

COVID-19: ANALISIS IN-SILICO STRUKTUR TERSIER NSP1 DAN NSP2 PADA SARS-COV-2

Suprianto^{1✉}, I Made Budiarsa¹

¹Program Studi Pendidikan Biologi Pendidikan MIPA Universitas Tadulako

ARTICLE INFO

Article history

Submitted : 2020-07-02

Revised : 2020-09-25

Accepted : 2020-10-14

Keywords:

COVID-19

SARS-CoV-2

Nsp1

Nsp2

In-silico

Kata Kunci:

COVID-19

SARS-CoV-2

Nsp1

Nsp2

In-silico

ABSTRACT

The spread of the COVID-19 pandemic has captured a lot of attention from the global community. This pandemic was caused by SARS-CoV-2 by producing nonstructural proteins (nsp1-16). This study aims to analyze the tertiary structure of nsp1 and nsp2 in SARS-CoV-2 in-silico. The target proteins nsp1 and nsp2 have access codes YP_009725297.1 and YP_009725298.1 obtained from NCBI. The amino acid composition of nsp1 and nsp2 is 19774.35 Daltons and 70507.81 Daltons, respectively. The nsp1 tertiary structure produces a model structure with a percentage of 64%, 19% disordered area, 42% alpha-helix, 13% beta strand, 92.17% model verification (passed), 74.0% favored region and 6.4% outliers area (stable). The nsp2 tertiary structure produced a model structure with a percentage of 9%, 17% disordered area, 36% alpha-helix, 27% beta strand, 64.29% model verification (failed), 76.0% favored region and 16.4% outliers area (unstable). The stability of nsp1 has very good potential compared to nsp2, the validation of the structure obtained can be the basis for studying the development of the vaccine design for the SARS-CoV-2 virus that causes COVID-19.

Penyebaran pandemi COVID-19 telah menyita banyak perhatian masyarakat global. Pandemi ini disebabkan oleh SARS-CoV-2 dengan memproduksi protein nonstruktural (nsp1-16). Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis struktur tersier nsp1 dan nsp2 pada SARS-CoV-2 secara in-silico. Protein target nsp1 dan nsp2 memiliki kode akses YP_009725297.1 dan YP_009725298.1 yang diperoleh dari NCBI. Komposisi asam amino nsp1 dan nsp2 masing-masing adalah 19774.35 Daltons dan 70507.81 Daltons. Struktur tersier nsp1 menghasilkan struktur model dengan persentase 64%, wilayah disordered 19%, alpha-helix 42%, beta strand 13%, verifikasi model 92.17% (lulus), 74.0% favoured region dan daerah outliers 6.4% (stabil). Struktur tersier nsp2 menghasilkan struktur model dengan persentase 9%, wilayah disordered 17%, alpha-helix 36%, beta strand 27%, verifikasi model 64.29% (gagal), 76.0% favoured region dan daerah outliers 16.4% (tidak stabil). Stabilitas nsp1 memiliki potensi yang sangat baik dibandingkan nsp2, validasi struktur yang diperoleh dapat menjadi dasar untuk mempelajari pengembangan desain vaksin virus SARS-CoV-2 penyebab COVID-19.

✉ Corresponding Author:

Suprianto

Program Studi Pendidikan Biologi Universitas Tadulako

Telp. 082193279390

Email: supriantoupick28@gmail.com

PENDAHULUAN

Corona virus disease 2019 (COVID-19) merupakan salah satu pandemi yang dapat menyerang sistem pernapasan. Sejak kemunculan COVID-19 di akhir tahun 2019 telah menyita banyak perhatian masyarakat global tentang bahaya dari virus corona. Virus ini pertama kali ditemukan di Wuhan (China) sebagai salah satu penyebab pneumonia yang sangat parah (Angeletti, *et al.*, 2020). Kasus COVID-19 menyebabkan banyak kematian akibat kurangnya pengetahuan dasar mengenai virus ini.

Sebelumnya, penyakit ini dinamakan 2019 novel coronavirus (2019-nCoV), kemudian WHO mengumumkan nama baru pada 11 Februari 2020 yaitu *Coronavirus Disease* (COVID-19) yang disebabkan oleh virus *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2* (SARS-CoV-2) (Guo, *et al.*, 2020; WHO, 2020). Penelitian sebelumnya telah mengungkapkan sekuens SARS-CoV-2 terhadap salah satu korban COVID-19 di Wuhan, China. Hasil sekuens menunjukkan terdapat beberapa protein nonstruktural (nsp1-

nsp16) yang berperan penting dalam penyebaran COVID-19 (Wu, *et al.*, 2020).

