

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pada akhir tahun 2019, dunia digemparkan dengan munculnya *Coronavirus disease 19* (COVID-19). Penyakit ini pertama kali ditemukan di Wuhan, Provinsi Hubei China bulan Desember 2019 dan disebabkan oleh *human severe acute respiratory syndrome coronavirus-2* (SARS-CoV-2) (Huang et al., 2020). Orang yang terinfeksi SARS-CoV-2 mengalami gejala seperti flu ringan hingga sedang seperti demam, batuk, diare, dan sesak napas bahkan kematian (Almehdi et al., 2021). Pada tanggal 11 Maret 2020 WHO menetapkan COVID-19 sebagai pandemi (Susilo et al., 2020). Hal ini dikarenakan penyebaran virus ini tergolong sangat cepat, terbukti pada tanggal 29 Maret 2020 telah terkonfirmasi 634.835 kasus dengan 33.106 di antaranya meninggal dunia. Sementara itu di Indonesia terkonfirmasi sebanyak 1.528 kasus positif dengan 136 kasus kematian. Oleh sebab itu, Indonesia dinyatakan sebagai salah satu negara dengan tingkat mortalitas tertinggi di Asia Tenggara yaitu sekitar 8,9% (Susilo et al., 2020).

SARS-CoV-2 adalah virion berbentuk bulat berdiameter 80–120 nm dengan +ssRNA berukuran 26–32 kb yang ditranslasikan menjadi protein struktural dan nonstruktural. Protein struktural SARS-CoV-2 tersusun atas *envelope* (E), nukleokapsid (N), *spike* (S), dan membran glikoprotein (M). Sementara itu, protein non struktural terdiri dari 3-*chymotrypsin*, papain, dan RNA-*dependent* RNA-*polymerase* (RDRP) (Huang et al., 2020). *Spike* protein berperan sebagai jalan masuknya SARS-CoV-2 ke dalam sel melalui reseptor *angiotensin converting enzyme 2* (ACE2) (Cosar et al., 2021). Proses pengikatan SARS-COV-2 ke ACE 2 melalui *receptor-binding domain* (RBD) yang diaktivasi oleh *human proteases* (Cosar et al., 2021). Ketika *spike* protein mengikat reseptor, *transmembrane protease serine 2* (TMPRSS2) yang terletak pada membran sel inang akan mempromosikan virus agar bisa masuk ke dalam sel dengan mengaktifkan *spike*

protein (Huang et al., 2020). Dalam proses ini protein S2 berperan penting pada proses pembelahan proteolitik yang akan memediasi terjadinya proses fusi membran.

SARS-CoV-2 menyebar melalui beberapa perantara yaitu dari manusia ke manusia, pasien asimtomatik, droplet, kontak langsung, kontak tidak langsung, aerosol, okuler, dan tinja-oral. Transmisi dari manusia ke manusia menjadi sumber utama penyebab penularan yang paling cepat (Susilo et al., 2020). Proses penyebaran COVID-19 terjadi sangat cepat hal ini dikarenakan adanya mutasi pada SARS-CoV-2, terutama pada *receptor binding domain* (RBD) (Cosar et al., 2021). Adanya mutasi menyebabkan munculnya berbagai varian dari SARS-CoV-2 yang berdampak pada kecepatan penyebaran dalam populasi, keparahan tingkat infeksi dan efektifitas vaksin (Dholariya et al., 2021).

Terdapat dua mutasi pada SARS-CoV-2 yang ditemukan di Surabaya, yaitu D614G dan Q677H. D614G merupakan mutasi yang terjadi pada asam amino 614 dari *spike* protein, di mana aspartat (GAC dan GAU) tergantikan oleh glisin (GGG, GGA, GGC dan GGU). Mutasi tersebut menjadi salah satu mutasi yang terdeteksi secara global, termasuk Asia Tenggara (Gunadi et al., 2020). SARS-CoV-2 yang mengandung G614 memiliki kekuatan infeksi jauh lebih tinggi daripada *wild-type* D614. Pasien COVID-19 yang terinfeksi SARS-CoV-2 mutan G614 memiliki *viral load* lebih tinggi dibandingkan pasien yang terinfeksi SARS-CoV-2 *wild-type* (Gunadi et al., 2020). Penelitian terbaru menunjukkan bahwa SARS-CoV-2 dengan varian G614 meningkatkan infektivitas dan penularan yang sangat tinggi dari pada *wild-type* (Gunadi et al., 2020). Di sisi lain, Q677H merupakan mutasi yang terjadi pada asam amino 677, dimana glutamin (CAA dan CAG) tergantikan oleh histidin (CAC dan CAU). Mutasi tersebut terjadi pada *spike* protein tepatnya pada daerah pembelahan protease sangat berdampak pada kestabilan protein *spike* (Zhou & Wang, 2021). Sehingga kedua mutasi ini sangat berperan penting terhadap pengikatannya dengan reseptor ACE 2.

