



Memahami Lonjakan Kasus Covid-19 Melalui Analisis Mutasi Gen Spike

Irwansyah Nur Oktafian¹ dan Dwi Listyorini^{1,2,*}

¹Department of Biology, Faculty of Mathematics and Natural Science, Universitas Negeri Malang

²Department of Biotechnology, Faculty of Mathematics and Natural Science, Universitas Negeri Malang Jl. Semarang No.5, Malang, 65145, Indonesia

*Corresponding author: listyorini.aljabari@um.ac.id

Abstrak

SARS-CoV-2 adalah virus RNA dengan laju mutasi dan kemampuan adaptif tinggi yang menyebabkan pandemi di seluruh dunia. Virus ini menginfeksi inangnya dengan melakukan interaksi antara protein *Spike* (S) dengan reseptor *Angiotensin-Converting Enzyme 2* (ACE2) yang dimiliki sel manusia. Domain *Spike* memiliki laju mutasi lebih tinggi daripada domain lainnya yang menyebabkan peningkatan tingkat infeksi, transmisi dan adaptasi dari virus, sehingga virus dapat menyebar lebih luas dan cepat. Penelitian ini bertujuan untuk memahami lonjakan kasus COVID-19 di Indonesia pada gelombang ke-2 dengan menganalisa mutasi yang terjadi pada gen *Spike*. Penelitian dilakukan secara *in silico* dengan berbasis pada *Bigdata*. Sampel *download* dari *website* NCBI dan GISAID EpiCoV™ dengan kurun waktu Maret 2021-Agustus 2021. *Multiple alignment* dengan menggunakan Clustal W di aplikasi BioEdit dilakukan untuk mengisolasi protein *Spike*. Analisis varian dilakukan dengan identifikasi mutasi menggunakan MEGA11 dan Excel 2016. Identifikasi varian dominan dilakukan untuk dilakukan analisis struktur protein dan *molecular docking* dengan menggunakan *website* Swiss-Model dan HDock. Sebanyak 317 situs mutasi dan 540 varian ditemukan di Indonesia pada kurun waktu tersebut. Lima varian yaitu B.1.466.2.B, δ 1L.xD, δ 1L.x, δ 2.xD, dan δ 2.x diketahui mendominasi di dalam sampel. Interaksi RBD varian B.1.466.2.B dengan ACE2 menunjukkan ikatan yang lebih kuat dari keempat varian dominan lainnya. Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa lonjakan kasus pada gelombang ke-2 disebabkan oleh empat varian turunan dari varian Delta dan satu varian non-Delta. Varian- varian yang ditemukan di Indonesia merupakan turunan dari varian luar negeri, dan diduga virus ini akan terus bermutasi selama masih beredar di Indonesia.

Kata kunci: SARS-CoV-2, Protein *Spike*, Mutasi, Varian B.1.466.2.B, Varian turunan Delta

1. Pendahuluan

Pandemi Covid-19 telah berlangsung di Indonesia selama lebih dari 2 tahun, dimulai dari Maret 2020 hingga Maret 2022, masih terjadi penambahan jumlah kasus hingga mencapai lebih dari 5 juta jiwa yang positif terinfeksi *severe acute respiratory syndrome-CoronaVirus-2* (SARS-CoV-2), kemudian menurun hingga Mei 2022. Bulan Juli 2022 dilaporkan kasus COVID-19 meningkat Kembali (Kementerian Kesehatan, 2022). Pada tahun 2021 dilaporkan varian yang menyebar di Indonesia adalah varian Delta yang memiliki daya infeksi dan transmisi yang sangat tinggi (Gunadi *et al.*, 2021; Tenda *et al.*, 2021). Tingginya laju penyebaran (transmisi) dari SARS-CoV-2 menjadi penyebab meningkatnya jumlah kasus positif Covid-19. Peningkatan jumlah kasus positif Covid-19 dapat terjadi karena tidak maksimalnya pelaksanaan protokol kesehatan di masyarakat. Secara spesifik, transmisi dari orang tanpa gejala (OTG) dan kurangnya pengetahuan dan kesadaran masyarakat yang terinfeksi akan pentingnya isolasi mandiri menjadi penyebab utama tidak terkontrolnya penyebaran virus ini di masyarakat (Shah, 2020). Pada tahun 2022 varian baru omicron yang dilaporkan menimbulkan gelombang ketiga dan mendominasi kasus wabah COVID-19 (Kadir & Sunarno, 2022). Varian omicron memiliki kemampuan transmisi dan infeksi yang lebih tinggi dari varian Delta karena varian ini mampu menghindari dari sistem imun yang telah terbentuk oleh vaksinasi penuh dan pernah terinfeksi varian sebelumnya. Keparahan gejala yang ditimbulkan varian omicron lebih rendah daripada varian Delta sehingga jumlah kematian yang disebabkan varian ini lebih rendah daripada varian Delta (Burhan & Rachmadi, 2022; Mohsin & Mahmud, 2022).

Pemerintah Indonesia sudah menjalankan program vaksinasi untuk masyarakat Indonesia yang dilaksanakan dalam 4 tahap (dimulai dari Januari 2021-Maret 2022) dengan menggunakan 6 jenis vaksin (Sinovac, Sinopharm, AstraZeneca, Novavax, Moderna, dan Pfizer Inc.) yang bertujuan untuk melindungi masyarakat Indonesia dari infeksi SARS-CoV-2 dengan target sebanyak 181,5 juta jiwa yang akan divaksinasi (Kementrian Kesehatan, 2021), dan pada akhir tahun 2021 sekitar hampir 40 juta jiwa penduduk Indonesia telah tervaksinasi secara lengkap (Our World in Data, 2021). Di negara lain seperti India pada kuartar kedua tahun 2021 sebanyak lebih dari 160 juta jiwa atau sekitar 11% dari total populasi negara telah tervaksinasi secara lengkap (Our World in Data, 2021). Keberhasilan vaksinasi dan edukasi serta kesadaran masyarakat diduga membantu menekan lonjakan kasus pada gelombang ke-3.

Dalam penyebarannya, SARS-CoV-2 menggunakan protein *Spike* yang berperan sebagai faktor terpenting untuk dapat berinteraksi dengan reseptor yang dimiliki oleh sel inang yaitu reseptor ACE2 (*Angiotensin Converting Enzyme-2*), sehingga dapat masuk ke dalam sel inang dan bereplikasi (Lan *et al.*, 2020). Protein *Spike* tersusun atas 1273 asam amino dan terdiri dari *signal peptide* (asam amino nomor 1-13) yang terletak di *N-terminus*, subunit S1 (asam amino nomor 14-685) berperan sebagai pembentuk ikatan antara protein *Spike* dengan reseptor ACE2, dan subunit S2 (asam amino nomor 686-1273) berperan untuk fusi membran virus dengan membran sel inang (Huang *et al.*, 2020). Protein *Spike* SARS-CoV-2 terselubung oleh molekul polisakarida yang memungkinkan protein *Spike* menghindari sistem kekebalan tubuh inang saat memasuki tubuh inang (Watanabe *et al.*, 2020).

Proses infeksi virus SARS-CoV-2 terhadap inang dimulai dengan proses pengenalan antara virus dengan sel inang yang diperantarai oleh ikatan antara bagian dari subunit S1 *Receptor Binding Domain* (RBD) dengan reseptor sel inang *Angiotensin Converting Enzyme-2* (ACE2) (Shang *et al.*, 2020; Wang *et al.*, 2020). Ikatan antara RBD dengan reseptor ACE2 akan memperantarai terikatnya virus dengan sel inang dan kemudian menyebabkan sel melakukan endosom, sehingga tubuh virus dapat masuk ke dalam sel (Shang *et al.*, 2020; Wrapp *et al.*, 2020; Yan *et al.*, 2020). Pada saat virus telah masuk ke dalam sel inang, enzim protease sel inang akan membelah protein *Spike* SARS-CoV-2 menjadi subunit S1 dan subunit S2, dan akan mengaktifkan *membrane fusion domain* virus (Bertram *et al.*, 2013; Hoffmann *et al.*, 2020). *Fusion Peptide* (FP) dan dua domain *Heptapeptide Repeat* yang terdapat di subunit S2 protein *Spike* berperan penting dalam proses fusi virus dengan sel inang (Kawase *et al.*, 2019). Setelah pembelahan protein *Spike* terjadi, *Fusion Peptide* akan memicu fusi antara virus dengan sel inang. Dengan bantuan ligan tertentu, protein FP akan mengalami perubahan konformasi dan akan masuk ke dalam membran sel inang (Harrison, 2015). Domain HR1 dan HR2 akan bergabung membentuk struktur 6- helik(6-HB) dengan posisi *antiparalel* dengan FP, HR2 kemudian akan melakukan lipatan menuju ke arah HR1 sehingga membran virus akan tertarik menuju ke membran sel inang lalu terikat, dan kedua membran tersebut akan berfusi (Harrison, 2015; Xia *et al.*, 2020).