Protein nonstruktural satu (nsp1) merupakan protein yang berperan dalam menurunkan respon imun bawaan inang terhadap infeksi CoV. Protein ini telah menarik perhatian besar dalam studi kasus CoV sebagai faktor virulensi potensial dan target untuk pengembangan vaksin (Narayanan, *et al.*, 2015). SARS-CoV nsp1 adalah salah satu protein nonstruktural yang paling baik dari CoV, baik dalam hal fungsi biologis dan cara kerjanya. Menggunakan ekspresi gen sementara dalam sel mamalia, SARS-CoV nsp1 adalah CoV nsp1 pertama yang ditunjukkan untuk memblokir ekspresi gen reporter di bawah kendali promotor konstitutif (Kamitani, *et al.*, 2006). SARS-CoV nsp1 telah menjadi fokus dari banyak penelitian untuk mengungkapkan sifat dan fungsi biokimia protein tersebut secara detail (Narayanan, *et al.*, 2015).

Regulasi nsp2 hingga nsp16 berbeda dengan nsp1, didalamnya terkandung berbagai enzim dengan fungsi tertentu, seperti deubiquitination, protease, helicase, polimerase, exo- dan endonuclease, dan N7- dan 2' O-metiltransferase (V'kovski, *et al.*, 2019). Mutasi stabilisasi jatuh pada endosom yang terkait domain mirip protein dari protein nsp2 dapat menjelaskan kemampuan menular yang tinggi dari COVID-2019 (Angeletti, *et al.*, 2020).

Ketertarikan peneliti dalam menganalisis struktur tersier nsp1 dan nsp2 tidak lepas dari keunikan kedua protein tersebut dalam proses patogenesis. Keunikan nsp1 terletak pada perannya yang dapat mengekspresikan gen sementara dan mampu menurunkan respon imun (Kamitani, *et al.*, 2006), sedangkan keunikan nsp2 terdapat pada proses mutasi yang dapat menyebabkan COVID-19 lebih cepat menular dibandingkan SARS (Angeletti, *et al.*, 2020).

Penelitian sebelumnya berfokus pada pengembangan vaksin, karakterisasi molekuler dan menjelaskan peranan nsp1 dan nsp2 dalam patogenesis (Narayanan, *et al.*, 2015; Angeletti, *et al.*, 2020; Bal, *et al.*, 2020; Susilo, *et al.*, 2020; Yuliana, 2020), sedangkan penelitian ini berfokus pada sifat dan fungsi biokimia nsp1 dan nsp2 melalui kajian struktur tersier protein secara in-silico. Analisis in-silico pada penelitian menjadi pembeda dari studi sebelumnya karena data yang digunakan berupa

data sekunder dari *GenBank* untuk menganalisis sifat dan fungsi biokimia nsp1 dan nsp2. Teknik komputasi (in-silico) memiliki potensi yang besar untuk menganalisa dan memprediksi proses biokimia terutama untuk menentukan hubungan antara struktur dan fungsi biomolekul (Setiawan, *et al.*, 2016). Kajian dalam penelitian ini dapat dijadikan sebagai dasar dalam memahami stabilitas struktur tersier nsp1 dan nsp2 dalam pengembangan vaksin COVID-19.

METODE PENELITIAN

Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah analisis secara in-silico melalui metode komputasi.

Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Program Studi Pendidikan Biologi, Universitas Tadulako. Penelitian dilaksanakan pada bulan Januari – April 2020.

Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian berupa sekuens protein nsp1 dan nsp2 pada SARS-CoV-2 yang diperoleh dari *Genbank*.

Pengumpulan Data

Sequence protein nsp1 dan nsp2 pada SARS-CoV-2 didapatkan dari penelusuran *database* COVID-19 di *GenBank* melalui situs *National Center Biotechnology Information* (NCBI) dengan kode akses YP_009725297.1 dan YP_009725298.1 yang dapat diakses melalui laman <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>.

