Guo Y.R. et al, 2020) ACE2 atau reseptor angiotensin converting enzyme 2 oleh virus SARS-CoV-2) dijadikan reseptor untuk masuk ke dalam tubuh host. Reseptor angiotensin converting enzyme 2 ini ditemukan pada daerah traktus respiratorius bawah manusia dan pada enterosit usus kecil.(Guo,Y.R., et.al., 2020) Pada reseptor ACE2 yang ada di permukaan sel manusia, glikoprotein spike (S) virus melekat. Fungsi subunit S1 sebagai pengatur receptor binding domain (RBD). Fungsi subunit S2 yaitu dalam fusi membran antara sel virus dan sel host manusia. Fusi membrane pun terjadi, maka RNA virus akan

dikeluarkan dalam sitoplasma dari sel host manusia. Setelah fusi dari membran, maka terjadi proses translasi dari poliprotein yaitu pp1a dan pp1ab yang mana mengkode genetik dari protein struktural, dan membentuk kompleks replikasi-transkripsi (RTC). Selanjutnya kompleks replikasi-transkripsi tersebut kemudian akan melakukan replikasi serta sintesis subgenom RNA yang nantinya akan membuat koding pembentukan protein tambahan dan juga protein struktur(Guo, Y.R, et al, 2020).

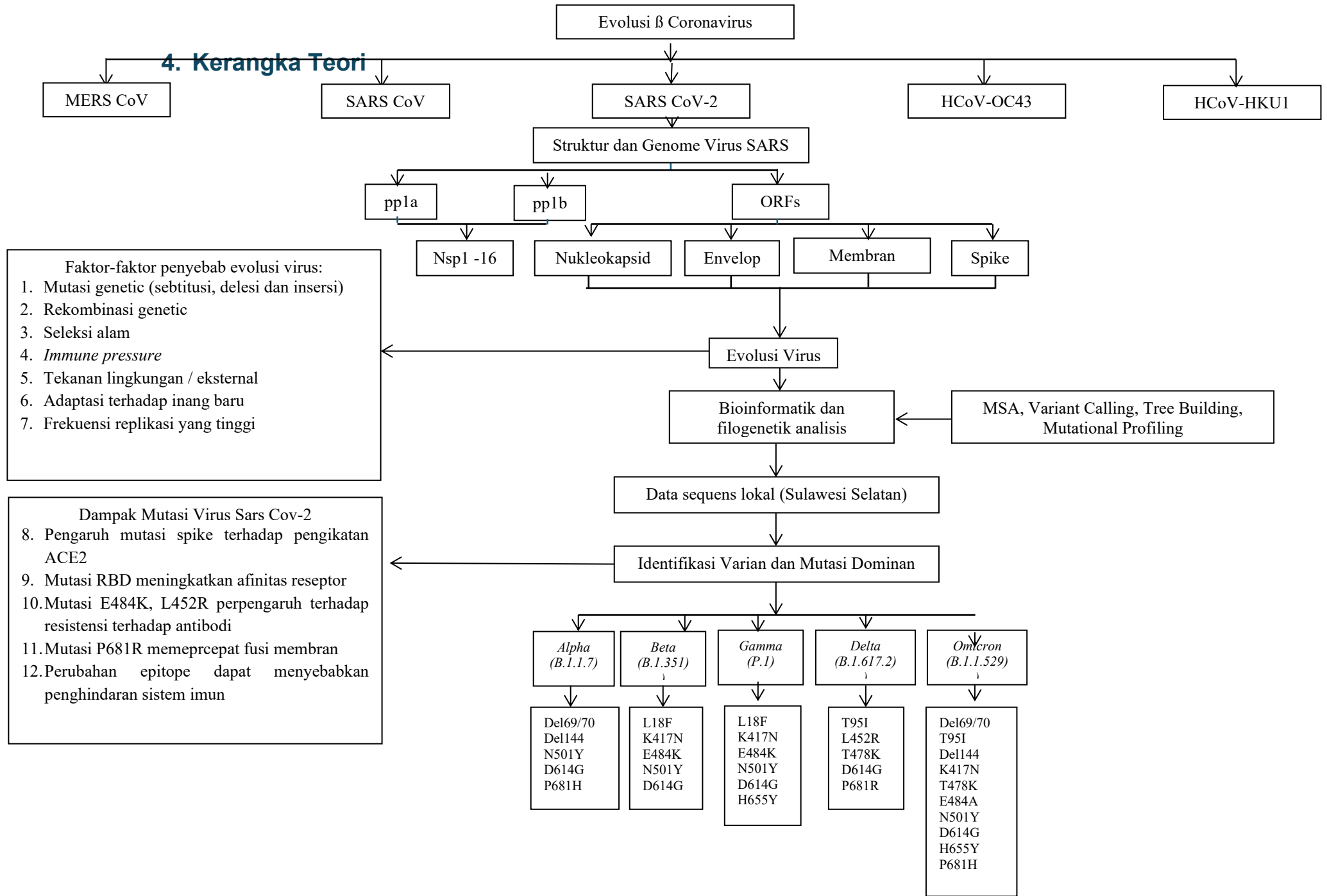
Bagian badan virus terbentuk berdasarkan adanya gabungan dari retikulum endoplasma, badan golgi, genom RNA virus, protein nukleokapsid, dan envelope glikoprotein. Selanjutnya virion kemudian akan berfusi ke membran plasma dan dikeluarkan dari sel-sel yang terinfeksi melalui eksositosis. Virus-virus yang dikeluarkan kemudian akan menginfeksi sel ginjal, hati, intestinal, dan limfosit T, dan traktus respiratorius bawah, yang kemudian menyebabkan gejala pada pasien(Sahin, 2020).(Guo, Y.R, et.al, 2020).