Terdapat beberapa varian mutasi SARS-CoV-2 yang telah masuk di Indonesia, diantaranya adalah varian B.1.1.7 berasal dari Inggris, varian B.1.351 berasal dari Afrika Selatan, dan varian B.1.617 berasal dari India (Kementrian Kesehatan, 2021). Varian *Delta* adalah varian yang paling mendominasi dunia di awal tahun sampai pertengahan tahun 2021 (Baj *et al.*, 2021). Varian *Delta* membawa beberapa mutasi pada gen *Spike* nya salah satunya adalah P681R dimana mutasi tersebut berpotensi meningkatkan patogenisitas dan tingkat infeksi virus (Baj *et al.*, 2021). Temuan terdahulu dari kasus di Indonesia membuktikan dengan rentang Maret 2020 – Februari 2021 dari sebanyak 536 sampel dari Indonesia ditemukan 146 situs mutasi dan 140 varian mutasi termasuk varian B.1.1.7 (Andreanto *et al.*, 2021).

Studi pendahuluan dari kasus pada gelombang ke-2 di Indonesia dengan rentang waktu mulai dari 03 Maret 2021 sampai dengan 29 Agustus 2021 memperoleh 2903 sampel. Dari seluruh sampel tersebut ditemukan 317 situs mutasi dan 540 varian, dari temuan tersebut dapat diketahui bahwa dalam rentang waktu 6 bulan (Maret 2021-Agustus 2021) ditemukan jumlah

situs mutasi dua kali lebih banyak dan varian tiga kali lebih banyak dari kasus pada gelombang pertama (Maret 2020 – Februari 2021). Berdasarkan hal tersebut, peneliti ingin mengetahui varian mana yang menyebabkan tingginya kasus lonjakan yang terjadi di Indonesia pada gelombang ke-2, apakah karena varian *Delta* dengan kemampuan menghindari sistem imunitas yang telah terbentuk dan transmisibilitas yang tinggi atau karena adanya varian lain yang tidak termasuk *Variant of Concern* yang muncul dari Indonesia, untuk menemukan varian yang menyebabkan lonjakan kasus tersebut maka dilakukan penelitian mengenai mutasi gen *Spike* dan varian baru berdasarkan mutasi tersebut karena protein inilah yang berperan penting dalam fase infeksi virus.

2. Metode

1.1 Pengambilan Sampel

Penelitian ini berjenis deskriptif eksploratif dengan menggunakan pendekatan kualitatif dan dilakukan secara *in silico* untuk menganalisis mutasi protein *Spike* SARS-CoV-2 dari lonjakan kasus COVID-19 yang ada di Indonesia mulai dari 03 Maret 2021 hingga bulan 29 Agustus 2021. Seluruh sampel *whole genome sequence* SARS-CoV-2 yang berasal dari Indonesia dan Wuhan diunduh dari *website Global Initiative on Sharing All Influenza Data (GISAID) EpiCoV™* dan NCBI dengan format *fasta*. Pengambilan data sampel dimulai dari Maret 2021 sampai Agustus 2021 dan jumlah sampel yang didapat sebanyak 2916 sekuen. Sampel dari Wuhan dengan ID sekuen: Wuhan-Hu-1 berperan sebagai sampel kontrol untuk pembandingan dengan sampel lainnya agar dapat diketahui ada atau tidaknya mutasi yang terjadi pada sampel dari Indonesia. Sekuen gen protein S (*Spike*) SARS-CoV-2 dari Wuhan-Hu-1 dengan ID sekuen: NC_045512.2, digunakan sebagai rujukan untuk mengetahui tempat pemotongan gen protein *Spike*.

1.2 Isolasi Sekuen Protein Sampel (*in-silico*)

Isolasi sekuen protein *Spike* seluruh sampel dilakukan dengan menggunakan program *ClustalW multiple alignment* yang terdapat di aplikasi *BioEdit Sequence Alignment Editor* versi 7.2.5. Seluruh sekuensampel di-*alignment* terlebih dahulu dengan *whole genome sequence* Wuhan-Hu-1 dengan sekuen protein. Sampel yang telah ter-*alignment* dengan *whole genome sequence* Wuhan-Hu-1 dan protein S SARS-CoV-2 kemudian dipotong pada sekuen *Spike* (basa nomor 21563-25384). Terdapat 13 sampel yang sekuen protein S-nya tidak terbaca dengan baik, sehingga sampel yang dapat dianalisis menjadi 2903 sampel.

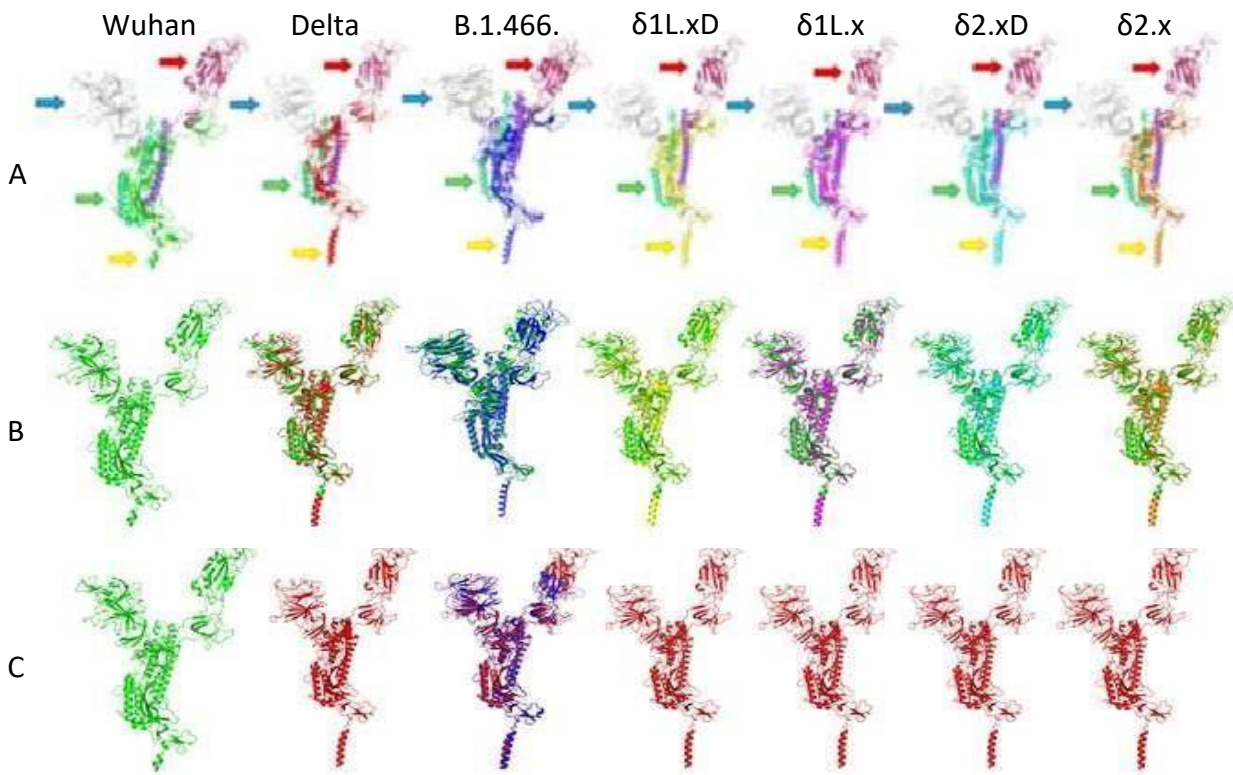
2.1. Analisis Mutasi Sekuens Sampel

Analisis mutasi sekuen protein *Spike* SARS-CoV-2 dari sampel di Indonesia dilakukan dengan menggunakan aplikasi *Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA-X)*. Sampel yang telah dianalisis kemudian di-*export* ke dalam aplikasi Microsoft Excel untuk dapat diidentifikasi mutasi- mutasi asam amino sampel sekuen protein *Spike* SARS-CoV-2 dari Indonesia dengan merujuk pada sekuen protein *Spike* SARS-COV-2 dari Wuhan (NC_045512.2). Mutasi-mutasi yang teridentifikasi dikelompokkan dalam bentuk daftar sehingga dapat ditentukan variannya. Mutasi dan varian dari sampel yang telah ditemukan kemudian ditentukan distribusinya dengan membandingkan jumlah mutasi atau varian tertentu pada sampel dengan jumlah total sampel yang kemudian dibuat grafik.