Pengolahan dan Analisis Data

Komposisi urutan asam amino dihitung menggunakan perangkat lunak Bioedit versi 7.2.5. Struktur tersier protein target dibangun menggunakan program Phyre2 yang dapat diakses secara online melalui laman <http://www.sbg.bio.ic.ac.uk/~phyre2/html/page.cgi?id=index> (Kelley, *et al.*, 2015), untuk menggambarkan struktur model dari target. *Template* model yang digunakan berasal dari penilaian tertinggi analisis domain *template* dengan target melalui program phyre2.

Visualisasi permukaan struktur model dengan elemen atom dibangun menggunakan program UCSF Chimera. Validasi model dilakukan berdasarkan plot ramachandran, ERRAT, verifikasi 3D yang dievaluasi

menggunakan SAVES server untuk menjelaskan kualitas model, diakses melalui laman <https://servicesn.mbi.ucla.edu/SAVES/> (Pramanik, *et al.*, 2016).

HASIL PENELITIAN

Sequence nsp1 dan nsp2

Sequence nsp1 dan nsp2 pada SARS-CoV memiliki panjang residu asam amino yang

berbeda, *Sequence nsp1* dan *nsp2* diperoleh dari penelusuran sumber data di *GenBank* (Sayers *et al.*, 2019). Kode akses protein target diperoleh dari pencarian *database* protein dari virus corona melalui akses *online* pada situs NCBI dengan *key word* COVID-19. Profil protein target dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Profil Protein Target

Accession Number	Length	Total Score	Query Cover	E Value	Organisme
YP_009725297.1	180	364	100%	2e-127	SARS-CoV
YP_009725298.1	638	1328	100%	0.0	SARS-CoV

Komposisi Asam Amino

Komposisi asam amino dianalisis menggunakan bioedit versi 7.2.5 (More, *et al.*, 2016). Hasil analisis asam amino kedua protein target

memiliki perbedaan jumlah dan persentase Mol (%). Komposisi asam amino dari protein target dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Komposisi Asam Amino Protein Target

No	Komposisi Protein nsp1 dan nsp2 pada SARS-CoV					
	YP_009725297.1 (nsp1)			YP_009725298.1 (nsp2)		
	Asam Amino	Jumlah	Mol (%)	Asam Amino	Jumlah	Mol (%)
1	Ala A	7	3.89	Ala A	44	6.90
2	Cys C	1	0.56	Cys C	27	4.23
3	Asp D	9	5.00	Asp D	20	3.14
4	Glu E	18	10.00	Glu E	54	8.46
5	Phe F	5	2.78	Phe F	30	4.70
6	Gly G	22	12.22	Gly G	49	4.68
7	His H	7	3.89	His H	9	1.41
8	Ile I	3	1.67	Ile I	40	6.27
9	Lys K	9	5.00	Lys K	51	7.99
10	Leu L	21	11.67	Leu L	60	9.40
11	Met M	3	1.67	Met M	10	1.57
12	Asn N	6	3.33	Asn N	31	4.86
13	Pro P	8	4.44	Pro P	22	3.45
14	Gln Q	7	3.89	Gln Q	18	2.82
15	Arg R	10	3.89	Arg R	19	2.98
16	Ser S	10	5.56	Ser S	36	5.64
17	Thr T	7	5.56	Thr T	46	7.21
18	Val V	21	11.67	Val V	46	7.21
19	Trp W	1	0.56	Trp W	7	1.10
20	Tyr Y	5	2.78	Tyr Y	19	2.98

