

**PREDIKSI TINGKAT KEFATALAN MUTASI
GENETIK GEN LC3B TERHADAP FUNGSIONALITAS PROTEIN
AUTOFAGI DENGAN STUDI IN SILICO**

SKRIPSI



Oleh:

VANISA PRICILIA PUTRI

2008260005

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SUMATERA UTARA
MEDAN
2024**

**PREDIKSI TINGKAT KEFATALAN MUTASI
GENETIK GEN LC3B TERHADAP FUNGSIONALITAS PROTEIN
AUTOFAGI DENGAN STUDI IN SILICO**

**Skripsi ini diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh
kelulusan Sarjana Kedokteran**



UMSU
Unggul | Cerdas | Terpercaya

Oleh:

VANISA PRICILIA PUTRI

2008260005

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SUMATERA UTARA
MEDAN
2024**

LEMBAR PERSETUJUAN PEMBIMBING



MAJELIS PENDIDIKAN TINGGI, PENELITIAN & PENGEMBANGAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SUMATERA UTARA
FAKULTAS KEDOKTERAN
Jalan Gedung Arca No.53 Medan 20217 Telp. (061) 7350163 – 7333162 Ext.
20 Fax. (061) 7363488
Website: fk@umsu@ac.id



LEMBAR PERSETUJUAN PEMBIMBING

Nama : VANISA PRICILIA PUTRI

NPM : 2008260005


Prodi/Bagian : Pendidikan Dokter

Judul Skripsi : PREDIKSI TINGKAT KEFATALAN MUTASI GENETIK
GEN LC3B TERHADAP FUNGSIONALITAS PROTEIN
AUTOFAGI DENGAN STUDI IN SILICO

Disetujui Untuk Disampaikan Kepada Panitia Ujian

Medan, 2 Maret 2024

Pembimbing,


(dr. Tegar Adriansyah Putra Siregar, M. Biomed., Ph.D)

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Saya yang bertandatangan dibawah ini menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri dan sumber baik yang dikutip maupun dirujuk telah saya nyatakan benar.

Nama : Vanisa Pricilia Putri

NPM : 2008260005

Judul Skripsi : PREDIKSI TINGKAT KEFATALAN MUTASI GENETIK GEN
LC3B TERHADAP FUNGSIONALITAS PROTEIN AUTOFAGI
DENGAN STUDI IN SILICO

Demikianlah pernyataan ini saya perbuat, untuk dapat digunakan sebagaimana mestinya.

Medan, 1 April 2024

A 10,000 Rupiah Indonesian postage stamp is placed over a handwritten signature. The stamp features the Garuda Pancasila emblem and the text '10000', 'REPUBLIK INDONESIA', and '605180CX331001105'. The signature is written in black ink over the stamp.

Vanisa Pricilia Putri

MAJELIS PENDIDIKAN TINGGI, PENELITIAN & PENGEMBANGAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SUMATERA UTARA
FAKULTAS KEDOKTERAN



Jalan Gedung Arca No.53 Medan 20217 Telp. (061) 7350163 – 7333162 Ext.
20 Fax. (061)7363488
Website: fk@umsu.ac.id

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh

Nama : Vanisa Pricilia Putri

NPM : 2008260005

Judul : Prediksi Tingkat Kefatalan Mutasi Genetik Gen LC3b Terhadap
Fungsionalitas Protein Autofagi dengan Studi In Silico

Telah berhasil dipertahankan dihadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai
bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran
Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara

DEWAN PENGUJI

Pembimbing

(dr. Tegar Adriansyah Putra Siregar, M.Biomed.,Ph.D)

Penguji 1

(Dr. Emni Purwoningsih, S. Pd., M.Kes)

Penguji 2

(dr. Des Suryani, M.Biomed)

Mengetahui,



(dr. Siti Maslita Siregar, Sp.THT-KL(K)
NIDN: 0106098201

Ketua Program Studi
Pendidikan Dokter FK UMSU

(dr. Desi Isnayanti, M.Pd.Ked)
NIDN: 0112098605

Ditetapkan di : Medan

Tanggal : 6 Agustus 2024

KATA PENGANTAR

Puji syukur saya ucapkan kepada Allah Subhanahu Wata'ala karena berkat rahmatNya, saya dapat menyelesaikan skripsi ini dalam rangka memenuhi salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran pada Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara. Saya menyadari bahwa, tanpa bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak, sangatlah sulit bagi saya untuk menyelesaikan skripsi ini, Oleh karena itu, saya mengucapkan terimakasih kepada:

- 1) dr. Siti Masliana Siregar, Sp.THT-KL(K), selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara dan selaku Dosen Pembimbing Akademik saya yang telah memberikan bimbingan dan arahan selama saya menempuh pendidikan.
- 2) dr. Desi Isnayati, M.Pd.Ked, selaku Ketua Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara.
- 3) dr. Tegar Adriansyah Putra Siregar, M.Biomed, Ph.D selaku Dosen Pembimbing yang telah menyediakan waktu, tenaga, dan pikiran untuk mengarahkan dan membimbing saya dalam penyusunan skripsi ini.
- 4) Dr. Emni Purwoningsih, S.Pd., M.Kes. dan dr. Des Suryani, M.Biomed, selaku Dosen Penguji saya yang telah memberikan masukan dan membantu saya dalam penelitian hingga penyusunan skripsi.
- 5) Terutama dan teristimewa kepada kedua orang tua saya yang saya cintai, Bapak Meripal dan Ibu Henny Astuti, yang telah memberikan cinta kasih dan dukungan serta doa restu yang tak henti mengalir setiap hembusan nafasnya hingga skripsi ini bisa terelesaikan dengan tepat waktu. Serta kedua adik saya, Alvinopal dan Chelsea dan seluruh keluarga yang telah memberikan do'a dan kasih sayang yang tak ternilai.
- 6) Rekan seperjuangan saya Tengku Rayhan yang telah memberikan waktu, tempat berkeluh kesah dan dukungan dalam situasi apapun.
- 7) Sahabat- sahabat saya Aisyah Salsabila, Fadhila Ika Herliana, dan Sevani Ayu Harahap, Ristya Chayani, Bella, Zefanya, Angelita terimakasih telah banyak membantu dan memberi dukungan selama perkuliahan.

- 8) Seluruh teman sejawat, Angkatan 2020 yang telah menjadi bagian dari cerita perjalanan saat menempuh pendidikan.
- 9) Pihak lain yang telah banyak membantu saya dalam berproses yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Medan, 1 April 2024

Penulis,

A handwritten signature in black ink, consisting of several overlapping loops and a long horizontal stroke extending to the left.

Vanisa Pricilia Putri

**PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI SKRIPSI UNTUK
KEPENTINGAN AKADEMIK**

Sebagai sivitas akademika Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara, saya yang bertanda tangan di bawah ini,

Nama : Vanisa Pricilia Putri
NPM : 2008260005
Fakultas : Kedokteran

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara Hak Bebas Royalti Noneksklusif atas skripsi saya yang berjudul : **“PREDIKSI TINGKAT KEFATALAN MUTASI GENETIK GEN LC3B TERHADAP FUNGSIONALITAS PROTEIN AUTOFAGI DENGAN STUDI IN SILICO”**

Dengan Hak Bebas Royalti Non eksklusif ini Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara berhak menyimpan, mengalihmedia/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat dan mempublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Medan
Pada tanggal : 1 April 2024

Yang menyatakan



(Vanisa Pricilia Putri)

ABSTRAK

Pendahuluan: Autofagi adalah jalur penting yang mengatur homeostasis organisme, ketika keseimbangan autofagi terganggu maka dapat menyebabkan keadaan yang bersifat patologis. Autofagi terbagi menjadi tiga jenis, (1) makroautofagi, (2) mikroautofagi, dan (3) *Chaperone-mediated autophagy (CMA)*. Modulator tahap autofagi terdiri dari (1) inisiasi, saat terjadinya starvasi mTORCI dihambat dan fosforilasi oleh AMPK, kemudian akan mengaktivasi ULK1, (2) Ekspansi, yang melibatkan BECLIN1, dan (2) elongasi, akan melibatkan peran LC3B. Sel melakukan autofagi untuk mendaur ulang organel yang rusak dan protein yang salah pelipatan, bekerja sama dengan sistem kekebalan adaptif untuk menjaga homeostasis sel serta kualitas protein dan organel. Kelainan pada proses autofagi akan berdampak pada kejadian mutasi genetik khususnya pada mutasi *Missense* dan *Frameshift*. Mutasi genetik ditandai oleh perubahan urutan asam amino yang dapat mengakibatkan perubahan fungsi protein. **Tujuan:** Mengetahui tingkat kefatalan mutasi *Missense* dan *Frameshift* gen LC3B terhadap protein autofagi. **Metodologi:** Memprediksi tingkat kefatalan mutasi dengan menggunakan perangkat lunak SIFT dan PolyPhen-2. **Hasil:** Hasil prediksi gen LC3B menggunakan perangkat lunak SIFT pada mutasi *Missense* didapatkan 55% sampel mengalami *Deleterious* dan 45% sampel mengalami *Tolerated*. Mutasi *Frameshift* didapatkan 20% sampel mengalami *Deleterious* dan 80% sampel mengalami *Tolerated*. Sedangkan perangkat lunak PolyPhen-2 pada mutasi *Missense* didapatkan hasil 45% untuk *Benign*, 14% untuk *Possibly Damaging*, dan 45% untuk *Probably Damaging*. Mutasi *Frameshift* didapatkan hasil 20% untuk *Benign*, 40% untuk *Possibly damaging*, dan 40% untuk *Probably Damaging*. **Kesimpulan:** Setelah dilakukan penelitian dapat disimpulkan bahwa mutasi *Missense* dan *Frameshift* pada gen LC3B dapat mempengaruhi fungsionalitas protein LC3B.