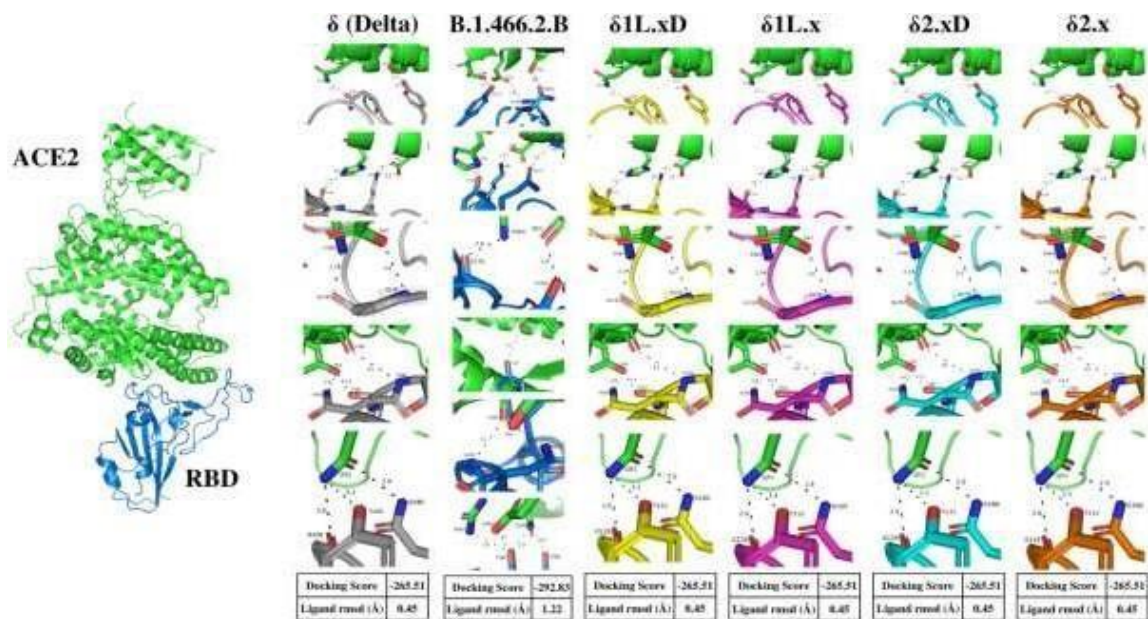
2.2. Protein Modelling Sampel

Protein modelling dilakukan untuk mengetahui struktur protein sekunder yang dimiliki oleh sampel. *Protein modelling* menggunakan 5 sekuens protein *Spike* varian terbanyak yang diketahui dari grafik distribusi varian, sekuens protein *Spike* varian *Delta*, sekuens protein *Spike* Wuhan- Hu-1, dan reseptor sel *Angiotensin-Converting Enzyme 2 (ACE2)*. Kegiatan *protein modelling* dilakukan dengan menginput sampel dengan format *fasta* ke dalam *website Swiss Model* untuk melakukan *Homology Modelling* struktur protein sampel dengan protein yang telah termodelkan sebelumnya di *database webservice*. Model struktur protein 3D yang didapat kemudian divisualisasikan struktur protein sekundernya dengan menggunakan *software PyMol*.

Gambar 5. Distribusi Varian SARS-CoV-2 di Indonesia Berdasarkan Area



Gambar 6. Perbandingan Struktur Protein Spike



Gambar 7. Hasil Molecular Docking Antara RBD Kelima Varian Dominan Terhadap Reseptor ACE2

Tabel 1. Mutasi-mutasi yang dimiliki oleh varian dominan

Varian	Mutasi Delta										Mutasi Lainnya		
	T19 R	(G142 D)	del E15 6	del F15 7	R158 G	L452 R	T478 K	D614 G	P681 R	D950 N	A222 V	N439 K	V1264 L
Delta	+	+/-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
B.1.466. 2.B	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-
δ1L.xD	+	+	+	+	X	+	+	+	+	+	-	-	-
δ1L.x	+	-	+	+	X	+	+	+	+	+	-	-	+
δ2.xD	+	+	+	+	X	+	+	+	+	+	+	-	-
δ2.x	+	-	+	+	X	+	+	+	+	+	+	-	-

Keterangan: (+) = Memiliki mutasi; (-) = Tidak memiliki mutasi; (x) = Mengalami delesi; (+/-) =ada yang memiliki dan ada yang tidak memiliki

3.2. Distribusi Situs Mutasi

Analisis mutasi terhadap 2903 sampel sekuen protein *Spike* menemukan sebanyak 317 mutasi. Dari ujung 5' *Spike* ditemukan mutasi asam amino nomor 5 Leusin menjadi Fenilalanin (L5F), nomor 6 Valin menjadi Alanin (V6A), nomor 9 Prolin menjadi Serin atau Leusin (P9S/L) dan seterusnya. Dari ujung 3' gen *Spike* ditemukan mutasi asam amino nomor 1264 Valin menjadi Leusin atau Fenilalanin (V1264L/F), nomor 1263 Prolin menjadi Glutamin (P1263Q), nomor 1262 Asam Glutamat menjadi Valin (E1262V) dan seterusnya. Berbagai mutasi tersebut disajikan secara berurutan pada Gambar 1 di bawah ini, dan setiap domain ditandai dengan blok warna yang berbeda.

Pada domain *Signal Sequence* terdapat 6 situs mutasi, pada domain NTD terdapat 106 situs mutasi, pada domain diantara NTD dan RBD terdapat 6 situs mutasi, pada domain RBD terdapat 44 situs mutasi, pada SubDomain 1/2 terdapat 33 situs mutasi, pada domain diantara *SubDomain* 1/2 dan *Fusion Peptide* terdapat 19 situs mutasi, pada domain *Fusion Peptide* terdapat 5 situs mutasi, pada domain diantara *Fusion Peptide* dengan Heptapeptide Repeat 1 terdapat 21 situs mutasi, pada domain Heptapeptide Repeat 1 terdapat 13 situs mutasi, pada domain *Central Helix* terdapt 3 situs mutasi, pada domain diantara *Central Helix* dan *Connector Domain* terdapat 7 situs mutasi, pada *Connector Domain* terdapat 17 situs mutasi, pada domain diantara *Connector Domain* dan Heptapeptide Repeat 2 terdapat 3 situs mutasi, pada domain Heptapeptide Repeat 2 terdapat 15 situs mutasi, pada domain Transmembrane dan Cytoplasmic Tail terdapat 19 situs mutasi (Gambar 2).

Identifikasi distribusi situs mutasi menemukan adanya dua mutasi yang mendominasi kasus COVID-19 di Indonesia pada pertengahan tahun 2021 lalu, yaitu mutasi D614G yang ditemukan pada 2901 sampel (99,9%), mutasi P681R yang ditemukan pada 2565 sampel (90,7%), mutasi L452R yang ditemukan pada 1533 sampel (52,8%), mutasi T478K yang ditemukan pada 1518 sampel (52,2%), mutasi T19R yang ditemukan pada 1514 sampel (52,1%), dan mutasi D950N yang ditemukan pada 1454 sampel (50%). Selebihnya adalah mutasi N439K, V1264L,

G142D, A222V, N501Y, T716I, L5F, dengan jumlah sampel yang berbeda (Gambar 2).

3.3 Distribusi Varian

Dari hasil identifikasi varian pada sampel kasus COVID-19 di Indonesia ditemukan sebanyak 540 varian. Diantara 540 varian, 5 varian mendominasi kasus COVID-19, yaitu varian B.1.466.2.B dengan situs mutasi N439K, D614G, dan P681R; $\delta 1L.x$ dengan situs mutasi T19R, del E156-F157, del R158, L452R, T478K, D614G, P681R, D950N, V1264L; $\delta 1L.xD$ dengan situs mutasi T19R, G142D, del E156-F157, del R158, L452R, T478K, D614G, P681R, D950N, V1264L; $\delta 2.x$ dengan situs mutasi T19R, del E156-F157, del R158, A222V, L452R, T478K, (D614G), P681R, D950N.; $\delta 2.xD$ dengan situs mutasi T19R, G142D, del E156-F157, del R158, A222V, L452R, T478K, D614G, P681R, D950N (penamaan dengan menggunakan huruf "x" menunjukkan terdapat delesi pada asam amino R158; penamaan dengan menggunakan huruf "D" menunjukkan terdapat mutasi G142D). Pada kelima varian tersebut ditemukan situs mutasi yang tidak ditemukan pada varian Delta, yaitu: A222V, N439K, V1264L. Varian $\delta 1L.x$, $\delta 1L.xD$, $\delta 2.x$, $\delta 2.xD$ membawa 3, 7, atau 8 mutasi dengan satu mutasi lokal yaitu delesi R158 (Tabel 1). Pada 2903 sampel yang telah diidentifikasi, tidak ditemukan varian Delta asli atau Delta *wild-type*.

Berdasarkan jumlah kasus sebanyak 1750 (60,28%) kasus didominasi oleh kelima varian dominan dengan varian B.1.466.2.B mendominasi seluruh kasus (715 sampel; 24,62%) yang diikuti varian $\delta 1L.xD$ (426 sampel; 14,67%), varian $\delta 1L.x$ (280 sampel; 9,65%), varian $\delta 2.xD$ (206 sampel; 7,1%), dan varian $\delta 2.x$ (123 sampel; 4,24%). 535 varian yang lain (1152 sampel = 39,68%) ditemukan dalam jumlah kasus yang berbeda mulai dari 53 kasus sampai hanya satu kasus (Gambar 3).

3.4 Distribusi Kasus

Sebanyak 535 varian teridentifikasi dengan persentase 40% didalam keseluruhan sampel memiliki distribusi sebagai berikut. Varian D614G ditemukan 53 kasus, varian T19R+L452R+T478K+D614G+P681R+D950N ditemukan 34 kasus, varian T19R+L452R+T478K+D614G+P681R+V1264L ditemukan 32 kasus, varian N439K+D614G ditemukan 31 kasus, varian Alpha ditemukan di 28 kasus, varian N439K+D614G+ P681R+A1078S ditemukan 16 kasus, 2 varian yaitu T19R+P25S+G142D+ L452R+T478K+D614G+P681R+D950N+V1264L dan T19R+G142D+H146Q+L452R+T478K+D614G+P681R+D950N+V1264L masing-masing ditemukan 15 kasus, 2 varian yaitu T19R+A222V+L452R+T478K+D614G+P681R dan S12F+D614G masing-masing ditemukan 14 kasus, varian N439K+D614G+P681R+G769A+A1078S ditemukan 13 kasus, 2 varian D614G+P681R dan L5F+T19R+G142D+L452R+T478K+D614G+P681R+D950N+V1264L masing masing ditemukan di 11 kasus, varian N439K+D614G+P681R+G1251V masing-masing ditemukan 10 kasus (Gambar 4).