Struktur Tersier nsp1 dan nsp2

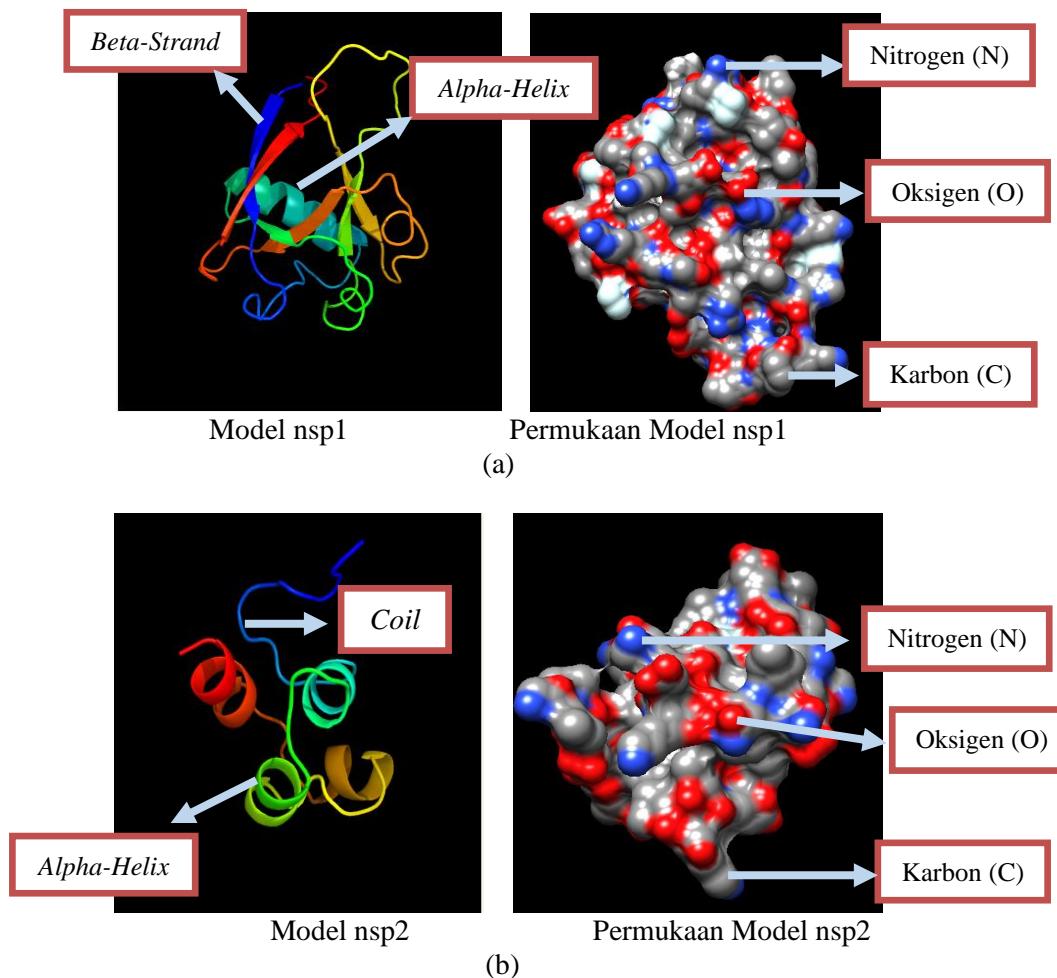
Struktur tersier nsp1 terbangun menggunakan *template* d2gdta1 dan nsp2 menggunakan *template* c2lc3A pada phyre

server, penggunaan *template* tersebut sesuai dengan penilaian tertinggi pada analisis domain *template* dan target serta pemodelan dengan kepercayaan (%). Visualisasi permukaan model

protein target berdasarkan elemen atom dibuat menggunakan UCSF Chimera (Yang *et al.*, 2011). Hasil yang didapatkan pada struktur tersier nsp1 dan nsp2 menunjukkan struktur *beta strand*, *alpha-helix* dan *coil*, sedangkan hasil visualisasi menggambarkan struktur permukaan masing-masing model dengan penampakan elemen atom yang menyusun model struktur protein target. Model nsp1 yang terbangun memiliki persentase wilayah *disordered* sebesar 19% dan struktur *alpha-helix* 42% dengan *beta strand* 13%. Wilayah

disordered untuk model nsp2 memiliki persentase sebesar 17% dengan struktur *alpha helix* 36% dan *beta strand* 27%.

Daerah berwarna merah pada visualisasi permukaan model nsp1 dan nsp2 adalah atom oksigen (O), daerah berwarna biru adalah atom nitrogen (N), sedangkan daerah berwarna abu-abu adalah atom karbon (C). Hasil pemodelan protein target dan visualisasi permukaan struktur tersier nsp1 dan nsp2 berdasarkan elemen atom dapat dilihat pada Gambar 1.