Kata Kunci: LC3B, Autofagi, *Missense*, *Frameshift*, SIFT, PolyPhen-2

ABSTRACT

Introduction: Autophagy is an important pathway that regulates an organism's hemostasis, when the balance of autophagy is disturbed it can cause pathological conditions. Autophagy is divided into three types, (1) macroautophagy, (2) microautophagy, and (3) Chaperone-mediated autophagy (CMA). The autophagy stage modulator consists of (1) initiation, when starvation occurs, mTORC1 is inhibited and phosphorylated by AMPK, which then activates ULK1, (2) expansion, which involves BECLIN1, and (2) elongation, which involves the role of LC3B. Cells perform autophagy to repair damaged organelles and misfolded proteins, working together with the adaptive immune system to maintain cell homeostasis and the quality of proteins and organelles. Abnormalities in the autophagy process will have an impact on the occurrence of genetic mutations, especially Missense and Frameshift mutations. Genetic mutations are characterized by changes in the amino acid sequence which can result in changes in protein function. **Objective:** To determine the fatality rate of Missense and Frameshift LC3B gene treatment for autophagy proteins. **Methodology:** Predicting treatment fatality rates using SIFT and PolyPhen-2 software. **Results:** The results of LC3B gene prediction using SIFT software for Missense treatment showed that 55% of samples were damaged and 45% of samples were Tolerated. Frameshift mutations found that 20% of samples experienced Deleterious and 80% of samples experienced Tolerated. Meanwhile, the PolyPhen-2 software for Missense treatment obtained results of 45% for Benign, 14% for Possible Damage, and 45% for Possible Damage. Frameshift mutations get results of 20% for Benign, 40% for Likely Destructive, and 40% for Likely to Destruct. **Results:** After conducting research, it can be concluded that Missense and Frameshift treatment on the LC3B gene can affect the functionality of the LC3B protein.

Keywords: LC3B, Autophagy, Missense, Frameshift, SIFT, Polyphen-2

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	Error! Bookmark not defined.
LEMBAR PERSETUJUAN PEMBIMBING	ii
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS ...	Error! Bookmark not defined.
HALAMAN PENGESAHAN	iv
KATA PENGANTAR	v
PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI SKRIPSI UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIK	vii
ABSTRAK	viii
ABSTRACT	ix
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR SINGKATAN	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan Umum	2
1.4 Tujuan Khusus.....	3
1.5 Manfaat Penelitian.....	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Autofagi.....	4
2.1.1 Definisi Autofagi	4
2.1.2 Klasifikasi Autofagi	4
2.1.3 Regulasi Autofagi	6
2.2 LC3B	8
2.2.1 Definisi LC3B	8
2.2.2 Peran LC3B Terhadap Autofagi	8
2.3 Variasi Genetik.....	9

2.3.1 Mutasi Gen.....	10
2.4 Kelainan yang Timbul Akibat Variasi Genetik Gen LC3B Pada Autofagi.....	12
2.5 Kerangka Teori.....	14
2.6 Kerangka Konsep	15
BAB III METODE PENELITIAN	16
3.1 Definisi Operasional	16
3.2 Desain Penelitian	17
3.3 Waktu dan Tempat Penelitian.....	17
3.3.1 Waktu.....	17
3.3.2 Tempat	18
3.4 Populasi dan Sampel Penelitian.....	18
3.4.1 Populasi.....	18
3.4.2 Sampel	18
3.4.3 Teknik Pengambilan Sampel	19
3.4.4 Cara Pengambilan Sampel	19
3.4.5 Besar Sampel	23
3.5 Teknik Pengumpulan Data	23
3.6 Pengolahan dan Analisis Data	24
3.6.1 Pengolahan Data	24
3.6.2 Analisis data.....	24
3.7 Alur Penelitian.....	25
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	26
4.1 Hasil Penelitian	26
4.1.1 Analisis Prediksi Mutasi <i>Missense</i> dan <i>Frameshift</i> Gen LC3B dengan Perangkat Lunak SIFT dan PolyPhen-2.....	26
4.1.2 Analisis prediksi mutasi <i>Missense</i> gen LC3B yang tergolong fatal dan tidak fatal berdasarkan perangkat lunak SIFT dan PolyPhen-2.....	29
4.1.3 Analisis prediksi mutasi <i>Frameshift</i> gen LC3B yang tergolong fatal dan tidak fatal berdasarkan perangkat lunak	

SIFT dan PolyPhen-2.....	30
4.2 Pembahasan.....	32
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	34
5.1 Kesimpulan.....	34
5.2 Saran	34
DAFTAR PUSTAKA	36
LAMPIRAN.....	40

DAFTAR TABEL

Tabel 3. 1 Definisi operasional.....	16
Tabel 3. 2 Waktu penelitian	17
Tabel 4. 1 Hasil prediksi tingkat kefatalan mutasi <i>Missense</i> dengan perangkat lunak SIFT	27
Tabel 4. 2 Hasil analisis prediksi mutasi Frameshift dengan perangkat lunak SIFT	27
Tabel 4. 3 Hasil analisis prediksi mutasi <i>Missense</i> dengan piranti lunak PolyPhen-2	28
Tabel 4. 4 Hasil analisis prediksi mutasi <i>Frameshift</i> dengan perangkat lunak ...	28

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Jenis Autofagi berdasarkan tahapannya dibagi menjadi tiga, yaitu; makroautofagi, mikroautofagi, dan CMA. ¹⁶	5
Gambar 2. 2 Regulasi autofagi terbagi menjadi tiga tahapan yaitu inisiasi, nukleasi, dan ekspansi. ¹⁹	7
Gambar 2. 3 Proses modifikasi dan pematangan LC3B pada pembentukan autofagosom. ²⁴	9
Gambar 2. 4 Pasangan urutan asam amino pada sekuens normal. ¹⁶	10
Gambar 2. 5 Pasangan urutan asam amino pada sekuens mutasi Missense. ¹⁶	11
Gambar 2. 6 Urutan asam amino mutasi <i>Frameshift</i> ²⁶	11
Gambar 2. 7 Kerangka teori	14
Gambar 2. 8 Kerangka konsep	15
Gambar 3. 1 Alur Penelitian.....	25
Gambar 4. 1 Hasil analisis sampel Missense gen LC3B yang tergolong fatal berdasarkan persilangan perangkat lunak SIFT dan PolyPhen-2 ..	29
Gambar 4. 2 Hasil analisis sampel Missense gen LC3B yang tergolong tidak fatal berdasarkan persilangan perangkat lunak SIFT dan PolyPhen-2	30
Gambar 4. 3 Hasil analisis sampel Frameshift gen LC3B yang tergolong fatal berdasarkan persilangan perangkat lunak SIFT dan PolyPhen-2 ..	30
Gambar 4. 4 Hasil analisis sampel Frameshift gen LC3B yang tergolong tidak fatal berdasarkan persilangan perangkat lunak SIFT dan PolyPhen-2.	31

DAFTAR SINGKATAN

ATP	: Adenosine Triposfat
MAPLC3B	: <i>Microtubule-associated protein 1A/1B-light chain 3</i>
ATG	: <i>Autophagy Related</i>
DNA	: <i>Deoxyribonucleic Acid</i>
<i>dbSNP</i>	: <i>Single Nucleotide Polymorphism Database</i>
KFERQ	: Lisin-fenilalanin-glutamat-arginin-glutamin
LAMP2	: <i>Lysosome- Associated Membrane Protei- 2</i>
ULK1	: <i>Unc-51-like autophagy-activating kinases-1</i>
PI3K	: <i>Phosfatidylinositol-3-Kinase</i>
mTORC1	: <i>Mammalian Target of Rapamycin</i>
AMPK	: <i>AMP-activatedprotein Kinase</i>
PIK3R4	: <i>Phosphoinositide 3-kinase Regulatory Subunit-4</i>
VPS15	: <i>Vacuolar Protein Sorting-15</i>
UVRAG	: <i>UV Radiation Resistance Associated</i>
SH3GLB1	: <i>SH3-domain GRB2-like Endophilin B1</i>
AMBRA1	: <i>Autophagy/Beclin-1 Regulator 1</i>
RUBCN	: <i>Regulator Autophagy Rubicon</i>
BCL2	: <i>B Cell Lymphoma</i>
SQSTM	: <i>Sequestosome</i>

PE	: <i>Phosphatidylethanolamine</i>
VHL	: Von Hippel-Lindau
RCC	: <i>Renal Cell Carcinoma</i>
PPOK	: Penyakit Paru Obstruktif Kronik
IL-13	: <i>Interleukin-13</i>
GABARAP	: <i>GABA Type A Receptor Associated Protein</i>
LIR	: <i>LC3-interacting region</i>
OPTN	: Optineurine
NDP52	: <i>Nuklear Dot Protein 52 kDa</i>
OMM	: <i>Outer Mitochondrial Membrane</i>
PARKIN	: <i>Putative Protein Kinase</i>
PHB2	: Prohibitin 2

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. <i>Sequence</i> gen LC3B	40
Lampiran 2. Data Prediksi Variasi Genetik Gen LC3B.....	43
Lampiran 3. Data <i>cross</i> sampel variasi genetik dari kedua piranti lunak	46
Lampiran 4. Halaman Pengesahan.....	49
Lampiran 5. Artikel.....	50

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar belakang

Autofagi adalah proses seluler alami yang bertanggung jawab untuk mempertahankan homeostasis sel dengan cara mendegradasi komponen intraseluler termasuk agregat protein atau organel sel.¹ Autofagi diinduksi oleh stresor seluler seperti starvasi sel sehingga autofagi dibutuhkan sebagai homeostasis seluler.² Autofagi akan mempertahankan metabolisme sel dengan cara menghilangkan protein dan organel yang rusak untuk menjaga kualitas dan kuantitas protein dan organel agar tetap dalam keadaan baik. Pada aktifitas autofagi seperti makromolekul sitoplasma, protein agregat, dan organel yang rusak akan dikirim ke lisosom dan dicerna oleh enzim hidrolase lisosom untuk menghasilkan nukleotida, asam amino, asam lemak, gula, Adenosine Trifosfat (ATP) yang akhirnya akan didaur ulang ke dalam sitosol. Hal ini menunjukkan bahwa autofagi berperan pada kondisi patofisiologis penyakit seperti kanker, degenerasi saraf, penyakit autoimun, penuaan, kematian sel, penyakit jantung dan infeksi. Mekanisme autofagi ini disebut sebagai mekanisme kematian sel terprogram tipe II.³

Autofagi mempunyai tiga tahapan regulasi yaitu dimulai dari inisiasi, nukleasi fagofor, dan ekspansi. Adapun tiga jenis dari autofagi meliputi macroautophagy, chaperone-mediated autophagy, dan microautophagy. Langkah penting untuk pembentukan autofagosom adalah penggabungan protein rantai ringan terkait mikrotubulus 3 [LC3]/ATG8 ke lipid fosfatidiletanolamin, suatu reaksi yang melibatkan kerja terkoordinasi dari ATG7, ATG3, dan ATG5-12-16. LC3B sebagai gen penanda/ *marker* aktivitas autofagi. Autofagosom merupakan ciri khas sitosolik pada autofagi. Ukuran dan jumlah autofagosom juga dapat diatur oleh protein ATG8/LC3. Kehadiran gen LC3B pada fagosom dapat membentuk autofagosom di tahapan ekspansi regulasi autofagi dan meningkatkan efisiensi pematangan fagolisosom.⁴