Lima varian dominan menyebar hampir diseluruh Indonesia kecuali di provinsi Bengkulu dan Gorontalo. Varian B.1.466.2.B menyebar di 25 provinsi antara lain Nanggroe Aceh Darussalam, Bali, Banten, Jambi, Jawa Barat, Jawa Timur, Jakarta, Jawa Tengah, Kalimantan Barat, Kalimantan Timur, Kepulauan Riau, Kalimantan Selatan, Kalimantan Tengah, Kalimantan Utara, Nusa Tenggara Barat, Nusa Tenggara Timur, Papua, Papua Barat, Riau, Sulawesi Utara, Sumatera Barat, Sulawesi Selatan, Sumatera Selatan, Sulawesi Tengah, Sumatera Utara. Varian $\delta 1L.xD$ menyebar di 28 provinsi antara lain Aceh, Bali, Bangka Belitung, Banten, Jambi, Jawa Barat, Jawa Timur, Jakarta, Jawa Tengah, Kalimantan Barat, Kalimantan Timur, Kepulauan Riau, Kalimantan Selatan, Kalimantan Utara, Lampung, Maluku, Maluku Utara, Nusa Tenggara Barat, Nusa Tenggara Timur, Papua, Papua Barat, Riau, Sulawesi Utara, Sumatera Barat, Sulawesi Tenggara, Sulawesi Selatan, Sulawesi Tengah, Sumatera Utara, Yogyakarta. Varian $\delta 1L.x$ menyebar di 28 provinsi antara lain Aceh, Bali, Bangka Belitung, Banten, Jawa Barat, Jawa Timur, Jakarta, Jawa tengah, Kalimantan Barat, Kalimantan Timur, Kepulauan Riau, Kalimantan Selatan, Kalimantan Utara, Lampung, Maluku, Maluku Utara, Nusa Tenggara Barat, Nusa Tenggara Timur, Papua, Papua Barat, Riau, Sulawesi Utara, Sumatera Barat, Sulawesi Tenggara, Sulawesi Selatan, Sulawesi Tengah, Sumatera Utara, Yogyakarta. Varian $\delta 2.xD$ menyebar di 19 provinsi antara lain Aceh, Bali, Bangka Belitung, Banten, Jawa Barat, Jawa Timur, Jakarta, Jawa Tengah, Kalimantan Timur, Kalimantan Selatan,

Kalimantan Tengah, Maluku Utara, Nus Tenggara Barat, Nusa Tenggara Timur, Papua Barat, Sumatera Barat, Sulawesi Tenggara, Sumatera Utara, Yogyakarta. Varian $\delta 2.x$ menyebar di 21 provinsi antara lain: Aceh, Bali, Bangka Belitung, Banten, Jawa Barat, Jakarta, Kalimantan Barat, Kalimantan Timur, Kalimantan Selatan, Kalimantan Utara, Maluku, Nusa Tenggara Barat, Papua, Papua Barat, Riau, Sulawesi Utara, Sumatera Barat, Sulawesi Tenggara, Sulawesi Tengah, Sumatera Utara, Yogyakarta (Gambar 5).

3.5 Perbandingan Struktur Protein Spike

Hasil modeling protein *Spike* dari varian Wuhan-Hu-1, Delta, dan 5 varian dominan Indonesia menunjukkan bahwa varian B.1.466.2.B menunjukkan perbedaan struktur dengan varian Delta dan Wuhan-hu-1. Varian $\delta 1L.Xd$, varian $\delta 1L.x$, varian $\delta 2.Xd$, varian $\delta 2.x$ lebih mirip dengan varian Delta daripada dengan varian Wuhan-Hu-1. Perbedaan kelima varian dominan dengan Wuhan-Hu-1 terutama ditemukan pada region *N-Terminal Domain* (NTD) (Gambar 6A; Panah biru), *Receptor Binding Domain* (RBD) (Gambar 6A; panah merah), *Heptapeptide Repeat 1* (HR1) dan *Central Helix* (Gambar 6A; panah hijau), dan *Connector Domain* (Gambar 6A; panah kuning). Perbedaan varian B.1.466.2.B dengan varian Delta ditemukan pada region NTD (Gambar 6A; Panah biru), RBD (Gambar 6A; panah merah), HR1 (Gambar 6A; panah hijau).

Hasil *alignment* protein *Spike* varian Delta dan kelima varian dominan dengan Wuhan-Hu-1 membuktikan bahwa varian Delta tidak homolog dengan Wuhan-Hu-1 begitujuga dengan kelima varian dominan. Kelima varian menunjukkan perubahan konformasi pada semua domainnya. Varian B.1.466.2.B memiliki perbedaan konformasi yang besar pada bagian RBD dibandingkan dengan Wuhan- Hu-1, sedangkan pada bagian NTD, HR1, *Central Helix* perbedaan konformasinya tidak sebesar pada bagian RBD. Konformasi *a-helix* dari *Connector Domain* varian B.1.466.2.B lebih panjang dari Wuhan- Hu-1. Keempat varian dominan lainnya memiliki perbedaan konformasi yang besar pada bagian RBD dan NTD dibandingkan dengan Wuhan-Hu-1, sedangkan pada bagian HR1, *Central Helix*, dan *Connector Domain* perbedaan konformasinya tidak sebesar pada bagian RBD dan NTD (Gambar 6B).

Hasil *alignment* protein *Spike* kelima varian dominan dengan varian Delta diketahui bahwa varian $\delta 1L.Xd$, $\delta 1L.x$, $\delta 2.Xd$, $\delta 2.x$ memiliki struktur protein *Spike* yang homolog dengan varian Delta, sedangkan varian B.1.466.2.B tidak homolog terhadap varian Delta. Varian B.1.466.2.B memiliki perbedaan yang besar pada bagian RBD dibandingkan dengan varian Delta, sedangkan pada bagian HR 1, *Central Helix*, dan *Connector Domain* perbedaan konformasinya tidak sebesar bagian RBD. Pada bagian NTD varian B.1.466.2.B konformasi *a-helix* dan *b-sheet* tidak memiliki perbedaan yang besar, namun struktur *coil-*nya memiliki perbedaan yang besar dibandingkan dengan varian Delta (Gambar 6C).

3.6 Hasil Molecular Docking Kelima Varian Dominan dengan ACE 2

Analisis interaksi RBD lima varian dominan dengan reseptor ACE2 dilakukan untuk mengetahui *binding affinity* antara RBD kelima varian dominan dengan reseptor ACE2. Hasil analisis varian B.1.466.2.B menunjukkan adanya 15 ikatan polar antara residu dari RBD dengan reseptor ACE2 dengan skor *docking* sebesar -292,83 dan skor *ligand rmsd* (Å) sebesar 1,22. Sebanyak 13 residu dari RBD varian B.1.466.2.B ini berikatan dengan 15 residu reseptor ACE2. Ikatan tersebut secara berturut meliputi, N169 dan Y92 dengan jarak 2.4 Å, G158 dan E32 dengan jarak 3.2 Å, Y171 dan T36 dengan jarak 2.7 Å, Q175 dan K40 dengan jarak 2.7 Å, K99 dan D39 dengan jarak 2.4 Å, Y135 dan H43 dengan 3.2 Å, Y131 dan Q51 dengan jarak 2.4 Å, G178 dan K362 dengan jarak 2.6 Å, Y187 dan A395 dengan jarak 3.4 Å, N183 dan Y50 dengan jarak 2.8 Å, G184 dan K362 dengan jarak 3.1 Å, T182 dan N339 dengan jarak 3.2 Å, T182 dan N339 dengan jarak 2.3 Å, T182 dan D364 dengan jarak 2.5 Å, T182 dan R366 dengan jarak 2.9 Å (Gambar 7).

Identifikasi interaksi reseptor ACE2 dan RBD dari varian Delta, $\delta 1L.Xd$, $\delta 1L.x$, $\delta 2.Xd$, $\delta 2.x$ menunjukkan adanya 13 ikatan polar dengan skor *docking* sebesar -265,52 dan skor *ligand rmsd* (Å) sebesar 0,45 (Gambar 7). Sebanyak 11 residu RBD dari keempat varian tersebut berikatan dengan 9 residu reseptor ACE2. Ikatan tersebut secara berturut meliputi, Y171 dan T36 dengan jarak 3.4 Å, N169 dan Q33 dengan jarak 2.5 Å, K99 dan D39 memiliki 2 ikatan polar dengan jarak

2.4 Å dan 2.8 Å pada cabang residu yang berbeda, S176 dan H43 dengan jarak 2.5 Å, G178 dan D47 dengan jarak 2.9 Å, G178 dan K362 dengan jarak 2.2 Å, G184 dan K362 dengan jarak 3.5 Å, T182 dan Y50 dengan jarak 2.3 Å, N183 dan Y50 dengan jarak 2.8 Å, Q180 dan Q51 dengan jarak 2.9 Å, Y131 dan Q51 dengan jarak 3.3 Å, G128 dan Q51 dengan jarak 2.6 Å (Gambar 7).