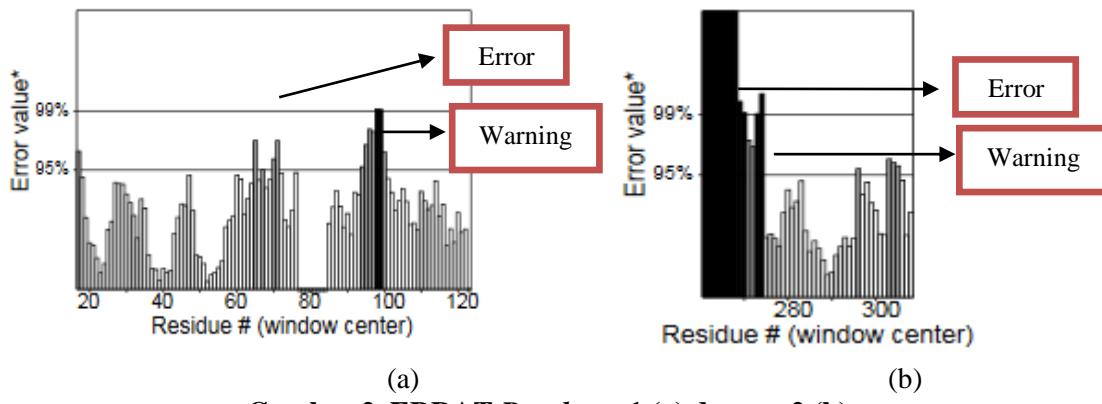
Gambar 1. Struktur tersier nsp1 (a) dan Struktur tersier nsp2 (b)

Validasi Model

Verifikasi model yang baik memiliki rata-rata skor $3D-1D> = 0,2$ dengan persentase lebih dari 80%. Struktur model nsp1 dikategorikan baik berdasarkan verifikasi 3D. 92,17% dari residu nsp1 memiliki rata-rata skor $3D-1D> = 0,2$ (lulus) dan penilaian ERRAT dengan faktor kualitas A: 87.7551. Struktur model nsp2 dikategorikan tidak baik berdasarkan verifikasi 3D. 64,29% dari residu

nsp2 memiliki rata-rata skor $3D-1D> = 0,2$ (gagal) dan penilaian ERRAT dengan faktor kualitas A: 62,5 (Gambar 2).

Penilaian struktur berdasarkan ramachandran *plots* dari hasil penelitian menunjukkan perbedaan persentase setiap sampel, kualitas struktur yang diperoleh diukur berdasarkan *favoured region*, *allowed region*, *disallowed region* dan *outliers* (Tabel 3).



Gambar 2. ERRAT Result nsp1 (a) dan nsp2 (b)

Tabel 3. Penilaian Ramachandran Plot Menggunakan SAVES Server

No	Sampel	Favoured Region	Allowed Region	Disallowed Region	Outliers
1	nsp1	74.0%	22.9%	2.1%	6.9%
2	nsp2	76.0%	18.0%	2.0%	16.4%

PEMBAHASAN

Protein nsp1 memiliki panjang 180 aa sedangkan nsp2 memiliki panjang 638 aa. Selisih panjang residu asam amino penyusun masing-masing protein target adalah 458 aa, hal tersebut menunjukkan adanya perbedaan kompleks masing-masing protein. Nilai total *score* dan *E value* kedua protein berbanding jauh, nsp1 memiliki total *score* 364 sedangkan nsp2 lebih tinggi dengan nilai 1328. *E value* nsp1 adalah 2e-127 sedangkan nsp2 adalah 0.0, persamaan keduanya ditunjukkan pada nilai *query cover* sebesar 100%.

Winarno (2004) menjelaskan bahwa protein tersusun dari beberapa asam amino, komposisi asam amino dari nsp1 dan nsp2 dianalisis menggunakan perangkat lunak bioedit versi 7.2.5. Tiap jenis protein mempunyai perbedaan jumlah dan distribusi jenis asam amino penyusunnya (Estiasih, *et al.*, 2016). Berdasarkan hasil analisis menunjukkan perbedaan jumlah dan persentase setiap asam amino dari kedua protein target, asam amino terbanyak penyusun nsp1 adalah glisin (12.22%), leusin (11.67%) dan valin (11.67%). Jumlah asam amino paling sedikit yang menyusun nsp1 adalah sistein dan tryptofan sebesar 0.56%. Asam amino penyusun nsp2 dengan persentase paling banyak terdapat pada residu glutamine (8.46%), lisin (7.99%) dan leusin (9.40%) sedangkan persentase residu paling sedikit yang menyusun nsp2 adalah

tryptofan (1.10%), histidin (1.41%) dan metionin (1.57%). Berat nsp1 adalah 19774.35 Daltons dan berat nsp2 adalah 70507.81 Daltons, perbedaan tersebut disebabkan oleh perbedaan panjang residu asam amino yang menyusun masing-masing protein.