Variasi genetik adalah perbedaan urutan *Deoxyribonucleic acid* (DNA) antara individu dalam suatu populasi. Mutasi dan rekombinasi adalah sumber utama terjadinya variasi. Variasi genetik dalam gen LC3B memiliki keterlibatan besar terhadap penyakit yang berdampak pada respon imun bawaan dan respon imun adaptif.^{5,6} Deteksi mutasi

genetik yang cepat dan tepat sebagai biomarker berbagai penyakit juga berperan penting dalam penatalaksanaan yang efektif.⁷

Jenis mutasi yang dapat terjadi pada manusia yaitu mutasi *Missense* dan *Frameshift*. Mutasi *Missense* ditandai dengan perubahan satu asam amino menjadi asam amino lain sehingga menyebabkan salah arti pada penerjemahan urutan basa.⁸ Sedangkan mutasi *Frameshift* adalah mutasi yang terjadi akibat perubahan kerangka pembacaan basa-basa nukleotida. Gen yang mengalami pergeseran bingkai menghasilkan protein yang terpotong, tidak berfungsi, dan berpotensi bersifat sitotoksik.⁹

Database seperti dbSNP berguna untuk meyaring dan mengidentifikasi varian yang berpotensi mempengaruhi fungsi protein sehingga diperlukan perangkat lunak algoritma seperti SIFT (*Sorting Intolerant From Tolerant*) yang digunakan untuk memprediksi varian mutasi pada fungsi protein. SIFT menjadi salah satu alat standart untuk mengkarakterisasi varian *Missense*. Pada studi sebelumnya, SIFT telah digunakan untuk meneliti efek mutasi genetik pada manusia seperti kanker, penyakit hereditas dan penyakit menular.¹⁰ Perangkat lunak lain yang digunakan dalam prediksi fungsi protein pada mutasi gen yaitu PolyPhen-2 (*Polymorphism Phenotyping v2*), dengan cara memprediksi kemungkinan dampak substitusi asam amino terhadap stabilitas dan fungsi protein manusia.¹¹ Stabilitas protein juga merupakan karakteristik utama dari protein fungsional, dan dengan demikian, mutasi pada asam amino protein dapat sangat mempengaruhi stabilitasnya.¹² Dengan demikian penelitian ini dilakukan untuk menilai persentase kefatalan akibat variasi genetik gen LC3B terhadap fungsionalitas protein autofagi.²

1.2 Rumusan Masalah

Bagaimana tingkat kefatalan mutasi *Missense* dan *Frameshift* gen LC3B terhadap fungsionalitas protein autofagi dengan menggunakan perangkat lunak SIFT dan PolyPhen-2 ?

1.3 Tujuan Umum

Mengetahui prediksi tingkat kefatalan mutasi *Missense* dan *Frameshift* gen LC3B terhadap fungsionalitas protein autofagi menggunakan perangkat lunak SIFT dan

PolyPhen-2.

1.4 Tujuan Khusus

1. Mengidentifikasi mutasi Missense dan Frameshift pada gen LC3B.
2. Mengetahui prediksi tingkat kefatalan mutasi *Missense* dan *Frameshift* pada gen LC3B menggunakan perangkat lunak SIFT.
3. Mengetahui prediksi tingkat kefatalan mutasi *Missense* dan *Frameshift* pada gen LC3B menggunakan perangkat lunak PolyPhen-2.
4. Mengetahui mutasi *Missense* dan *Frameshift* dari gen LC3B yang memiliki tingkat kefatalan (*Deleterious*, *Possibly Damaging*, dan *Probably Damaging*) pada perangkat lunak SIFT dan PolyPhen-2.
5. Mengetahui mutasi *Missense* dan *Frameshift* dari gen LC3B yang tidak fatal (*Tolerated* dan *Benign*) pada perangkat lunak SIFT dan PolyPhen-2.

1.5 Manfaat Penelitian

Diharapkan penelitian ini dapat memberikan wawasan yang lebih baik mengenai prediksi tingkat kefatalan mutasi *Missense* dan *Frameshift* gen LC3B terhadap fungsionalitas protein autofagi.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Autofagi

2.1.1 Definisi Autofagi

Autofagi adalah proses intraseluler degradatif lisosom. Proses ini memungkinkan terjadinya daur ulang organel yang rusak dan makromolekul yang teragregasi atau salah lipatan pada rantai DNA asam amino.^{13,14} Hal ini merupakan mekanisme yang membantu mempertahankan homeostasis sel. Autofagi merupakan respon tubuh terhadap starvasi, dan ketika sebuah organel tidak diperlukan lagi.¹³

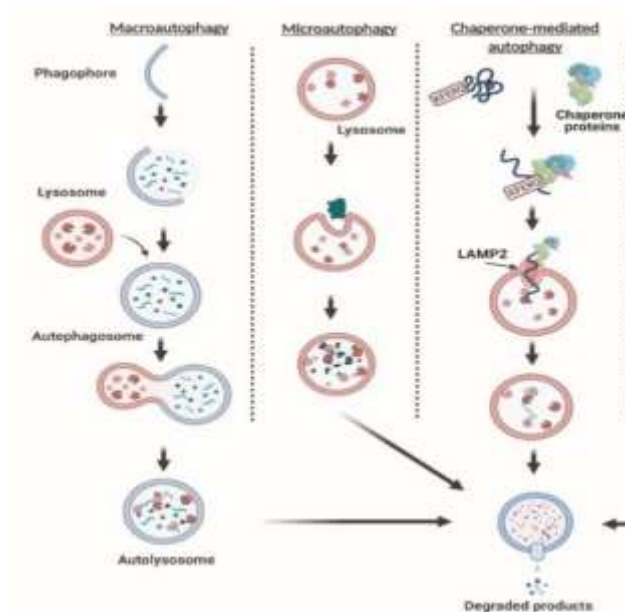
Autofagi memiliki proses yang kompleks dan mekanisme pengaturan yang sangat penting dalam kondisi fisiologis dan patologis. Dengan berkembangnya penelitian hingga sekarang maka dijelaskan terdapat hubungan antara autofagi dengan beberapa penyakit akibat variasi genetik.¹⁴

2.1.2 Klasifikasi Autofagi

Beberapa jenis autofagi dijelaskan sebagai berikut:

- 1) Makroautofagi adalah proses yang mengarah pada degradasi substrat secara massal dengan memproduksi autofagosom dan autolisosom.¹³ Membran isolasi (*phagophore*) menyita sebagian substrat sitoplasma yang terdegradasi. Struktur yang dihasilkan disebut autofagosom. Kemudian membran autofagosom akan menyatu dengan membran lisosom sehingga akan terjadi penyatuan isi sel ke dalam lumen lisosomal dan menghasilkan autolisosom. Pada autolisosom, degradasi terjadi melalui aksi enzimatik pada pH asam.¹³
- 2) Mikroautofagi adalah proses di mana komponen sitoplasma memasuki lisosom melalui invaginasi atau deformasi pada membran lisosom. Mikroautofagi mendegradasi komponen seluler, termasuk peroksisom, mitokondria, lipid, dan nukleus, melalui mekanisme selektif dan non- selektif.¹³
- 3) *Chaperone-mediated autophagy* (CMA) adalah proses dimana protein intraseluler larut dan berikatan dengan molekul protein pendamping motif pentapeptida yaitu KFERQ, kemudian diangkut menuju lisosom untuk dicerna oleh enzim lisosom dengan bantuan gen *Lysosome-associated membrane protein 2* (LAMP2) sebagai

bantuan pintu masuk substrat menuju lisosom.^{13,14,15}



Gambar 2. 1 Jenis Autofagi berdasarkan tahapannya dibagi menjadi tiga, yaitu; makroautofagi, mikroautofagi, dan CMA.¹⁶

sumber : Pritchard, Dorian J. KB, 2013

Beberapa protein ATG memiliki kemampuan dalam berinteraksi langsung dengan membran sel, mentransfer lipid antar membran, dan mengatur metabolisme lipid. Protein ATG turut serta dalam membantu proses autofagi. Protein inti ATG secara fungsional dikategorikan ke dalam unit-unit terpisah seperti kompleks Atg1/ULK, *fosfatidylinositol-3-kinase* (PI3K) kelas III, kompleks Atg2-Atg18/WIPI4, vesikula Atg9, sistem konjugasi Atg12, termasuk ATG12-5-16L1 dan WIPI2B, dan sistem konjugasi Atg8/LC3. Autofagi terkait dengan kejadian tumorigenesis, perkembangan mamalia, metabolisme lipid, degradasi patogen intraseluler, dan degenerasi saraf. Dalam beberapa tahun terakhir, beragam peran fisiologis dan patologis autofagi telah ditemukan.¹⁷

2.1.3 Regulasi Autofagi

Secara skematis regulasi autofagi dapat dibagi menjadi tiga fase yaitu (1) inisiasi, (2) nukleasi phagophore, (3) ekspansi.⁸ Autofagi diinduksi oleh berbagai reaksi dalam organisme, seperti starvasi sel, kesalahan pelipatan, penurunan kadar ATP, dan keadaan hipoksia.¹⁸