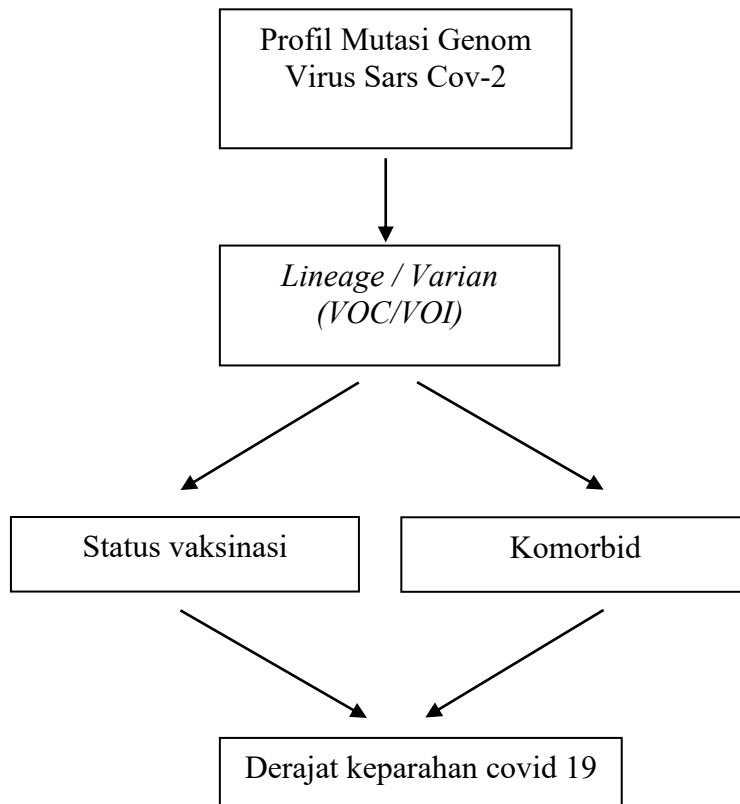
**Gambar 2 5 mekanisme infeksi Coronavirus dalam pengikatan sel inang dan masuknya virus melalui fusi membran atau endositosis (Raj et al., 2020).**

Virus SARS-CoV dapat masuk ke dalam sel inangnya dengan berikatan dengan ACE2 sebagai reseptornya. Bentuk dari Protein *spike* seperti paku-paku yang menancap pada permukaan virus SARS-CoV, memiliki ikatan yang kuat dengan ACE2 manusia, berdasarkan studi interaksi biokimia dan analisis struktur kristal. ACE2 berikatan dengan reseptor inilah yang akan membantu virus SARS-CoV masuk ke dalam sel inangnya. Jika dibandingkan, ternyata protein *spike* SARS-CoV2 (atau virus Covid-19) memiliki 76,5% kesamaan sekuen asam amino dengan SARS-CoV, dan protein *spike* mereka benar-benar homolog. Hal ini artinya kedua Coronavirus untuk menginfeksi sel inangnya

memiliki cara yang sama. Namun kemampuan SARS-CoV-2 untuk menular dari manusia ke manusia dengan cara dapat mengenali reseptor ACE2 manusia secara lebih efisien (Ikawati, 2020).



## 5. Kerangka konsep



### Catatan:

- **Variabel Independen:** Profil Mutasi Genom Virus SARS-CoV-2
- **Variabel Mediator:** Lineage / Varian (VOC/VOI)
- **Variabel Perancu:** Status Vaksinasi dan Komorbid
- **Variabel Dependen:** Derajat Keparahan COVID-19



## 6. Definisi Operasional

- a. **Profil mutasi genom SARS-CoV-2** merupakan hasil analisis *whole genome sequencing* (ONT/GridION) dan pemetaan varian terhadap genom rujukan Wuhan-Hu-1, disajikan sebagai jenis mutasi (substitusi, delesi, insersi) per gen
- b. Status vaksinasi merupakan kategori: tidak divaksin, vaksinasi parsial atau <1x dan vaksinasi lengkap atau >1x, berdasarkan sertifikat vaksin dan wawancara
- c. Severitas atau derajat keparahan penyakit berupa ringan dan berat. Kelompok severitas ringan merupakan kelompok pasien Covid-19 dengan hasil pemeriksaan RT-PCR positif yang menunjukkan gejala infeksi saluran napas atas (misalnya demam, batuk, pilek, nyeri tenggorokan, anosmia, ageusia, myalgia atau lelah) tetapi tidak mendapat perawatan di Rumah Sakit (isolasi mandiri). Severitas berat merupakan kelompok pasien Covid-19 dengan hasil pemeriksaan RT-PCR positif yang menunjukkan gejala infeksi saluran napas atas (misalnya demam, batuk, pilek, nyeri tenggorokan, anosmia, ageusia, myalgia atau lelah) yang mendapatkan perawatan khusus di Rumah Sakit (rawat inap).

d. Komorbid Adalah adanya penyakit penyerta kronis pada pasien terkonfirmasi COVID-19 yang didiagnosis secara medis **dan** tercatat dalam rekam medis. Ada komorbid: pasien memiliki  $\geq 1$  penyakit penyerta, tidak ada komorbid: tidak ditemukan penyakit penyerta yang relevan berdasarkan data catatan medis pasien.