Hasil model nsp1 memiliki dimensi (Å): X: 33.659 Y: 42.691 Z: 35.121 dan menggambarkan 115 residu yang terbangun dari 180 residu nsp1 dan 65 residu tidak terbangun. Model nsp2 memiliki dimensi (Å): X:29.449 Y:32.642 Z:26.374 dan menggambarkan 55 residu yang terbangun dari 638 residu nsp2, sehingga terdapat 583 residu tidak terbangun. Struktur model nsp1 mendekati model yang sebenarnya dengan persentase kepercayaan 100% dan persentase *sequence* yang terbangun adalah 64%. Struktur model nsp2 tidak mendekati model yang sebenarnya, dikarenakan persentase kepercayaan model hanya sekitar 47.1% dan persentase *sequence* yang terbangun hanya 9%. Similaritas *sequence* di atas 50% menunjukkan bahwa model yang terbangun mendekati model yang sebenarnya, sehingga similaritas *sequence* di bawah 50% menghasilkan struktur model yang tidak mendekati model sebenarnya, nilai *identity* tertinggi antara *template* dan target sangat menentukan kualitas model (Baker & Sali, 2001; Xiang, 2006; Amelia & Iryani, 2012; Webb & Sali, 2016).

Perbedaan struktur *beta strand* dan *alpha-helix* dalam struktur protein dipengaruhi oleh rantai samping asam amino penyusunnya. *Alpha-helix* dapat mengakumulasi lebih banyak mutasi daripada *beta strand* tanpa perubahan, karena jumlah kontak inter-residu yang lebih tinggi dalam heliks (Abrusan & Marsh, 2016). *Alpha-helix* merupakan sebuah struktur yang berbentuk helikal atau biasa disebut spiral. Setiap kelompok karboksil dan kelompok amina saling terkait dengan ikatan hidrogen yang menyebabkan pembentukan spiral. Struktur *beta sheet* berbeda dengan struktur *alpha-helix*. Pada *beta sheet* rantai polipeptida terlipat secara terbalik pada setiap sisinya sehingga membentuk struktur seperti lembaran (Hafizh, 2016).

Visualisasi permukaan model protein target dibuat berdasarkan elemen atom pada struktur. Susunan atom protein mengandung 50-55% atom karbon (C), 20-23% atom oksigen (O), 12-19% atom nitrogen (N), 6-7% atom hidrogen (H), dan 0,2-0,3% atom sulfur (S) (Estasih, 2016).

Struktur model protein dikatakan baik atau buruk tergantung pada jumlah residu non-glisin diwilayah *favoured region* (daerah disukai) dan *disallowed region* (daerah yang tidak diperbolehkan) dalam ramachandran *plots* (Amelia & Iryani, 2012). Kualitas struktur protein dikatakan baik apabila persentase residu non-glisin didaerah *outlier* kurang dari 15 % dan kestabilan suatu struktur akan menunjukkan kualitas protein untuk dikembangkan lebih lanjut, misalnya sebagai vaksin (Lovell, *et al.*, 2003; Yuan, *et al.*, 2018).

Residu non-glisin nsp1 pada *favoured region* memiliki persentase 74.0% dengan sebaran residu pada daerah *outliers* hanya sekitar 6.9%, hal tersebut menunjukkan bahwa struktur model nsp1 tergolong baik dan stabil. Persentase residu non-glisin nsp2 pada *favoured region* adalah 76.0%, berbanding terbalik dengan jumlah residu non-glisin pada daerah *outliers* yaitu sebesar 16.4%, jumlah persentase yang diperoleh dari struktur model nsp2 menggambarkan bahwa struktur model nsp2 tergolong buruk dan tidak stabil. Batas toleransi nilai (%) daerah *outliers* setiap struktur model yang terbangun adalah kurang dari 15% (Lovell, *et al.*, 2003). Hasil validasi model menjelaskan bahwa nsp1 memiliki akurasi model yang baik dibandingkan nsp2, tingkat kestabilan struktur model nsp1 lebih baik dari

pada nsp2 dan residu non-glisin nsp1 memiliki sebaran yang tepat dibandingkan nsp2 pada ramachandran *plots* melalui SAVES *server*. Stabilitas nsp1 memiliki potensi yang sangat baik dibandingkan nsp2 untuk dikembangkan lebih lanjut sebagai vaksin. Validasi struktur yang diperoleh dapat menjadi dasar dalam mempelajari pengembangan desain vaksin virus SARS-CoV sebagai salah satu penyebab penyebaran COVID-19.