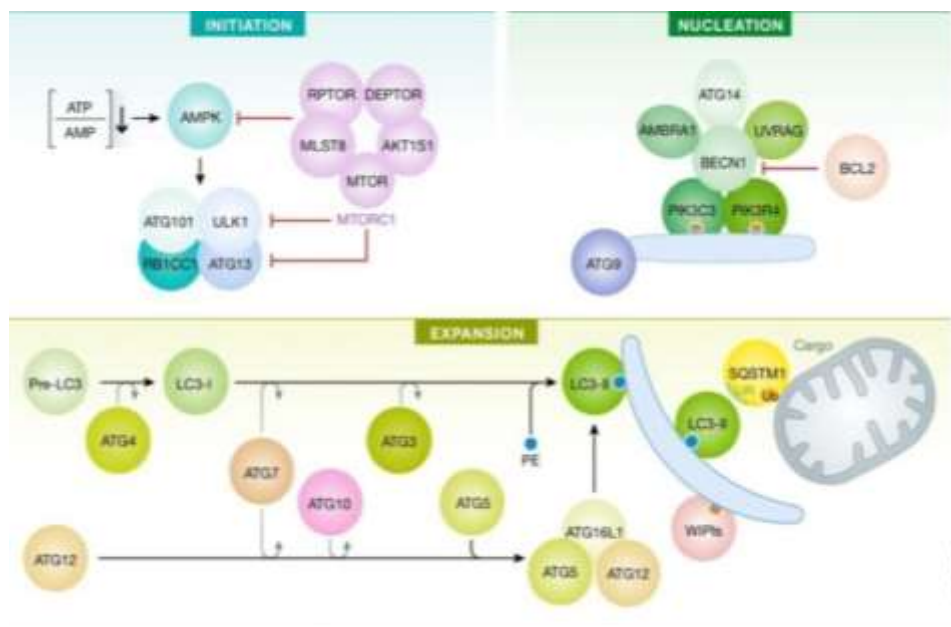
Tahap inisiasi dimulai dengan kompleks autofagi yang mengaktifkan ULK1. Kemudian diikuti oleh pembentukan vesikel membran yang disebut fagofor menjadi vesikel bilayer lipid berbentuk seperti bola yang disebut sebagai autofagosom. Autofagosom kemudian menyatu dengan lisosom atau vakuola untuk menguraikan komponen sitoplasma yang telah direkrut. Kompleks ULK1 yang terlibat dalam memulai autofagi diatur oleh *Mammalian target of rapamycin* (mTORC1). Starvasi asam amino dan penurunan kadar insulin menyebabkan inaktivasi mTORC1 sehingga menginduksi terjadinya autofagi.¹⁸

Setelah mTORC1 dinonaktifkan, maka proses autofagi akan berlanjut pada tahap nukleasi. Tindakan penghambatan MTORC1 diimbangi oleh *AMP-activated protein kinase* (AMPK), yang merespons penurunan level ATP dengan memfosforilasi ULK1 dan BECN1 (Beclin 1). ULK1 mendukung proses autofagi dengan memfasilitasi aktifitas *fosfatidylinositol-3-kinase* dari kompleks multiprotein yang dibentuk oleh BECN1, PIK3C3/VPS34 (subunit katalitik *fosfatidylinositol-3-kinase* tipe 3), PIK3R4/VPS15 (subunit pengatur *fosfoinositida-3-kinase* 4), ATG14, dan NRBF2 (faktor pengikat reseptor nuklir 2). Beberapa interaksi regulasi dari kompleks BECN1-PIK3C3/VPS34 telah diidentifikasi, termasuk UVRAG (terkait resistensi radiasi UV), SH3GLB1 (domain SH3 yang mengandung seperti GRB2, endofilin B1), dan AMBRA1 (autophagy/beclin-1 regulator 1), yang memfasilitasi aktifitas katalitik.¹⁸

PIK3C3/VPS34, serta RUBCN (regulator autophagy rubicon) dan BCL2 (regulator apoptosis BCL2).¹⁹ Kompleks PI3K mengandung banyak kompleks dengan faktor penyusun yang berbeda meliputi Beclin-1 dan Atg14 yang berfungsi pada tahap awal pembentukan fagofor. Kemudian dimobilisasi sebagai protein efektor PI3P yang bekerja pada Atg2. Pada tahap ini Atg2 berfungsi sebagai penghubung membran retikulum endoplasma (RE) dan fagofor untuk pengangkutan lipid dan memasok lipid ke autofagosom.¹⁸

Pada tahap ekspansi, LC3 oleh ATG4 dilakukan pembelahan menghasilkan bentuk LC3-I. Ketika autofagi diinduksi, LC3-I akan berikatan dengan *phosphatidylethanolamine* (PE) pada membran fagofor. Reaksi ini dikatalisis lagi oleh ATG3 dan ATG7. Sementara itu kompleks ATG12-ATG5-ATG16L yang sudah direkrut di permukaan fagofor berfungsi sebagai enzim sehingga membentuk LC3-II yang berasosiasi dengan membran dalam dan luar fagofor. LC3-I terkonjugasi menjadi LC3-II yang direkrut ke membran autofagosomal. Kargo dikenali oleh protein *sequestosome* (SQSTM1) yang juga berikatan dengan LC3-II sehingga struktur membran fagofor muncul di sitoplasma. Setelah fagofor memanjang cukup untuk mengakomodasi substratnya, fagofor menutup dan membentuk sebuah membran ganda yaitu autofagosom.¹⁹

Setelah proses ekspansi selesai maka ujung dari vesikel akan menyatu sehingga menghasilkan vesikel membran ganda bernama autofagosom. Autofagosom akan mempertahankan LC3-II di membran dalam yang nantinya akan melebur dengan lisosom yang berisi substrat. Kemudian membran dalam autofagosom akan terdegradasi secara bersamaan dengan protein kargo dan LC3-II. Produk degradasi dapat mendaur ulang organel sel dan dilepaskan kembali ke dalam sitoplasma.²⁰



Gambar 2. 2 Regulasi autofagi terbagi menjadi tiga tahapan yaitu inisiasi, nukleasi, dan ekspansi.¹⁹

Sumber: Klionsky DJ, Petroni G, Amaravadi RK, et al. 2021

2.2 LC3B

2.2.1 Definisi LC3B

Microtubule-associated protein light chain 3, isoform B (LC3B) berfungsi sebagai penanda autofagi. Dalam proses pembentukan autofagosom, bentuk LC3B- I yang larut diubah menjadi bentuk LC3B-II. LC3B terdistribusi secara merata di seluruh sitoplasma dan terlokalisasi di daerah nukleolus. LC3B aktif pada jalur konjugasi dimana LC3B terkonjugasi menjadi *phosphatidylethanolamine* (PE), dengan demikian secara selektif akan melokalisasi ke dalam membran autofagosomal. Konversi LC3 dari bentuk tidak terkonjugasi (LC3-I) menjadi bentuk terkonjugasi PE (LC3-II) sangat penting dalam pembentukan autofagosom.²

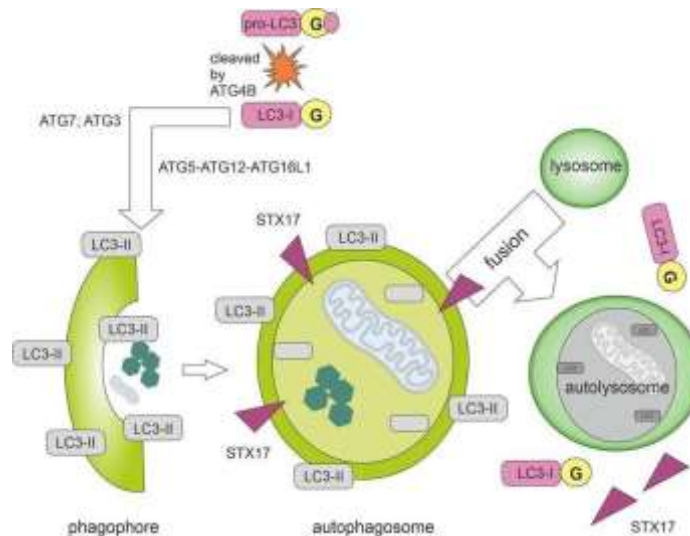
Homolog LC3B pada ragi yaitu ATG8. Pada manusia terdapat tiga ortolog ATG8 yaitu LC3A, LC3B, LC3C yang dikodekan oleh masing-masing MAP1LC3.^{21,22} Protein ATG8 berperan dalam pembentukan, pemanjangan, dan penutupan autofagosom, serta fusi dengan lisosom.¹

2.2.2 Peran LC3B Terhadap Autofagi

LC3B berfungsi sebagai penanda jika autofagosom dihasilkan pada proses autofagi. Gen LC3B terletak di kromosom-16 pada *Homo Sapiens*. Pengikatan protein LC3 terkait mikrotubulus dan sistem reaksi pengikatan ATG12 dan ATG5 terlibat dalam pembentukan autofagosom. Dalam sistem pengikatan LC3 akan terlibat dalam pemanjangan dan penutupan membran autofagosom dengan mengikat *phosphatidylethanolamine* (PE) yang disebut dengan tahap ekspansi. Kemudian LC3 yang dilipidisasi secara selektif akan mendegradasi substrat spesifik dengan berinteraksi oleh banyak reseptor autofagi selektif.¹⁸

Setelah nukleasi selesai, maka autofagi akan masuk pada tahap ekspansi. LC3. LC3 dibagi menjadi dua bentuk yaitu LC3-I yang terletak di sitoplasma dan yang lainnya terkonjugasi menjadi *phosphatidylethanolamine* (PE) dalam autofagosom yang dibatasi membran sebagai LC3-II. Studi menemukan bahwa kelimpahan LC3-II dikaitkan dengan tingkat pembentukan autofagosom.²³ Dalam proses pembentukan autofagosom, terjadi proses konversi dari LC3-I menjadi LC3-II yang diatur oleh Atg4, Atg3 dan Atg7.¹⁴

Berbagai modifikasi biologis diperlukan untuk beralih dari LC3-II yang belum matang menjadi LC3-II yang matang. Kemudian LC3 akan berikatan dengan membran autofagosom menjadi penanda atas terbentuknya autofagosom. Akhirnya, di bawah aksi ATG4B, LC3II dipisahkan dari PE dan menyelesaikan seluruh proses pematangan dan degradasi LC3.¹⁴



Gambar 2. 3 Proses modifikasi dan pematangan LC3B pada pembentukan autofagosom.²⁴

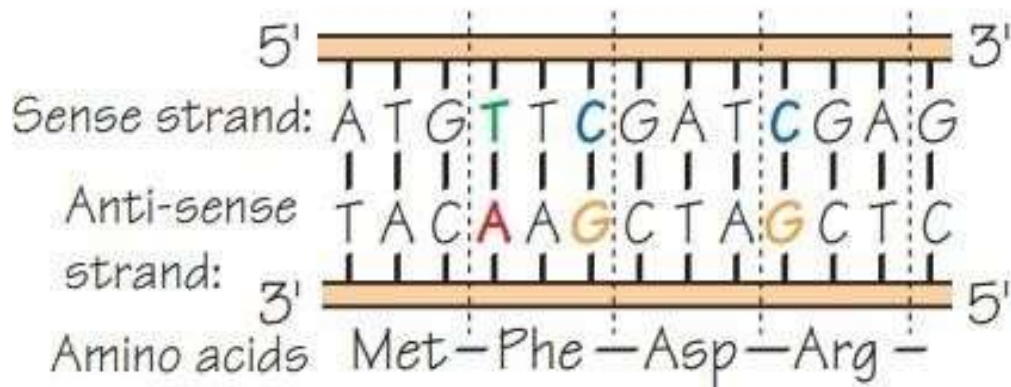
Sumber: Raudenska M, et al., 2021

2.3 Variasi Genetik

Variasi genetik terjadi karena adanya mutasi dan rekombinasi. Mutasi adalah perubahan pada urutan nukleotida DNA dan dapat diwariskan pada suatu organisme sehingga akan menghasilkan keragaman variasi genetik. Terdapat empat basa nitrogen yang merupakan unit pembentuk DNA yaitu adenin (A), guanin (G), sitosin (C), dan timin (T).¹⁶