4. Pembahasan

3.7.1 Distribusi Mutasi, Varian, dan Kasus Protein Spike SARS-CoV-2

Pada gelombang ke-2 kasus COVID-19 di Indonesia (Maret 2021- Agustus 2021) ditemukan lebih banyak kasus mutasi daripada gelombang pertama. Dengan jumlah situs mutasi 2,2 kali lipat lebih banyak daripada jumlah situs mutasi yang ditemukan pada gelombang pertama (Maret 2020 sampai Februari 2021) (Andreanto *et al.*, 2021). Hal ini menunjukkan laju mutasi tinggi virus SARS-CoV-2 yang merupakan karakteristik utama virus dengan genom RNA (Eigen, 2002; Lauring & Hodcroft, 2021). Laju mutasi yang tinggi tersebut membuat SARS-CoV-2 dapat beradaptasi dengan cepat terhadap perubahan lingkungan (Peck & Lauring, 2018; Sanjuán & Domingo-Calap, 2016; Tosta, 2022) dan menyebar luas di Indonesia.

Domain yang memiliki situs mutasi terbanyak di dalam sampel adalah NTD dengan 106 situs mutasi, kemudian domain RBD dengan 44 situs mutasi. Di dalam domain NTD terdapat 36 residu yang menjadi target interaksi antibody secara langsung diantaranya adalah residu Y144, K147, R246 yang telah diketahui mutasinya diduga berhubungan dengan kemampuan virus menghindari sistem imun tubuh (Thakur *et al.*, 2022; Zhou *et al.*, 2022). *Variant of Concern* memiliki mutasi dibagian NTD seperti T19R, L18F, G142D, R246I yang berperan dalam kemampuan virus menghindari sistem imun tubuh. Mutasi T19R, L18F, G142D, R246I diduga menjadi penyebab lonjakan kasus COVID-19 di Indonesia pada gelombang ke-2. Mutasi yang banyak ditemui di bagian RBD seperti N439K, E484K berhubungan dengan kemampuan transmisibilitas yang tinggi. Selain itu, terdapat mutasi L452R dan T478K pada varian Delta memiliki kemampuan meningkatkan afinitas ikatan antara RBD dengan reseptor ACE2, kemampuan menghindar dari sistem imun, peningkatan infeksi dan patogenisitas virus (Shen *et al.*, 2021; Tchesnokova *et al.*, 2021; Thakur *et al.*, 2022; Woo *et al.*, 2021).

Situs-situs mutasi yang ditemukan pada kasus Covid-19 di Indonesia gelombang ke-2 pada domain NTD seperti T19R, L18F, G142D, Y144H, K147N, R246I, dan mutasi pada domain RBD seperti N439K, E484K, T478K, L452R berperan dalam tingginya lonjakan kasus COVID-19 yang terjadi pada kurun waktu Maret 2021 sampai dengan Agustus 2021. Total situs mutasi lebih banyak dari situs mutasi yang ditemukan di penelitian sebelumnya dapat menjadi penyebab peningkatan terbentuknya varian baru.

Situs mutasi D614G, P681R/H, L452R/M, T478K, T19R, D950N/Y mendominasi mutasi yang terjadi pada kasus ini. Dibandingkan dengan penelitian sebelumnya (Andreanto *et al.*, 2021), mutasi D614G tetap mendominasi kasus di Indonesia kemudian diikuti dengan mutasi P681R/H. Selain itu, terdapat beberapa mutasi baru yang mendominasi kasus gelombang ke-2 ini namun tidak mendominasi atau bahkan tidak ditemukan pada gelombang pertama (Andreanto *et al.*, 2021) yaitu mutasi T19R, L452R, T478K, dan D950N. Mutasi - mutasi tersebut juga menjadi karakteristik dari mutasi protein Spike varian Delta dan diduga menjadi salah satu penyebab lonjakan pada gelombang ke-2 di Indonesia. Banyaknya mutasi yang tidak ditemukan pada gelombang pertama diduga kuat sebagai dampak dari tingginya laju mutasi yang dimiliki SARS-CoV-2 sebagai virus RNA (Lauring & Hodcroft, 2021; Tosta, 2022).

Pada gelombang ke-2 COVID-19 di Indonesia ditemukan varian sebanyak 4 kali lipat daripada yang ditemukan di gelombang pertama (Andreanto *et al.*, 2021). Varian yang paling mendominasi selama kasus gelombang ke-2 di Indonesia adalah varian B.1.466.2.B, seperti dilaporkan oleh Zhu *et al.* (2022). Varian B.1.466.2.B merupakan antibody dari B.1.466.2, varian ini masih dominan hingga bulan Agustus 2021. Empat varian domain berikutnya yang memberi andil pada lebih dari 100 kasus total adalah *sub-lineage* dari varian Delta yaitu varian δ 1L.x, δ 1L.Xd, δ 2.x, dan δ 2.Xd (Yang, 2021). Dari penelitian ini ditemukan empat varian tersebut terdapat delesi pada asam amino R158, diduga mutasi ini bersifat lokal Indonesia karena tidak ada yang

melaporkan sehingga varian tersebut adalah varian lokal.

Varian B.1.466.2.B mendominasi kasus di Indonesia karena adanya mutasi N439K yang dapat meningkatkan afinitas ikatan antara *Spike* dan reseptor ACE2 dan kebal terhadap beberapa antibodi juga dapat menghindari sistem imunitas tubuh (Thomson *et al.*, 2021). Selain mutasi N439K, terdapat mutasi D614G yang mendominasi kasus sejak gelombang pertama sampai gelombang ke-2, mutasi D614G menyebabkan peningkatan densitas/kepadatan protein *Spike* pada permukaan virus, sehingga meningkatkan kemampuan infeksi virus (Thakur *et al.*, 2022; Zhang *et al.*, 2020). Mutasi dengan jumlah kasus terbanyak kedua adalah P681R. Situs mutasi tersebut terletak pada bagian *furin cleavage*. Mutasi ini menyebabkan pembelahan subunit 1 dan subunit 2 protein *Spike* lebih cepat sehingga laju fusi protein *Spike* dengan membran sel menjadi lebih cepat, dan hal ini berakibat pada peningkatan infeksi virus (Liu *et al.*, 2022; Peacock *et al.*, 2021). Ditinjau dari kemampuan ketiga mutasi tersebut dalam meningkatkan infeksi virus dan juga menghindari sistem imun tubuh manusia, bisa dimengerti bahwa varian B.1.466.2.B menjadi penyebab utama lonjakan kasus gelombang ke-2 (pertengahan tahun 2021).

Keempat varian lainnya yaitu varian $\delta 1L.x$, $\delta 1L.Xd$, $\delta 2.x$, $\delta 2.Xd$ memiliki semua situs mutasi varian Delta kecuali mutasi R158G, karena keempat varian tersebut mengalami delesi pada asam amino R158. Delesi pada asam amino R158 membantu virus menghindari respon antibodi (Singh *et al.*, 2022; Zhang *et al.*, 2021). Pada keempat varian ini juga terdapat beberapa mutasi tambahan yaitu G142D, A222V, dan V1264L. Mutasi G142D berada di bagian NTD yang berperan dalam penghindaran respon antibodi tubuh (Singh *et al.*, 2022; Zhang *et al.*, 2021). Mutasi V1264L memberi gugus asam pada motif di-leucine di *cytoplasmic tail* protein *Spike*-nya yang dapat mempengaruhi antibodi membran virus ke dalam dan keluar sel inang (Yang, 2021). Sementara itu, A222V dilaporkan tidak berpengaruh terhadap antigenisitas virus dan juga tidak menyebabkan peningkatan reproduksi virus di dalam tubuh (Hodcroft *et al.*, 2020). Berdasarkan penjelasan di atas, delesi R158 dan mutasi G142D diduga dapat menyebabkan peningkatan infeksi virus melalui kemampuan menghindari respon antibodi tubuh, sehingga meningkatkan kasus infeksi kembali SARS-CoV-2.

Kelima varian tersebut beredar hampir diseluruh provinsi di Indonesia kecuali di provinsi Bengkulu dan Gorontalo. Berdasarkan penyebarannya, varian $\delta 1L.Xd$ dan $\delta 1L.x$ memiliki penyebaran yang lebih luas daripada varian B.1.466.2.B. Penyebab luasnya penyebaran varian $\delta 1L.Xd$ dan $\delta 1L.x$ diduga karena varian tersebut merupakan turunan dari varian Delta, yang telah dilaporkan mampu menyebar dengan sangat cepat di seluruh dunia (Zhan *et al.*, 2022; Zhu *et al.*, 2022). Didalam penelitian ini tidak ditemukan varian Delta *wild*-type melainkan varian-varian turunan dari varian Delta dengan mutasi-mutasi yang bervariasi, seperti keempat varian di atas yang dianggap sebagai varian lokal. Selain itu, varian B.1.466.2.B mengandung mutasi P681R yang merupakan salah satu karakteristik varian Delta.