KESIMPULAN DAN SARAN

Struktur tersier nsp1 memiliki berat 19774.35 Daltons dan nsp2 70507.81 Daltons, nsp1 menghasilkan struktur model dengan persentase 64%, wilayah disordered 19%, alpha-helix 42%, beta strand 13%, verifikasi model 92.17% (lulus), 74.0% favoured region dan daerah outliers 6.4% (stabil). Struktur tersier nsp2 menghasilkan struktur model dengan persentase 9%, wilayah disordered 17%, alpha-helix 36%, beta strand 27%, verifikasi model 64.29% (gagal), 76.0% favoured region dan daerah outliers 16.4% (tidak stabil).

Validasi model hasil penelitian dapat digunakan sebagai informasi dasar dalam pengembangan desain vaksin SARS-CoV-2 dan menjadi dasar ilmu pengetahuan dalam mempelajari pengembangan ilmu biologi ditingkat molekuler dengan metode komputasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Abrusan, G. & Marsh, J. A. (2016). Alpha Helices Are More Robust to Mutations than Beta Strands. doi: 10.1371/journal.pcbi.1005242
- Amelia, F. & Iryani. (2012). Comparative Modelling Protein Vaksin NA BTB H5N1 Menggunakan SWISS-MODEL. *Jurnal Sains dan Teknologi*. 4(2): 65-69.
- Angeletti, S., Benyenuto, D., Bianchi, M., Gioyanetti, M., Pascarella, S. & Ciccozzi, M. (2020). COVID-2019: The Role of The nsp2 and nsp3 in its Pathogenesis. *Journal of Medical Virology*. DOI: 10.1002/jmv.25719.
- Bal, A., Destras, G., Gaymard, A., Bouscambert-Duchamp, M., Valette, M., Escuret, V. & Frobert, E. (2020). Editor Molecular characterization of SARS-CoV-2 in the first COVID-19 cluster in France reveals an amino acid deletion in nsp2 (Asp268del). *Clinical Microbiology*