Variasi genetik dalam gen memiliki keterlibatan besar terhadap penyakit yang berdampak pada respon imun bawaan dan respon imun adaptif. Sejumlah karakteristik gen telah terbukti terkait dengan mutabilitas. Gen dengan tingkat ekspresi yang tinggi lebih berpotensi mengalami frekuensi mutasi somatik. Panjang gen telah terbukti berkorelasi dengan penggunaan kodon selektif (komposisi nukleotida) sedangkan waktu replikasi

berkorelasi dengan tingkat ekspresi gen.^{5,6} Hal ini berkaitan dengan beberapa kondisi penyakit seperti gangguan neurodegeneratif, nefropati dan diabetes.²⁵



Gambar 2. 4 Pasangan urutan asam amino pada sekuens normal.¹⁶

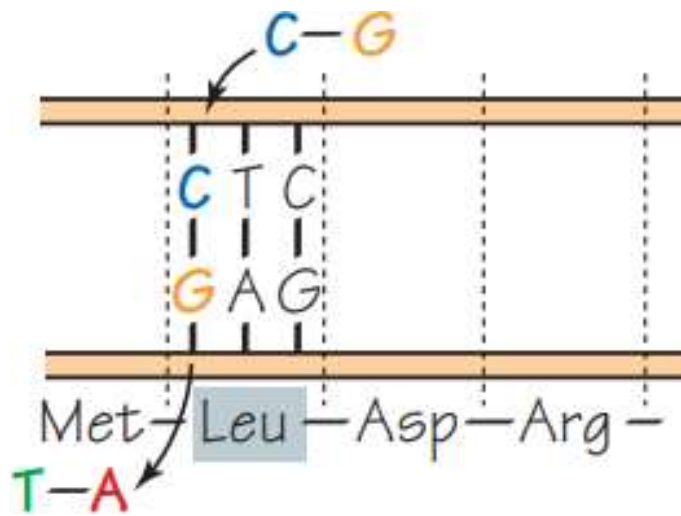
Sumber: Pritchard, Dorian J. KB. 2013

2.3.1 Mutasi Gen

Mutasi adalah modifikasi permanen dalam urutan dasar DNA yang melibatkan substitusi, penghapusan, atau penyisipan. Perubahan purin menjadi purin yang lain atau pirimidin dengan pirimidin yang lain adalah transisi, pertukaran purin dan pirimidin adalah transversasi. Pada tingkat gen, mutasi melibatkan puluhan hingga ribuan basis. Pada tingkat genom, mutasi mencakup penghapusan atau duplikasi ratusan ribu hingga jutaan basa, hingga penataan ulang kromosom dan aneuploidi.¹⁶ Deteksi mutasi genetik yang cepat dan tepat sebagai biomarker berbagai penyakit juga sangat penting untuk pemilihan pengobatan yang efektif.⁷

Adapun jenis-jenis dari mutasi genetik, yaitu:

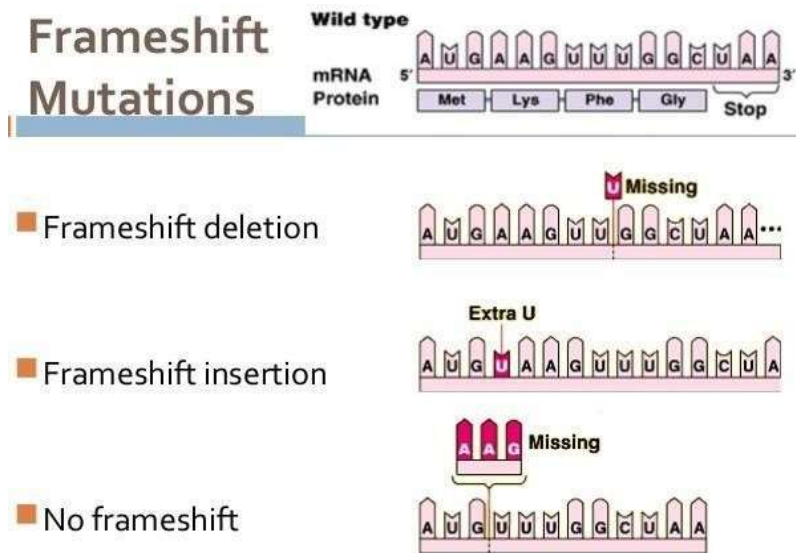
- a. *Missense mutation* adalah perubahan DNA yang dikodekan pada posisi tertentu dalam protein yang dihasilkan sehingga dapat mengubah sifat kimia protein dan memiliki efek yang merusak.¹⁶



Gambar 2. 5 Pasangan urutan asam amino pada sekuens mutasi Missense.¹⁶

Sumber: Pritchard, Dorian J. KB. 2013

- b. *Frameshift mutation* adalah mutasi yang terjadi akibat penambahan atau hilangnya nukleotida pada suatu gen sehingga akan menimbulkan pergeseran kerangka pembacaan. Penerjemahan kode genetik dimulai pada mRNA, kemudian diterjemahkan sebagai tiga basa yang berurutan.²⁶



Gambar 2. 6 Urutan asam amino mutasi *Frameshift*²⁶

Sumber: Warmadewi DA. 2017

2.4 Kelainan yang Timbul Akibat Variasi Genetik Gen LC3B Pada Autofagi

1. Pada tahap awal perkembangan tumor, autofagi bertindak sebagai penekan tumor dengan cara membuang protein dan organel yang rusak. Mutasi gen pada autofagi merupakan tahap awal perkembangan tumor. Mutasi secara signifikan mengurangi interaksi dengan ATG7, sehingga hal ini mengakibatkan adanya gangguan selektif dalam pengikatan LC3B ke beberapa protein. Dengan mutasi ini maka akan menurunkan aktifitas autofagi sehingga meningkatkan tahap awal perkembangan tumor. Adanya mutasi pada gen akan menekan pembentukan dan melemahkan homeostasis lipid LC3B. Penekanan pengikatan LC3B dengan ATG7 dapat mencegah terjadinya proses autofagi sehingga mempercepat perkembangan tumor.²⁷

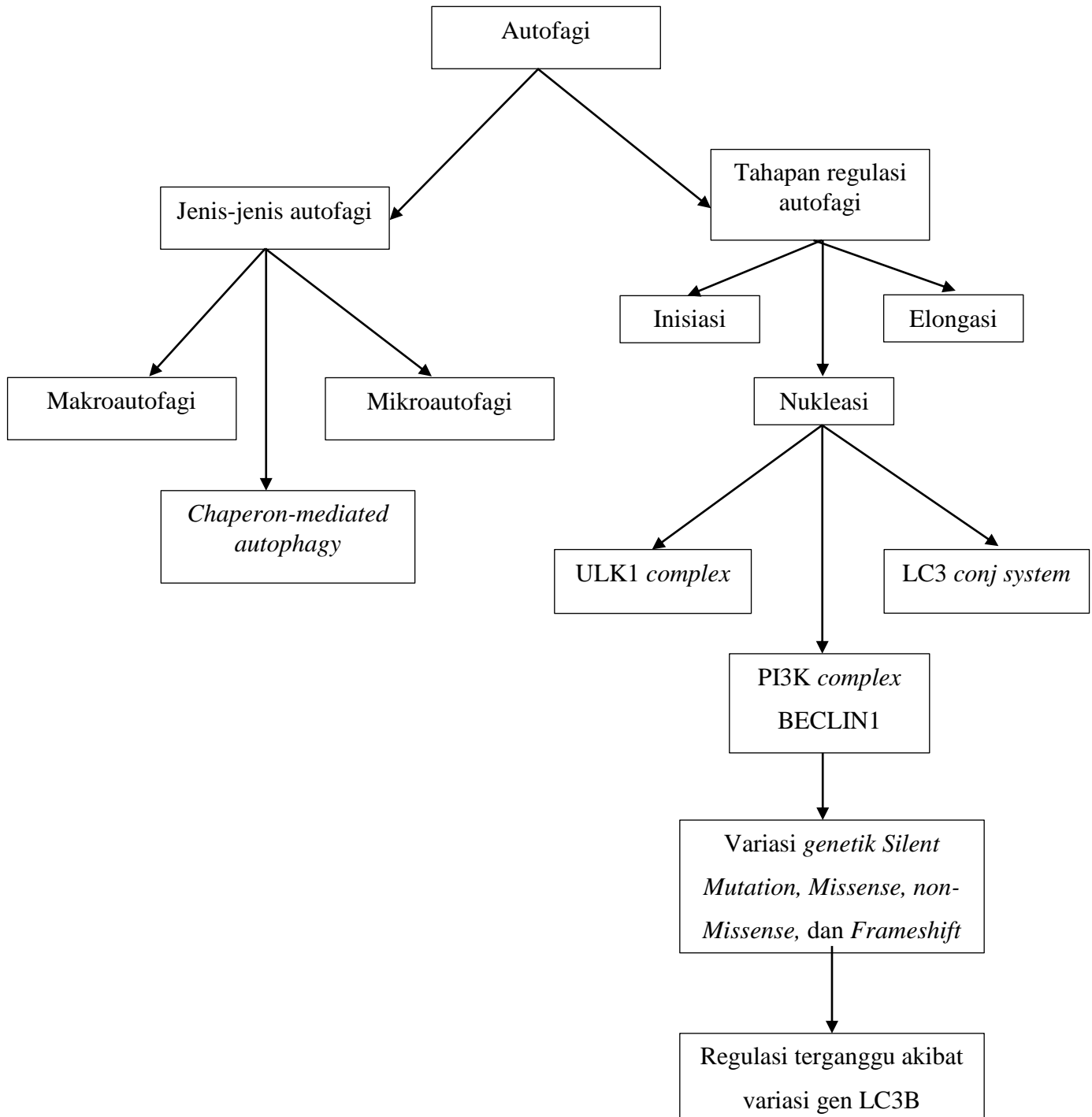
Misalnya, penyakit Von Hippel-Lindau (VHL) adalah sindrom tumor yang diturunkan secara dominan autosomal. Penyakit ini ditandai dengan pertumbuhan kista dan tumor. Salah satu lesi yang terjadi pada penyakit VHL yaitu berkaitan dengan penyakit *Renal Cell Carcinoma* (RCC).²⁸ Ekspresi VHL menurun secara signifikan pada RCC. Hal ini berkaitan dengan autofagi yang terlibat dalam proses pertumbuhan tumor, invasi, diferensiasi, dan metastasis tumor. Ekspresi VHL dan protein LC3B berkorelasi terbalik untuk tumor jaringan RCC. Autofagi akan menginduksi kematian sel dengan meningkatkan sinyal apoptosis pada sel RCC. Hal ini berhubungan dengan perkembangan tumor sehingga menunjukkan bahwa VHL menekan pembentukan autofagosom yang dimediasi LC3B.²⁹