3.7.2 Perubahan Protein *Spike* & Dominasi Varian

Pemodelan struktur protein *Spike* kelima varian dominan menunjukkan bahwa varian B.1.466.2.B memiliki perbedaan dengan protein *Spike* varian Wuhan, Delta, $\delta 1L.Xd$, $\delta 1L.x$, $\delta 2.Xd$, dan $\delta 2.x$. Perbedaan dari struktur protein *Spike* varian B.1.466.2.B dengan struktur varian delta kemungkinan disebabkan oleh kombinasi mutasi N439K yang berada di bagian RBD, mutasi D614G dibagian Subdomain 1/Subdomain 2, dan P681R yang terletak di bagian subunit 2. Ketiga mutasi tersebut diduga menyebabkan perubahan konformasi yang berbeda jauh jika dibandingkan dengan protein *Spike* Wuhan, Delta, dan keempat varian dominan lainnya. Konformasi yang berubah ini meningkatkan *docking score* antara RBD B.1.466.2.B dengan ACE 2 sebesar -292,83. *Docking score* varian B.1.466.2.B lebih besar daripada varian Delta dan *sub-lineage*-nya yang ditemukan di penelitian ini dengan skor sebesar -265,51. Hal tersebut menunjukkan kemampuan ikatan B.1.466.2.B terhadap ACE 2 yang lebih kuat dan lebih stabil. Dari penjelasan tersebut dapat diketahui bagaimana varian B.1.466.2.B dapat mendominasi kasus gelombang ke-2 COVID-19 di Indonesia.

Live and Applied Science, Volume 1

Sedangkan keempat varian dominan yaitu varian $\delta 1L.Xd$, varian $\delta 1L.x$, varian $\delta 2.Xd$, varian $\delta 2.x$ memiliki perbedaan struktur dengan protein *Spike* Wuhan namun strukturnya homolog dengan protein *Spike* varian Delta, sehingga dapat disimpulkan bahwa keempat varian tersebut merupakan turunan atau varian dari Delta. Walaupun pada keempat varian tersebut terdapat beberapa mutasi yang tidak dimiliki Delta *wild type*, permodelan protein *Spike* yang telah dilakukan menunjukkan keempat varian tersebut homolog dengan protein *Spike* varian Delta.

Varian B.1.466.2.B telah teridentifikasi mulai dari 6 Agustus 2020 sampai 2 Agustus 2021 dengan jumlah 1141 sampel (Zhu *et al.*, 2022). Pada penelitian ini, varian B.1.466.2.B teridentifikasi mulai dari 28 Februari 2021 sampai 2 Agustus 2021 (5 bulan lebih 2 hari) dengan jumlah 716 sampel, maka dapat dipahami bahwa pada rentang waktu 6 Agustus sampai 27 Februari 2021 (6 bulan lebih 21 hari) jumlah varian B.1.466.2 sebanyak 425 sampel. Dari perbandingan di atas varian B.1.466.2.B pada awal sampai pertengahan tahun 2021 (28 Februari 2021 – 2 Agustus 2021) memiliki jumlah yang lebih banyak daripada saat akhir tahun 2020 sampai awal tahun 2021 (6 Agustus 2020 – 27 Februari 2021). Varian B.1.466.2.B ternyata sudah mendominasi mulai dari bulan Maret 2021 sampai Mei 2021, dan setelah bulan Mei 2021 jumlah kasus varian B.1.466.2.B mulai menurun (Zhu *et al.*, 2022). Dalam kurun waktu tersebut varian-varian temuan dari varian Delta ikut andil dalam lonjakan kasus, varian Delta dilaporkan mengalami peningkatan jumlah kasus secara signifikan yang dimulai dari bulan Mei 2021 (Yang, 2021; Zhu *et al.*, 2022). Sehingga dapat dipahami bahwa bukan hanya varian B.1.466.2.B yang ditemukan pada penelitian ini yang menyebabkan lonjakan kasus COVID-19 gelombang ke-2, namun juga karena varian turunan darivarian Delta yaitu varian $\delta 1L.Xd$, varian $\delta 1L.x$, varian $\delta 2.Xd$, varian $\delta 2.x$.

Varian dari luar negeri diduga beradaptasi dan terus bermutasi, sehingga memunculkan varian baru yang kemudian menyebar luas di Indonesia. Selain itu, kemampuan virus yang tidak berhenti bermutasi selama virus tersebut dapat menginfeksi manusia juga perlu diwaspadai karena dapat mendukung perilaku adaptif virus. Perilaku adaptif dan kemampuan untuk terus bermutasi dari SARS-CoV-2 ini menjadi kekhawatiran bagi masyarakat peneliti dan medis. Setelah bulan Agustus 2021, kasus COVID-19 mulai menurun karena sudah banyak masyarakat yang menerima vaksinasi dan banyak masyarakat yang telah memiliki antibodi karena sebelumnya telah terinfeksi SARS-CoV-2. Diduga varian dominan tersebut telah tereliminasi oleh ntibody yang terbentuk sebagai hasil vaksinasi atau infeksi (Jamie *et al.*, 2021; Pérez-Then *et al.*, 2022).

Dengan mengetahui perilaku virus SARS-CoV-2, pemerintah dan peneliti perlu melakukan ntibody untuk melaksanakan kajian dan pengembangan mitigasi wabah kedepannya. Kajian-kajian ntibod tersebut termasuk pengembangan vaksin dan ntibody yang mampu mengatasi varian-varian baru yang mungkin berkembang. Setelah terbentuknya prosedur mitigasi wabah yang dinilai efektif, maka pemerintah dan masyarakat diharapkan melaksanakan prosedur tersebut secara ketat agar dapat mengurangi resiko yang tidak diinginkan dan munculnya varian baru. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi rujukan untuk pengawasan molekuler mutasi virus SARS-CoV-2. Selain itu, data yang diperoleh dapat menjadi tambahan dari temuan sebelumnya. Penelitian lebih lanjut untuk mengetahui kondisi mutasi dan varian setelah gelombang ke-2 terjadi dan pengaruhnya terhadap perkembangan kasus COVID-19 di Indonesia masih perlu dilakukan, untuk memahami lebih baik karakter SARS-CoV-2 dan memprediksi perkembangan SARS-CoV-2 di masa depan.

Dari temuan-temuan varian SARS-CoV-2 yang baru, tidak menutup kemungkinan varian yang sekarang tersebar di Indonesia juga akan berkembang dan memunculkan varian baru. Varian baru SARS-CoV-2 dapat terbentuk saat virus melakukan reproduksi di dalam sel inangnya, untuk menghindari SARS-CoV-2 membentuk varian baru maka reproduksi virus perlu untuk dihentikan. Reproduksi virus dapat terhenti apabila virus SARS-CoV-2 tidak menginfeksi inangnya yaitu manusia, maka dari itu manusia harus berusaha menjaga diri agar tidak tertular oleh virus SARS-CoV-2. Dalam rangka menjaga diri agar tidak tertular virus tersebut, prosedur kesehatan wajib untuk diberlakukan dengan maksimal dan dijaga dengan ketat agar kemungkinan terbentuknya

varian baru yang lebih berbahaya dapat diminimalisir sekecil mungkin. Prosedur kesehatan sendiri telah dirancang dan diinformasikan ke seluruh rakyat Indonesia oleh pemerintah, sehingga seluruh masyarakat Indonesia wajib mematuhi dan melaksanakan prosedur kesehatan dengan sebaik-baiknya .

5. Kesimpulan

Pada kasus gelombang ke-2 COVID-19 di Indonesia, ditemukan lebih banyak mutasi dan varian daripada gelombang pertama. Varian B.1.466.2.B dan 4 varian turunan dari varian Delta yaitu $\delta 1L.Xd$, $\delta 1L.x$, $\delta 2.Xd$, $\delta 2.x$ diketahui menjadi penyebab tingginya lonjakan kasus gelombang ke-2 COVID-19 di Indonesia. Dalam rangka menghindari perkembangan varian baru dari SARS-CoV-2, maka prosedur kesehatan harus tetap dilaksanakan dengan baik.