- and Infection. DOI:<https://doi.org/10.1016/j.cmi.2020.03.020>.
- Estiasih, T., Harijono., Waziyo, E. & Fibrianto, K. 2016. *Kimia dan Fisik Pangan*. Bumi Aksara. Jakarta.
- Eswar, N., Webb, B., Marti, R. M. A., Madhusudhan, M. S., Eramian, D., Shen, M. Y., Pieper, U. & Sali, A. (2016). Comparative protein structure modeling using Modeller. *Curr Protoc Bioinformatics*. 5: 5.6-5.6.29. doi: 10.1002/0471250953.bi0506s15.
- Gou, Y. R., Cao, Q. D., Hong, Z. S., Tan, Y. Y., Chen, S. D., Jin, H. J., Tan, K. S., Wang, D. Y. & Yan, Y. (2020). The origin, transmission and clinicaltherapies on coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak—an update on the status. *Military Medical Research*. 7: 1-10. <https://doi.org/10.1186/s40779-020-00240-0>.
- Hafizh, A. (2016). Visualisasi Struktur Tersier Protein Berbasis Web Menggunakan Ribbon Drawing. Skripsi Sarjana Komputer. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Kamitani, W., Narayanan, K., Huang, C., Lokugamage, K., Ikegami, T., Ito, N., Kubo, H. & Makino, S. (2006). Severe acute respiratory syndrome coronavirus nsp1 protein suppresses host gene expression by promoting host mRNA degradation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 103(34): 12885–12890. PMID: PMC1568942.
- Kelley, L. A., Mezulis, S., Yates, C. M., Wass, M. N. & Sternberg, M. J. (2015). The Phyre2 web portal for protein modeling, prediction and analysis. *Nat Protoc*. 10(6): 845-58. doi: 10.1038/nprot.2015.053.
- Lovell, S. C., Davis, I. W., Arendall III, W. B., de Bakker, P. I. W., Word, J. M., Prisant, M. G., Richardson, J. S., & Richardson, D. C. (2003). Structure validation by Calpha geometry: phi,psi and Cbeta deviation. *Proteins:Structure, Function & Genetics*. 50: 437-450. DOI: 10.1002/prot.10286.
- More, R. P., Mane, R. C. & Purghit, H. J. (2016). matK-QR classifier: a patterns based approach for plant species identification. *BioData Mining*, 9:39.
- Narayanan, K., Ramirez, S. I., Lokugamage, K. G. & Makino, S. (2015). Coronavirus nonstructural protein 1: Common and distinct functions in the regulation of host and viral gene expression. *Virus Research*. 202: 89-100. doi: 10.1016/j.virusres.2014.11.019.
- Pramanik, K., Ghosh, P. K., Ray, S., Sarkar, A., Mitra, S. & Maiti, T. K. (2016). An in silico structural, functional and phylogenetic analysis with three dimensional protein modeling of alkaline phosphatase enzyme of *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*. 15: 527–537
- Sayers, E. W., Cavanaugh, M., Clark, K., Ostell, J., Pruitt, K. D. & Mizrahi, I. K. (2019). GenBank. *Nucleic Acids Res*. 8: 47.
- Setiawan, T., Ambarsaril, L. & Sumaryada, T. I. (2016). Studi In Silico Converse Region Etoposite Binding Domain pada Isozim Human DNA Topoisomerase II. *Cakra Kimia*. 4(1).
- Susilo, A., Rumende, M., Pitoyo, C. W., Santoso, W. D., Yulianti, M., Herikurniawan., Sinto, R., Singh, G., Nainggolan, L., Nelwan, E. J., Chen, L. K., Widhani, A., Wijaya, E., Wicaksana, B., Maksum, M., Annisa, F., Jasirwan, C. O. & Yunihastuti, E. (2020). Coronavirus Disease 2019: Tinjauan Literatur Terkini Coronavirus Disease 2019: Review of Current Literatures. *Jurnal Penyakit dalam Indonesia*. 7(1): 45-67.
- V'kovski, P., Gerber, M., Kelly, J., Pfaender, S., Ebert, N., Lagaches, S.B., Simillion, C., Portmann, J., Stalder, H., Gaschen, V., Bruggmann, R., Stoffel, M. H., Heller, M., Dijkman, R. & Thiel, V. (2019). Determination of host proteins composing the microenvironment of coronavirus replicase complexes by proximity-labeling. *eLIFE*. 8. DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.42037>.
- Webb, B. & Sali, A. (2016). Comparative Protein Structure Modeling Using MODELLER. *Curr Protoc Protein Sci*. 1(86). doi: 10.1002/cpps.20.
- Winarno, F. G. 2004. *Kimia Pangan dan Gizi*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.
- World Health Organization. (2020). WHO Director-General's Remarks at The

- Media Briefing on 2019-nCoV on 11 February 2020. Geneva: World Health Organization. Cited 2020 February 13. Available on <https://www.who.int/dg/speeches/detail/who-director-generals>.
- Wu, F., Zhao, S., Yu, B., Chen, Y. M., Wang, W., Song, Z. G., Hu, Y., Tao, Z. W., Tian, J. H., Pei, Y. Y., Yuan, M. L., Zhang, Y. L., Dai, F. H., Liu, Y., Wang, Q. M., Zheng, J. J., Xu, L., Holmes, E. C. & Zhang, Y. Z. (2020). A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. *Nature*. 579(7798): 265-269. doi: 10.1038/s41586-020-2008-3.
- Xiang, Z. (2006). Advances in Homology Protein Structure Modeling. *Current Protein and Peptide Science*. 7(3): 27-217.
- Yang, Z., Lasker, K., Duhovny, D. S., Webb, B., Huang, C. C., Pattersen, E. F., Goddard, T. D., Meng, E. C., Sali, A. & Ferrin, T. E. (2011). UCSF Chimera, MODELLER, and IMP: An integrated modeling system. *J. Structure of Biology*. doi:10.1016/j.jsb.2011.09.006
- Yuan, J., Shen, L., Wu, J., Zou, X., Gu, J., Chen, J., & Mao L. (2018). Enterovirus A71 Proteins : Structure and Function. *Frontiers in Microbiology*. 9: 286.
- Yuliana. (2020). Corona Virus Diseases (Covid-19); sebuah Tinjauan Literatur. *Wellness and Healthy Magazine*. 2(1): 187-192.