2. Respon autofagi yang tidak teregulasi dengan baik akan meningkatkan resiko timbulnya Penyakit Paru Obstruktif Kronik (PPOK). LC3B sendiri merupakan pengatur utama fungsi sel silia. Perangsangan sel epitel saluran napas PPOK dengan interleukin-13 (IL-13) dapat menyebabkan kerusakan fungsional, seperti proliferasi sel mukosa, berkurangnya panjang silia, dan penurunan ekspresi LC3B. Pada keadaan normal LC3B sangat diekspresikan dalam sel silia, sedangkan pada sel basal dan sel goblet ekspresinya akan lebih rendah. LC3B menunjukkan potensi yang cukup besar untuk mengatur diferensiasi sel pada penderita PPOK. Oleh karena itu, diferensiasi sel pernafasan akan mempengaruhi penilaian derajat autofagi. Dalam hal ini dijumpai perbedaan yang signifikan

ekspresi LC3B antara inti sel normal dengan penderita PPOK.³⁰

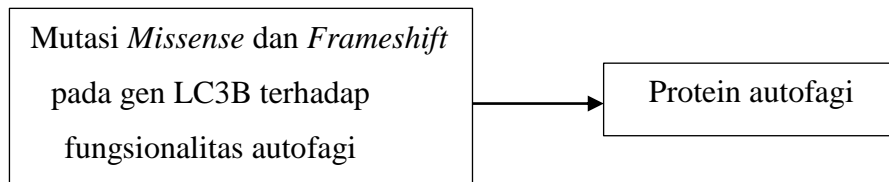
3. Selama jalur autofagi selektif berjalan, yaitu mitofagi maka reseptor autofagi akan mengikat protein famili ATG8 termasuk subfamili MAP1LC3/LC3 dan GABARAP melalui motif *LC3-interacting region* (LIR). Dengan bantuan protein famili ATG8 berupa reseptor autofagi selektif, yaitu optineurine (OPTN) dan Nuklear Dot Protein 52 kDa (NDP52) menghubungkan *Outer Mitochondrial Membrane* (OMM) ke membran autofagosomal. Hal ini memainkan peran penting dalam penyakit neurodegeneratif yaitu *Alzheimer disease* yang berkaitan dengan MAP1LC3B/LC3B.³¹ OPTN dan NDP52 serta adaptor autofagi lainnya terlibat dalam perekrutan protein LC3 terkait autofagosom. Protein PARKIN secara selektif direkrut dari sitosol dan ikut serta dalam proses degradasi mitokondria yang rusak. PARKIN menghubungkan adaptor IMM dan protein PHB2 untuk merekrut autofagosom dengan mengikat protein LC3B, yang memungkinkan terjadinya degradasi mitokondria yang cacat secara langsung di dalam lisosom.³² Dengan keterlibatan LC3 maka akan mempercepat pembersihan mitokondria yang rusak melalui autofagi. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa adanya mutasi LC3B dapat menghambat proses degradasi mitokondria sehingga beresiko menyebabkan *Alzheimer disease*.³¹

2.5 Kerangka Teori



Gambar 2. 7 Kerangka teori

2.6 Kerangka Konsep



Gambar 2. 8 Kerangka konsep

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Definisi Operasional

Tabel 3. 1 Definisi operasional

No	Variabel	Definisi Operasional	Alat Ukur	Skala	Hasil
1.	Gen LC3B	Merupakan penanda aktifitas autofagi pada tahap elongasi	Database NCBI	Nominal	Sekuens
2.	Variasi genetik LC3B	Mutasi pada urutan DNA sehingga menyebabkan kelainan pada suatu organisme	SIFT dan PolyPhen-2	Nominal	Missense dan Frameshift
3.	Dampak kefatalan mutasi	Dampak yang ditimbulkan dari variasi genetik	SIFT dan PolyPhen-2	Ordinal	SIFT (Deleterious, Tolerated) dan PolyPhen-2 (Probably Damaging, Possibly Damaging, benign)
4.	Persentase dampak kefatalan mutasi Range	Persentase dari jumlah prediksi kefatalan setelah dianalisis menggunakan piranti lunak SIFT dan PolyPhen-2	SIFT dan PolyPhen-2	Ordinal	Persentase SIFT (0,00-

5.	dampak kefatalan	Rentang skor dari piranti PolyPhen-2 lunak SIFT dan PolyPhen-2	0,05): Deleterious, >0,05-1,00: Tolerated) PolyPhen-2: rentang skor ditentukan dari hasil piranti lunak
----	---------------------	--	---

3.2 Desain Penelitian

Jenis penelitian ini adalah deskriptif observasional dengan analisa bioinformatika untuk memprediksi tingkat kefatalan mutasi *Missense* dan *Frameshift* pada gen LC3B terhadap fungsionalitas protein autofagi.

3.3 Waktu dan Tempat Penelitian

3.3.1 Waktu

Penelitian ini dilakukan pada bulan Juli 2023 – November 2023 dengan mengambil data variasi genetik gen LC3B dari *database National Centre For Biotechnology Information* (NCBI).

Tabel 3. 2 Waktu penelitian

No	Kegiatan	Bulan					
		Juni 2023	Juli 2023	Agustus 2023	September 2023	Oktober 2023	November 2023
1.	Pembuatan Proposal						
2.	Sidang Proposal						
3.	Persiapan Sampel Penelitian						
4.	Penelitian						
5.	Penyusunan Data Dan Hasil Penelitian						
6.	Analisis Data						
7.	Pembuatan Laporan Hasil						

3.3.2 Tempat

Penelitian ini dilakukan di Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara dengan mengambil data mutasi *Missense* dan *Frameshift* gen LC3B dari *database National Centre for Biotechnology Information (NCBI)*.

3.4 Populasi dan Sampel Penelitian

3.4.1 Populasi

Populasi yang digunakan berasal dari *database* yang berisi mutasi *Missense* dan *Frameshift* pada gen LC3B pada *database* NCBI dbSNP <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp>.

3.4.2 Sampel

Sampel yang digunakan adalah data mutasi *Missense* dan *Frameshift* gen LC3B pada *database* NCBI dbSNP <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp> yang

memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi.

A. Kriteria inklusi

- 1) Merupakan spesies *Homo sapiens*.
- 2) Merupakan kategori mutasi *Missense*.
- 3) Merupakan kategori mutasi *Frameshift*.
- 4) NCBI, database yang digunakan untuk mengambil *sequence reference* gen.
- 5) UniProt, database yang digunakan untuk mengambil *sekuens reference* protein.

B. Kriteria eksklusi

- 1) Mutasi intron, mutasi yang tidak merubah basa nukleotida.
- 2) Mutrasi inframe, terjadi perubahan basa nukleotida tetapi tidak merubah pembacaan kodon.

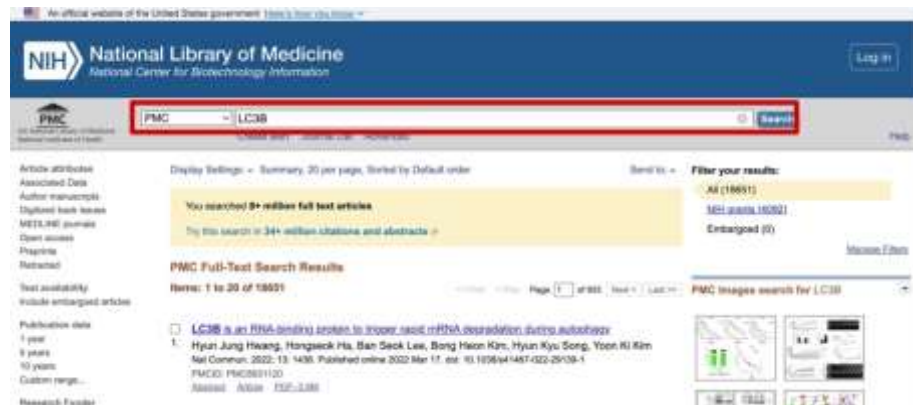
3.4.3 Teknik Pengambilan Sampel

Teknik pengambilan sampel yang digunakan pada penelitian ini menggunakan teknik *purposive sampling* dengan pengambilan sampel *non-randomized*. Setelah dihitung besar sampel menggunakan rumus Slovin didapatkan hasil 98 sampel. Maka, pada penelitian ini angka sampel dibulatkan menjadi 100 sampel variasi *missense* yang diambil dari sbSNP secara urut dimulai dari sampel nomor 1 s/d 100. Varian *Frameshift* didapati sebanyak 10 sampel pada dbSNP, tetapi pada urutan ke 1, 4, 5, 6, dan 10 tidak dapat diprediksi “*error*” sehingga hanya diambil 5 sampel.

3.4.4 Cara Pengambilan Sampel

a. Mutasi Missense

1. Membuka internet dengan menggunakan situs informasi bioteknologi yaitu *National Centre for Biotechnology Information* (NCBI).
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp>
2. Memasukkan kata kunci berupa gen LC3B di kolom pencarian.



3. Ubah kotak yang terdapat di sebelah kolom pencarian menjadi Gen untuk memfilter dan mengisi LC3B di kolom pencarian.



4. Pilih **MAP1LC3B** *homo sapiens* (kromosom 16).



5. lalu bagian filter sebelah kanan klik SNP, maka akan dijumpai populasi sebanyak 4.847 populasi.

6. Lalu mengisi MAP1LC3B pada kolom pencarian kemudian memfilter dengan mengklik *missense* dibagian sebelah kiri, didapatkan 118.

7. Lalu diambil 100 sampel dari 118 pada variasi *missense* yang sudah sesuai dengan kriteria inklusi.

Jumlah populasi berasal dari database NCBI yang di akses pada tanggal 3 September 2023. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc>.

b. Mutasi Frameshift

1. Membuka internet dengan menggunakan situs informasi bioteknologi yaitu *National Centre for Biotechnology Information (NCBI)*.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp>

- Memasukkan kata kunci berupa LC3B didalam kolom pencarian dan mengubah kotak di sebelah kiri kolom pencarian menjadi Gen untuk memfilter, lalu klik cari.