Daftar Rujukan

- [1] De Vaus, D. A. (2014). *Surveys in social research*. Sydney, Australia: Allen & Unwin.
- [2] McKenzie, H., Boughton, M., Hayes, L., & Forsyth, S. (2008). Explaining the complexities and value of nursing practice and knowledge. In I. Morley & M. Crouch (Eds.), *Knowledge as value: Illumination through critical prisms* (pp. 209-224). Amsterdam, Netherlands: Rodopi.
- [3] Scheinin, P. (2009). Using student assessment to improve teaching and educational policy. In M. O'Keefe, E. Webb, & K. Hoad (Eds.), *Assessment and student learning: Collecting, interpreting and using data to inform teaching* (pp. 12-14). Melbourne, Australia: Australian Council for Educational Research.
- [4] Wulandari, D., Utomo, S. H., Narmaditya, B. S., & Kamaludin, M. (2019). Nexus between Inflation and Unemployment: Evidence from Indonesia. *The Journal of Asian Finance, Economics and Business (JAFEB)*, 6(2), 269-275.
- [5] Yusoff, M., Rahman, S. A., Mutalib, S., & Mohammed, A. (2006). Diagnosing Application Development for Skin Disease Using Backpropagation Neural Network Technique. *Journal of Information Technology*, 18(1), 152-159.
- [6] Andreanto, N. G., Novitasari, D., Pangesti, D. W., Khusufi, R. L., Sabatia, A., Oktafian, I. N., Sa'adah, N. A. M., Krisdayana, R., Iswara, S. K. H., & Listyorini, D. (2021). A Year of COVID-19 Outbreak in Indonesia #2: Variant Development Based on Spike (S) Mutations. (In-press)
- [7] Baj, A., Novazzi, F., Drago Ferrante, F., Genoni, A., Tettamanzi, E., Catanoso, G., dalla Gasperina, D., Dentali, F., Focosi, D., & Maggi, F. (2021). Spike protein evolution in the SARS-CoV-2 Delta variant of concern: a case series from Northern Lombardy. *Emerging Microbes & Infections*, 10(1), 2010-2015. <https://doi.org/10.1080/22221751.2021.1994356>
- [8] Bertram, S., Dijkman, R., Habjan, M., Heurich, A., Gierer, S., Glowacka, I., Welsch, K., Winkler, M., Schneider, H., Hofmann-Winkler, H., Thiel, V., & Pohlmann, S. (2013). TMPRSS2 Activates the Human Coronavirus 229E for Cathepsin-Independent Host Cell Entry and Is Expressed in Viral Target Cells in the Respiratory Epithelium. *Journal of Virology*, 87(11), 6150-6160. <https://doi.org/10.1128/jvi.03372-12>
- [9] Burhan, E., & Rachmadi, R. A. (2022). Omicron surge and the future of COVID-19 vaccinations. *Medical Journal of Indonesia*, 31(1), 80-84. <https://doi.org/10.13181/mji.bc.226066>
- [10] Centers for Disease Control and Prevention (CDC). (2022). SARS-CoV-2 Variant Classifications and Definitions. Centers for Disease Control and Prevention. Available online: https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/variants/variant-info.html?CDC_AA_refVal=https%3A%2F%2Fwww.cdc.gov%2Fcoronavirus%2F2019-ncov%2Fcases-updates%2Fvariant-surveillance%2Fvariant-info.html#print. (Online, diakses 17 Juni 2022)
- [11] Eigen M. (2002). Error catastrophe and antiviral strategy. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99(21), 13374-13376. <https://doi.org/10.1073/pnas.212514799>
- [12] Global Virus network. 2021. Delta (B.1.617.2). GVN. Available online: <https://gvn.org/covid-19/delta-b-1-617-2/> (Online, diakses pada tanggal 22 Juni 2022)
- [13] Gohlke, H.; Hendlich, M.; Klebe, G. 2000. Knowledge-based scoring function to predict protein-ligand interactions. *J. Mol. Biol.* 295, 337-356
- [14] Gunadi, Hakim, M. S., Wibawa, H., Marcellus, Setiawaty, V., Slamet, Trisnawati, I., Supriyati, E., el Khair, R., Iskandar, K., Afiahayati, Siswanto, Irene, Anggorowati, N., Daniwijaya, E. W., Nugrahaningsih, D. A. A., Puspawati, Y., Puspitarani,
- [15] D. A., Tania, I., Wibawa, T. (2021). Is the Infection of the SARS-CoV-2 Delta Variant Associated With the Outcomes of COVID-19 Patients?. *Frontiers in Medicine*, 8. <https://doi.org/10.3389/fmed.2021.780611>
- [16] Harrison S. C. (2015). Viral membrane fusion. *Virology*, 479-480, 498-507. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2015.03.043>
- [17] Hodcroft, E. B., Zuber, M., Nadeau, S., Vaughan, T. G., Crawford, K. H. D., Althaus, C. L., Reichmuth, M. L., Bowen, J. E., Walls, A. C., Corti, D., Bloom, J. D., Veessler, D., Mateo, D., Hernando, A., Comas, I., González Candelas, F., Stadler, T., & Neher, R.
- [18] A. (2020). Emergence and spread of a SARS-CoV-2 variant through Europe in the summer of 2020. *National Library of Medicine*. <https://doi.org/10.1101/2020.10.25.20219063>
- [19] Hoffmann, M., Kleine-Weber, H., Schroeder, S., Krüger, N., Herrler, T., Erichsen, S., Schiergens, T. S., Herrler, G., Wu, N. H., Nitsche, A., Müller, M. A., Drosten, C., & Pöhlmann, S. (2020). SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and

Live and Applied Science, Volume 1

- TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor. *Cell*, 181(2), 271– 280.e8. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.02.052>
- [22] Huang, Y., Yang, C., Xu, X. F., Xu, W., & Liu, S. W. (2020). Structural and functional properties of SARS-CoV-2 Spike protein: potential antiviral drug development for COVID-19. *Acta Pharmacologica Sinica*, 41(9), 1141–1149. <https://doi.org/10.1038/s41401-020-0485-4>
- [23] Jamie Lopez Bernal, F.F.P.H., Ph.D., Nick Andrews, Ph.D., Charlotte Gower, D.Phil., Eileen Gallagher, Ph.D., Ruth Simmons, Ph.D., Simon Thelwall, Ph.D., Julia Stowe, Ph.D., Elise Tessier, M.Sc., Natalie Groves, M.Sc., Gavin Dabrera, M.B., B.S., F.F.P.H., Richard Myers, Ph.D., Colin N.J. Campbell, M.P.H., F.F.P.H., et al. (2021). Effectiveness of Covid-19 Vaccines against the B.1.617.2 (Delta) Variant. *New England Journal of Medicine*, 385(25), e92. <https://doi.org/10.1056/nejmc2113090>
- [24] JHU CSSE. (2021). COVID-19 Data Repository by the Center for Systems Science and Engineering (CSSE) at John Hopkins University. Available online: <https://github.com/CSSEGISandData/COVID-19> (Online, diakses pada tanggal 9 September 2021)
- [25] Kadir, A., Sunarno, S. D. A. M. (2022). A Systematic Review of Omicron Outbreak in Indonesia: A Case Record and How the Country is Weathering the New Variant of COVID-19. *European Journal of Molecular & Clinical Medicine*, 9(1), 364- 373.
- [26] Kawase, M., Kataoka, M., Shirato, K., & Matsuyama, S. (2019). Biochemical Analysis of Coronavirus Spike Glycoprotein Conformational Intermediates during Membrane Fusion. *Journal of Virology*, 93(19). <https://doi.org/10.1128/jvi.00785-19>
- [27] Kementerian Kesehatan. (2021). Seputar Pelaksanaan Vaksinasi COVID-19. Available online: <https://vaksin.kemkes.go.id/#/vaccines> (Online, diakses pada tanggal 9 September 2021).
- [28] Kementerian Kesehatan. (2021). Situasi Terkini Perkembangan Coronavirus Disease (COVID-19) 9 September 2021. Available online: <https://infeksiemerging.kemkes.go.id/situasi-infeksi-emerging/situasi-terkini-perkembangan-coronavirus-disease-covid-19-9-september-2021> (Online, diakses pada tanggal 9 September 2021)
- [29] perkembangan-coronavirus-disease-covid-19-9-september-2021 (Online, diakses pada tanggal 9 September 2021)
- [30] Kementerian Kesehatan. (2022). Situasi Terkini Perkembangan Coronavirus Disease (COVID-19) 3 Maret 2022. Available online: <https://infeksiemerging.kemkes.go.id/situasi-infeksi-emerging/situasi-terkini-perkembangan-coronavirus-disease-covid-19-3-maret-2022> (Online, diakses pada tanggal 3 Maret 2022)
- [31] Korb, O., Stutzle, T., & Exner, T. E. (2009). Empirical Scoring Functions for Advanced Protein-Ligand Docking with PLANTS. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 49(1), 84–96. <https://doi.org/10.1021/ci800298z>
- [32] Lan, J., Ge, J., Yu, J., Shan, S., Zhou, H., Fan, S., Zhang, Q., Shi, X., Wang, Q., Zhang, L., & Wang, X. (2020). Structure of the SARS-CoV-2 Spike receptor-binding domain bound to the ACE2 receptor. *Nature*, 581(7807), 215–220. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2180-5>
- [33] Lauring, A. S., & Hodcroft, E. B. (2021). Genetic Variants of SARS-CoV-2—What Do They Mean?. *JAMA*, 325(6), 529. <https://doi.org/10.1001/jama.2020.27124>
- [34] Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia. 2021. Lonjakan Kasus Covid-19 di Indonesia Didominasi oleh Varian Delta. Available online: <https://lipi.go.id/bertita.%E2%80%8Blonjakan-kasus-covid-19-di-indonesia-didominasi-oleh-varian-delta/2246> (Online, diakses pada tanggal 17 Juni 2022)
- [35] Liu, Y., Liu, J., Johnson, B. A., Xia, H., Ku, Z., Schindewolf, C., Widen, S. G., An, Z., Weaver, S. C., Menachery, V. D., Xie, X., & Shi, P. Y. (2022). Delta Spike P681R mutation enhances SARS-CoV-2 fitness over Alpha variant. *Cell Reports*, 39(7), 110829. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2022.110829>
- [36] Mena-Ulecia, K., Tiznado, W., & Caballero, J. (2015). Study of the Differential Activity of Thrombin Inhibitors Using Docking, QSAR, Molecular Dynamics, and MM-GBSA. *PLOS ONE*, 10(11), e0142774. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0142774>
- [37] Mohsin, M., & Mahmud, S. (2022). Omicron SARS-CoV-2 variant of concern. *Medicine*, 101(19), e29165. <https://doi.org/10.1097/md.00000000000029165>
- [38] Our World in Data. (2021). Coronavirus (COVID-19) Vaccinations. Available online: https://ourworldindata.org/covid-vaccinations?country=OWID_WRL (Online, diakses pada tanggal 9 September 2021)
- [39] Peacock, T.P., Goldhill, D.H., Zhou, J. et al. The furin cleavage site in the SARS-CoV-2 Spike protein is required for transmission in ferrets. *Nat Microbiol* 6, 899–909 (2021). <https://doi.org/10.1038/s41564-021-00908-w>
- [40] Peck, K. M., & Lauring, A. S. (2018). Complexities of Viral Mutation Rates. *Journal of virology*, 92(14), e01031- 17. <https://doi.org/10.1128/JVI.01031-17>
- [41] Pérez-Then, E., Lucas, C., Monteiro, V. S., Miric, M., Brache, V., Cochon, L., Vogels, C. B. F., Malik, A. A., de la Cruz, E., Jorge, A., de Los Santos, M., Leon, P., Breban, M. I., Billig, K., Yildirim, I., Pearson, C., Downing, R., Gagnon, E., Muyombwe, A., . . .
- [42] Iwasaki, A. (2022). Neutralizing antibodies against the SARS-CoV-2 Delta and Omicron variants following heterologous CoronaVac plus BNT162b2 booster vaccination. *Nature Medicine*, 28(3), 481–485. <https://doi.org/10.1038/s41591-022-01705-6>
- [43] Ramírez, D., & Caballero, J. (2018). Is It Reliable to Take the Molecular Docking Top Scoring Position as the Best Solution without Considering Available Structural Data. *Molecules*, 23(5), 1038. <https://doi.org/10.3390/molecules23051038>
- [44] Sanjuán, R., & Domingo-Calap, P. (2016). Mechanisms of viral mutation. *Cellular and molecular life sciences: CMLS*, 73(23), 4433–4448. <https://doi.org/10.1007/s00018-016-2299-6>
- [45] Shah, M., Ahmad, B., Choi, S., & Woo, H. G. (2020). Mutations in the SARS-CoV-2 Spike RBD are responsible for