Protein *spike* telah dijadikan dasar dalam pengembangan antigen dan juga berbagai kit deteksi SARS-CoV-2. Uji serologi dengan nukleokapsid atau *spike* telah banyak dikembangkan untuk mendeteksi adanya antibodi karena antigen ini

memiliki imunogenitas yang tinggi (Jagtap et al., 2021). Uji ELISA yang berbasis nukleokapsid memiliki spesifitas yang sangat rendah sehingga tidak bisa digunakan sebagai deteksi. Sementara itu menurut penelitian yang sudah dilakukan sebelumnya bahwa deteksi antibodi yang berbasis *spike* memiliki sensitivitas 86,2 % dan spesifitas sebesar 96,8 % (Jagtap et al., 2021). Dibandingkan dengan antigen yang berbasis RBD, S1, dan S2, protein *spike* memiliki hasil positif yang lebih baik untuk deteksi antibodi COVID-19 (Jagtap et al., 2021). Permasalahannya antigen tersebut belum bisa diproduksi di Indonesia dengan skala industri karena semua bahan yang dibutuhkan masih impor dari luar negeri.

Berdasarkan permasalahan di atas, akan dikembangkan protein *spike* SARS-CoV-2 rekombinan yang termutasi pada D614G dan Q677H sebagai kandidat vaksin. Selain itu juga sebagai dasar dalam pengembangan antigen berbasis *spike* mutan untuk deteksi *antibodi* pada masyarakat yang terinfeksi SARS-CoV-2. Penelitian ini menggunakan gen sintetik *spike* yang mengalami mutasi pada D614G dan Q677H dan terfusi *Glutathione S-transferase* (GST) pada vektor pGEX-4T-1 di *E. coli* BL21(DE3). Salah satu alasan pemilihan pGEX-4T-1 sebagai vektor karena sel inang yang digunakan adalah *E. coli*. Banyaknya protein eukariotik yang diekspresikan pada sel inang prokariotik akan membentuk suatu badan inklusi sehingga dengan adanya GST pada pGEX-4T-1 akan membantu dalam ekspresi protein rekombinan pada *E. coli* sebagai protein *soluble* (Borgi & Gargouri, 2008). *E. coli* dipilih sebagai sel inang karena kemampuannya dapat tumbuh dengan sangat cepat pada sumber karbon yang relatif murah, selain itu juga akumulasi biomassa yang cepat dan proses *scale up* yang mudah (Baneyx, 1999).

Pada penelitian ini dilakukan ekspresi protein *spike* mutan SARS-CoV-2 rekombinan pada *E. coli* BL21(DE3). Selanjutnya untuk mendapatkan kondisi optimum ekspresi dilakukan optimasi konsentrasi *isopropil- β -D-1-thiogalaktopiranosida* (IPTG), suhu dan juga waktu. Hasil dari optimasi ini akan sangat berguna dalam mengekspresikan protein *spike* mutan SARS-CoV-2 rekombinan, sehingga bisa diproduksi dalam jumlah yang besar. IPTG dipilih karena merupakan *inducer* dalam sistem ekspresi pGEX-4T-1 (Healthcare & Sciences, 1994).

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah protein *spike* mutan SARS-CoV-2 rekombinan dapat diekspresikan pada fraksi terlarut dengan menggunakan GST di *E. coli* BL21(DE3)?
2. Bagaimana kondisi optimum ekspresi protein *spike* mutan SARS-CoV-2 rekombinan yang terfusi dengan GST pada *E. coli* BL21(DE3)?

1.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mengekspresikan protein *spike* mutan SARS-CoV-2 rekombinan yang terfusi dengan GST pada *E. coli* BL21(DE3).
2. Menentukan konsentrasi IPTG optimum dalam ekspresi protein *spike* mutan SARS-CoV-2 rekombinan yang terfusi dengan GST pada *E. coli* BL21(DE3).

1.4 Manfaat Penelitian

1. Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat menjadi dasar dalam penelitian selanjutnya terkait dengan pengembangan kit deteksi antibodi maupun kandidat vaksin COVID-19.
2. Sebagai studi literatur untuk menambah wawasan peneliti dan juga pembaca dalam mengembangkan penelitian yang terkait.