- Kemudian pilih MAP1LC3B *homo sapiens* kromosom 16.

- Di bagian sebelah kanan klik SNP Gene Review.



- Setelah itu, di bagian sebelah kiri mengklik varian *Frameshift* untuk memfilter sampel.



- Didapati 10 sampel mutasi *Frameshift*. Tetapi pada urutan ke

1,4,5,6, dan 10 tidak dapat diprediksi “error” sehingga hanya diambil 5 sampel.

ID	Location	Date	Status
1
2
3
4
5

Jumlah sampel berasal dari database NCBI yang diakses pada tanggal 3 September 2023. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc>.

3.4.5 Besar Sampel

Pengambilan sampel dalam penelitian ini dihitung dengan rumus Slovin. Sehingga digunakan rumus:

$$n = \frac{N}{1 + N(e)^2}$$

Keterangan :

n : Besar sampel

N : Banyak populasi

e : batas toleransi kesalahan

$$n = \frac{4.847}{1 + 4.847(0,10)^2}$$

$$n = \frac{4.847}{1 + 4.847(0,01)}$$

$$n = \frac{4.847}{1 + 48,47}$$

$$n = 98 \text{ sampel}$$

Jadi sampel yang didapat yaitu sebanyak 98 sampel.

3.5 Teknik Pengumpulan Data

Pengumpulan data pada penelitian ini dengan cara pengambilan ataupun pencatat data yang diperoleh dari NCBI dbSNP yang memenuhi kriteria inklusi.

3.6 Pengolahan dan Analisis Data

3.6.1 Pengolahan Data

Data yang dikumpulkan akan diolah melalui beberapa tahapan-tahapan antara lain:

a. Editing

Memeriksa ketepatan dan kelengkapan data.

b. Coding

Data yang terkumpul dikoreksi ketepatan dan kelengkapannya kemudian diberi kode untuk proses analisis di computer

c. Entry

Memasukkan data ke dalam perangkat komputer.

d. Cleaning Data

Pemeriksaan semua data yang telah dimasukkan untuk menghindari kesalahan dalam pemasukkan data.

e. Saving

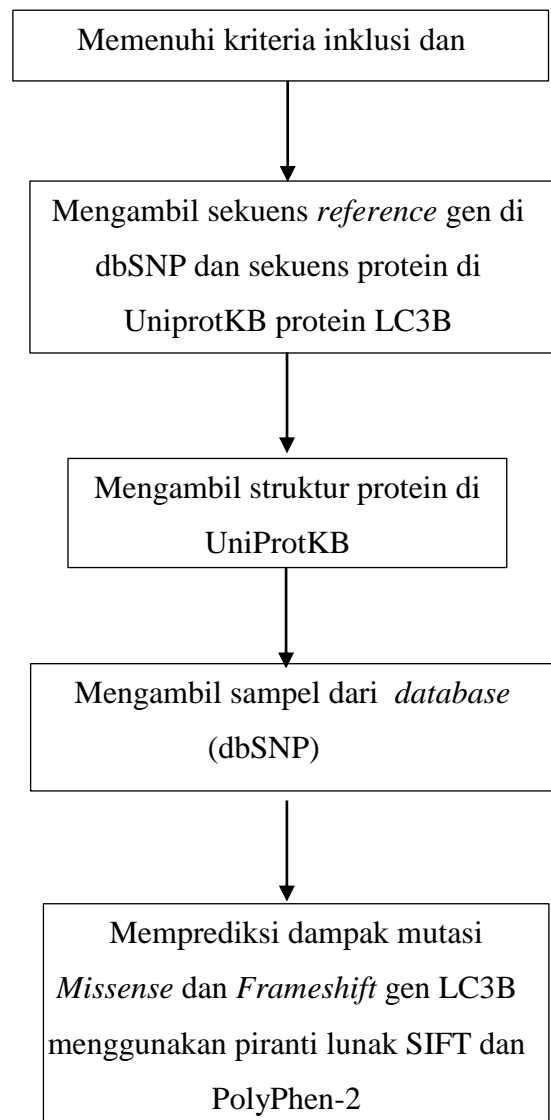
Penyimpanan data yang akan dianalisis

3.6.2 Analisis data

Analisis data yang digunakan dalam penelitian ini adalah analisis data kuantitatif dengan statistik deskriptif. Data yang diperoleh kemudian disajikan dalam bentuk narasi dan tabel distribusi frekuensi.

Setelah data dianalisis dengan piranti lunak, maka akan diketahui skor kefatalan dari mutasi genetiknya. Hasil skor tersebut akan diolah dengan program *Microsoft excel* dan disesuaikan dengan statistik deskriptif untuk diinterpretasikan ke dalam bentuk persentase yang dikategorikan, kemudian disajikan dengan narasi, dan *pie chart* sebagai visualisasi dari tabel.

3.7 Alur Penelitian



Gambar 3. 1 Alur Penelitian

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

Peneliti menggunakan sampel data gen LC3B dengan variasi mutasi *Missense* dan *Frameshift* yang diperoleh dari database NCBI (*National Centre for Biotechnology Information*) dbSNP. Distribusi sampel yaitu sejumlah 105 database, dengan 100 mutasi tipe *Missense* dan 5 mutasi tipe *Frameshift* yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi untuk dilakukan penelitian. *Database* akan dimasukkan ke dalam perangkat lunak SIFT (*Sorting Intolerant From Tolerant*) dan PolyPhen-2 (*Polymorphism Phenotyping v2*) untuk melihat tingkat kefatalan dari mutasi genetiknya.

4.1.1 Analisis Prediksi Mutasi *Missense* dan *Frameshift* Gen LC3B dengan Perangkat Lunak SIFT dan PolyPhen-2

Variasi genetik yang digunakan peneliti merupakan gen LC3B dengan jenis mutasi *Missense* dan *Frameshift* dengan total 105 sampel. *Database* dari mutasi *Missense* dan *Frameshift* kemudian dimasukkan ke dalam perangkat lunak SIFT dan PolyPhen-2 untuk dilihat skor dan persentase kefatalannya. Setelah dilakukan analisis menggunakan kedua perangkat lunak tersebut, maka didapatkan interpretasi hasil berdasarkan perangkat lunak yang digunakan, yaitu; SIFT (*Deleterious dan Tolerated*), dan PolyPhen-2 (*Probably Damaging, Possibly Damaging, Beningn*).

1. Hasil Analisis Perangkat Lunak SIFT

Tabel 4. 1 Hasil prediksi tingkat kefatalan mutasi *Missense* dengan perangkat lunak SIFT

Skor	Efek Mutasi	Jumlah Sampel	Persentase (%)
0.00-0.04	Deleterious	55	55
0.05-1.00	Tolerated	45	45
Total		100	100

Berdasarkan hasil penelitian pada Tabel 4.1, mutasi *Missense* yang dianalisis dengan SIFT menunjukkan bahwa 55% sampel bersifat *Deleterious* dan 45% sampel bersifat *Tolerated*. Jika suatu asam amino pada urutan protein digantikan oleh asam amino lain, maka urutan rangkaian protein tersebut akan berubah dan akan mempengaruhi fungsi protein tersebut. Sampel dengan hasil *Deleterious* akan mempengaruhi fungsi protein sehingga tidak berfungsi dengan normal. Sedangkan sampel dengan hasil *Tolerated* diduga tidak mempengaruhi fungsi protein. Skor kefatalan pada perangkat lunak SIFT dapat dilihat pada Tabel 4.1.

Tabel 4. 2 Hasil analisis prediksi mutasi *Frameshift* dengan perangkat lunak SIFT

Skor	Efek Mutasi	Jumlah Sampel	Persentase (%)
0.00-0.04	Deleterious	1	20
0.05-1.00	Tolerated	4	80
Total		5	100

Berdasarkan hasil penelitian pada Tabel 4.2, mutasi *Frameshift* yang dianalisis dengan SIFT menunjukkan bahwa 80% sampel bersifat *Tolerated* dan 20% sampel bersifat *Deleterious*. Jika suatu asam amino pada urutan rangkaian protein digantikan oleh asam amino lain, maka urutan rangkaian protein tersebut akan berubah dan hal ini diperkirakan dapat mempengaruhi fungsi protein tersebut. Sampel dengan hasil *Deleterious* diperkirakan dapat mempengaruhi fungsi dari protein sehingga tidak dapat berfungsi dengan normal. Sedangkan

sampel dengan hasil *Tolerated* diduga tidak mempengaruhi fungsi protein. Skor kefatalan pada perangkat lunak SIFT dapat dilihat pada Tabel 4.2.

2. Hasil Analisis Perangkat Lunak PolyPhen-2

Tabel 4. 3 Hasil analisis prediksi mutasi *Missense* dengan piranti lunak PolyPhen-2

Skor	Efek Mutasi	Jumlah Sampel	Persentase (%)
0,000-0,336	Benign	45	45
0,500-0,899	Possibly Damaging	15	15
0,946-1,000	Probably Damaging	40	40
Total		100	100

Berdasarkan hasil penelitian yang disajikan pada Tabel 4.3 menunjukkan bahwa mutasi *Missense* yang telah dianalisis dengan perangkat lunak PolyPhen-2 diperoleh hasil 45% *Benign*, 15% *Possibly Damaging*, dan 40% *Probably Damaging*. Oleh karena itu, menurut hasil analisis diatas, sampel dengan hasil *benign* tidak mempengaruhi fungsi protein, hasil *Possibly Damaging* diperkirakan dapat mempengaruhi fungsi protein dan mungkin juga tidak mempengaruhi fungsi protein, dan hasil *Probably Damaging* akan mempengaruhi fungsi protein dan tidak berfungsi dengan normal, sehingga hal ini dapat mengganggu regulasi autofagi.