Live and Applied Science, Volume 1

- stronger ACE2 binding and poor anti-SARS-CoV mAbs cross-neutralization. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, 18, 3402–3414. <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2020.11.002>
- [47] Shang, J., Wan, Y., Luo, C., Ye, G., Geng, Q., Auerbach, A., & Li, F. (2020). Cell entry mechanisms of SARS-CoV-2. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 117(21), 11727–11734. <https://doi.org/10.1073/pnas.2003138117>
- [48] Shen L, Triche TJ, Bard JD, Biegel JA, Judkins AR, Gai X. (2021). Spike Protein NTD mutation G142D in SARS-CoV-2 Delta VOC lineages is associated with frequent back mutations, increased viral loads, and immune evasion. *MedRxiv*. <https://doi.org/10.1101/2021.09.12.21263475>
- [49] Singh, P., Sharma, K., Singh, P., Bhargava, A., Negi, S. S., Sharma, P., Bhise, M., Tripathi, M. K., Jindal, A., & Nagarkar, N. M. (2022). Genomic characterization unravelling the causative role of SARS-CoV-2 Delta variant of lineage B.1.617.2 in 2nd wave of COVID-19 pandemic in Chhattisgarh, India. *Microbial Pathogenesis*, 164, 105404. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2022.105404>
- [50] Tchesnokova, V., Kulasekara, H., Larson, L., Bowers, V., Rechkina, E., Kisiela, D., Sledneva, Y., Choudhury, D., Maslova, I., Deng, K., Kutumbaka, K., Geng, H., Fowler, C., Greene, D., Ralston, J., Samadpour, M., & Sokurenko, E. (2021). Acquisition of the L452R Mutation in the ACE2-Binding Interface of Spike Protein Triggers Recent Massive Expansion of SARS-CoV-2 Variants. *Journal of clinical microbiology*, 59(11), e0092121. <https://doi.org/10.1128/JCM.00921-2>
- [52] Tenda, E. D., Asaf, M. M., Pradipta, A., Kumaheri, M. A., & Susanto, A. P. (2021). The COVID-19 surge in Indonesia: what we learned and what to expect. *Breathe*, 17(4), 210146. <https://doi.org/10.1183/20734735.0146-2021>
- [53] Thakur, S., Sasi, S., Pillai, S. G., Nag, A., Shukla, D., Singhal, R., Phalke, S., & Velu, G. S. K. (2022). SARS-CoV-2 Mutations and Their Impact on Diagnostics, Therapeutics and Vaccines. *Frontiers in Medicine*, 9. <https://doi.org/10.3389/fmed.2022.815389>
- [54] Thomson, E. C., Rosen, L. E., Shepherd, J. G., Spreafico, R., da Silva Filipe, A., Wojcechowskyj, J. A., Davis, C., Piccoli, L., Pascall, D. J., Dillen, J., Lytras, S., Czudnochowski, N., Shah, R., Meury, M., Jesudason, N., de Marco, A., Li, K., Bassi, J., O'Toole, A., Snell, G. (2021). Circulating SARS-CoV-2 Spike N439K variants maintain fitness while evading antibody-mediated immunity. *Cell*, 184(5), 1171–1187.e20. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2021.01.037>
- [56] Tosta E. (2022). The adaptation of SARS-CoV-2 to humans. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 116, e210127. <https://doi.org/10.1590/0074-02760210127>
- [57] Wang, Q., Zhang, Y., Wu, L., Niu, S., Song, C., Zhang, Z., Lu, G., Qiao, C., Hu, Y., Yuen, K. Y., Wang, Q., Zhou, H., Yan, J., & Qi, J. (2020). Structural and Functional Basis of SARS-CoV-2 Entry by Using Human ACE2. *Cell*, 181(4), 894–904.e9. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.03.045>
- [58] Watanabe, Y., Allen, J. D., Wrapp, D., McLellan, J. S., & Crispin, M. (2020). Site-specific glycan analysis of the SARS-CoV-2 Spike. *Science*, 369(6501), 330–333. <https://doi.org/10.1126/science.abb9983>
- [60] Woo HG, Shah M. (2021). Omicron: a heavily mutated SARS-CoV-2 variant exhibits stronger binding to ACE2 and potentially escape approved COVID-19 therapeutic antibodies. *Front Immunol*. Doi: 10.3389/fimmu.2021.830527
- [61] Wrapp, D., Wang, N., Corbett, K. S., Goldsmith, J. A., Hsieh, C. L., Abiona, O., Graham, B. S., & McLellan, J. S. (2020). Cryo-EM structure of the 2019-nCoV Spike in the prefusion conformation. *Science*, 367(6483), 1260–1263. <https://doi.org/10.1126/science.abb2507>
- [62] Xia, S., Zhu, Y., Liu, M., Lan, Q., Xu, W., Wu, Y., Ying, T., Liu, S., Shi, Z., Jiang, S., & Lu, L. (2020). Fusion mechanism of 2019-nCoV and fusion inhibitors targeting HR1 domain in Spike protein. *Cellular & Molecular Immunology*, 17(7), 765–767. <https://doi.org/10.1038/s41423-020-0374-2>
- [63] Yan, R., Zhang, Y., Li, Y., Xia, L., Guo, Y., & Zhou, Q. (2020). Structural basis for the recognition of SARS-CoV-2 by full-length human ACE2. *Science*, 367(6485), 1444–1448. <https://doi.org/10.1126/science.abb2762>
- [64] Yang, X. J. (2021). Delta-1 variant of SARS-COV-2 acquires Spike V1264L and drives the pandemic in Indonesia, Singapore and Malaysia. *Research Square*. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-999390/v1>
- [65] Yang, X. J. (2021). Delta-1 variant of SARS-COV-2 acquires Spike V1264L and drives the pandemic in Indonesia, Singapore and Malaysia. PREPRINT (Version 1) available at Research Square [<https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-999390/v1>]
- [66] Yang, X. J. (2021). SARS-COV-2 δ variant drives the pandemic in India and Europe via two subvariants. *MedRxiv*. <https://doi.org/10.1101/2021.10.16.21265096>
- [67] Zhan, Y., Yin, H., & Yin, J. Y. (2022). B.1.617.2 (Delta) Variant of SARS-CoV-2: features, transmission and potential strategies. *International journal of biological sciences*, 18(5), 1844–1851. <https://doi.org/10.7150/ijbs.66881>
- [68] Zhang L, Jackson CB, Mou H, Ojha A, Peng H, Quinlan BD, et al. (2020). SARS-CoV-2 Spike-protein D614G mutation increases virion Spike density and infectivity. *Nat Commun*. 11:6013. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-19808-4>
- [69] Zhang, J., Xiao, T., Cai, Y., Lavine, C. L., Peng, H., Zhu, H., Anand, K., Tong, P., Gautam, A., Mayer, M. L., Walsh, R. M., Rits-
- [70] Volloch, S., Wesemann, D. R., Yang, W., Seaman, M. S., Lu, J., & Chen, B. (2021). Membrane fusion and immune evasion by the Spike protein of SARS-CoV-2 Delta variant. *Science*, 374(6573), 1353–1360. <https://doi.org/10.1126/science.abl9463>
- [71] Zhou, L., Wu, L., Peng, C., Yang, Y., Shi, Y., Gong, L., Xu, Z., & Zhu, W. (2022). Predicting Spike protein NTD mutations of SARS-CoV-2 causing immune evasion by molecular dynamics simulations. *Physical chemistry chemical physics* : PCCP, 24(5), 3410–3419. <https://doi.org/10.1039/d1cp05059a>

- [75] Zhu, M., Zeng, Q., Saputro, B. I. L., Chew, S. P., Chew, I., Frendy, H., Tan, J. W., & Li, L. (2022). Tracking the molecular evolution and transmission patterns of SARS-CoV-2 lineage B.1.466.2 in Indonesia based on genomic surveillance data. *Virology Journal*, 19(1). <https://doi.org/10.1186/s12985-022-01830-1>