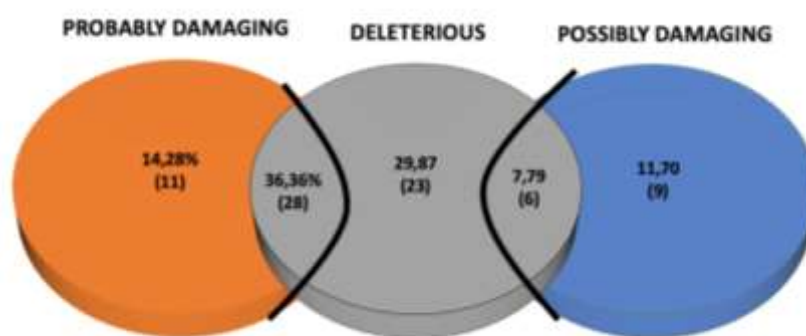
Tabel 4. 4 Hasil analisis prediksi mutasi *Frameshift* dengan perangkat lunak

Skor	Efek Mutasi	Jumlah Sampel	Persentase (%)
0,000-0,011	Benign	1	20
0,851-0,974	Possibly Damaging	2	40
0,975-1,000	Probably Damaging	2	40
Total		5	100

Berdasarkan hasil penelitian yang disajikan pada Tabel 4.4 menunjukkan bahwa mutasi *Frameshift* yang telah dianalisis menggunakan perangkat lunak

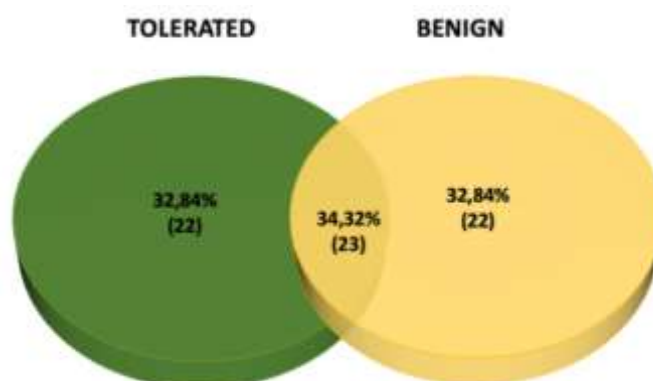
PolyPhen-2 diperoleh hasil 20% *Benign*, 40% *Possibly Damaging*, dan 40% *Probably damaging*. Maka sesuai hasil analisis diatas, sampel dengan hasil *Benign* tidak mempengaruhi fungsi protein, hasil *Possibly Damaging* diperkirakan dapat mempengaruhi fungsi protein dan mungkin juga tidak mempengaruhi fungsi protein, dan hasil *Probably Damaging* dapat mempengaruhi fungsi protein dan tidak berfungsi dengan normal, sehingga hal ini dapat mengganggu regulasi autofagi.

4.1.2 Analisis prediksi mutasi *Missense* gen LC3B yang tergolong fatal dan tidak fatal berdasarkan perangkat lunak SIFT dan PolyPhen-2



Gambar 4. 1 Hasil analisis sampel *Missense* gen LC3B yang tergolong fatal berdasarkan persilangan perangkat lunak SIFT dan PolyPhen-2

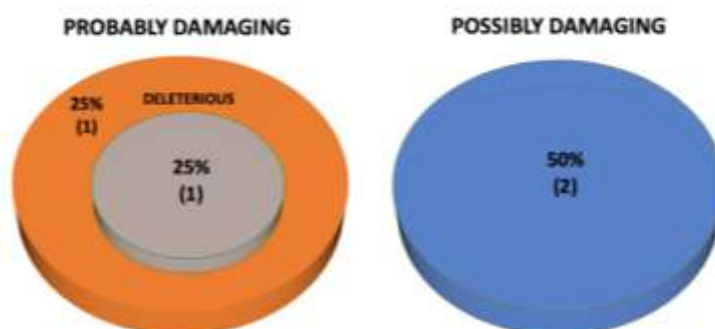
Berdasarkan pada software SIFT prediksi kefatalannya yaitu *Deleterious*, sedangkan PolyPhen-2 prediksi kefatalannya yaitu *Probably Damaging* dan *Possibly Damaging*. Berdasarkan hasil penelitian yang disajikan pada gambar 4.5 telah diperoleh hasil analisis persilangan dari sampel mutasi *Missense* berdasarkan dua perangkat lunak yang digunakan. Sampel dari hasil persilangan kedua perangkat lunak tersebut masuk pada tingkat kefatalan. Terlihat pada gambar bahwa 36,36% (28 sampel) dari *Deleterious* di SIFT juga merupakan *Probably Damaging* di PolyPhen-2, sedangkan 7,79% (6 sampel) dari *Deleterious* di SIFT juga merupakan *Possibly Damaging* di PolyPhen-2. Data cross dari sampel mutasi *Missense* berdasarkan kedua perangkat lunak terdapat di lampiran 3.



Gambar 4. 2 Hasil analisis sampel Missense gen LC3B yang tergolong tidak fatal berdasarkan persilangan perangkat lunak SIFT dan PolyPhen-2

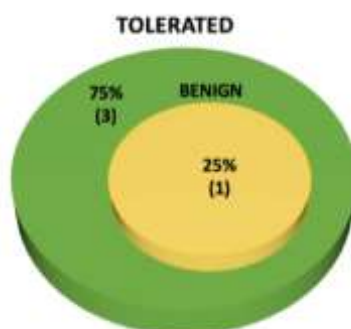
Berdasarkan pada software SIFT hasil prediksi ketidak fatalannya yaitu *Tolerated*, sedangkan PolyPhen-2 hasil prediksinya yaitu *Benign*. Berdasarkan hasil penelitian yang disajikan pada gambar 4.6 telah diperoleh hasil analisis persilangan dari sampel mutasi *Missense* berdasarkan kedua perangkat lunak yang digunakan. Sampel dari hasil persilangan kedua perangkat lunak tersebut masuk pada tingkat ketidak fatalan. Terlihat pada gambar bahwa 34,32% (23 sampel) merupakan mutasi yang tidak fatal dengan hasil analisis kedua perangkat lunak SIFT dan PolyPhen-2. Data cross dari sampel mutasi *Missense* berdasarkan kedua perangkat lunak terdapat di lampiran 3.

4.1.3 Analisis prediksi mutasi *Frameshift* gen LC3B yang tergolong fatal dan tidak fatal berdasarkan perangkat lunak SIFT dan PolyPhen-2



Gambar 4. 3 Hasil analisis sampel Frameshift gen LC3B yang tergolong fatal berdasarkan persilangan perangkat lunak SIFT dan PolyPhen-2

Berdasarkan pada perangkat lunak SIFT prediksi kefatalannya yaitu *Deleterious*, sedangkan PolyPhen-2 prediksi kefatalannya yaitu *Probably Damaging* dan *Possibly Damaging*. Berdasarkan hasil penelitian yang disajikan pada gambar 4.7 telah diperoleh hasil analisis persilangan dari sampel mutasi *Frameshift* berdasarkan dua perangkat lunak yang digunakan. Sampel dari hasil persilangan kedua perangkat lunak tersebut masuk pada tingkat kefatalan. Terlihat pada gambar bahwa 25% (1 sampel) dari *Deleterious* di SIFT juga merupakan *Probably Damaging* di PolyPhen-2, sedangkan tidak dijumpai data perpotongan antara *Deleterious* pada SIFT dan *Possibly Damaging* pada PolyPhen-2. Data cross dari sampel mutasi *Frameshift* berdasarkan kedua perangkat lunak terdapat di lampiran 3.



Gambar 4. 4 Hasil analisis sampel Frameshift gen LC3B yang tergolong tidak fatal berdasarkan persilangan perangkat lunak SIFT dan PolyPhen-2.

Berdasarkan pada software SIFT prediksi ketidak fatalannya yaitu *Tolerated*, sedangkan PolyPhen-2 prediksi kefatalannya yaitu *Benign*. Berdasarkan hasil penelitian yang disajikan pada gambar 4.8 telah diperoleh hasil analisis persilangan dari sampel mutasi *Missense* berdasarkan dua perangkat lunak yang digunakan. Sampel dari hasil persilangan kedua perangkat lunak tersebut masuk pada tingkat ketidak fatalan. Terlihat pada gambar bahwa 25% (1 sampel) merupakan hasil irisan mutasi yang tidak fatal dengan hasil analisis kedua perangkat lunak SIFT dan PolyPhen-2. Data cross dari sampel mutasi *Frameshift* berdasarkan kedua perangkat lunak terdapat di lampiran 3.

4.2 Pembahasan

Gen LC3B Terdapat total 4841 SNPs dengan berbagai macam tipe variasi genetik yang ada pada gen LC3B. Data variasi genetik pada gen LC3B homo sapiens diambil dari database NCBI dbSNP. Tipe variasi genetik yang digunakan pada penelitian ini yaitu Missense dan Frameshift. Setelah dilakukan penghitungan jumlah sampel yang digunakan menggunakan rumus Slovin hasil yang didapatkan yaitu minimal 98 sampel dari total populasi variasi genetik gen LC3B. Dari hasil identifikasi variasi genetik diatas diperoleh dua tipe mutasi dengan total 105 sampel yaitu Missense sebanyak 100 sampel dan Frameshift sebanyak 5 sampel.

Pada hasil analisis karakteristik dampak variasi genetik mutasi missense pada gen LC3B pada penelitian ini dijumpai beberapa hasil mutasi yang dapat mengganggu kerja autofagi (55%). Hal ini sejalan dengan penelitian dari Burcu Aykac Fas *et al* yaitu didapatkan 28 mutasi missense pada LC3B yang ditemukan pada 13 jenis kanker yang berbeda. Hal ini menjelaskan bahwa beberapa mutasi missense pada LC3B membahayakan fungsi LC3B dan mempengaruhi autofagi sehingga dapat menyebabkan keadaan yang patologis.³³

Hasil penelitian Gal Chaim Nuta *et al* menggunakan pendekatan dengan mengidentifikasi 20 *point mutation* pada 12 gen autofagi yang diperiksa dalam *database Catalogue Of Somatic Mutations In Cancer (COSMIC)* tentang *point mutation* pada kanker. Dampak paling signifikan yang ditemukan pada tumor hati dan melanoma adalah mutasi *missense*. Terjadi perubahan asam amino tirosin menjadi sistein pada posisi 113 (Y113C) pada gen LC3B. Mutasi tersebut melemahkan lipisasi LC3B, menunjukkan bahwa substitusi asam amino tunggal ini mengganggu autofagi dengan mengurangi ikatan antara LC3B dengan protein ATG7. Dengan terganggunya ikatan tersebut pada autofagi maka akan memicu pembentukan, diferensiasi, dan metastasis tumor.³⁴

Berdasarkan penelitian lain yang dilakukan oleh Feyeza Sadia Laskar *et al*, hasil prediksi *deleterious* dapat menyebabkan kerusakan protein sehingga tidak bisa berfungsi secara normal sedangkan *Tolerated* tidak merusak protein. Untuk

perangkat lunak Polyphen-2 dengan hasil prediksi *Possibly Damaging* yaitu kemungkinan dapat merusak protein dan mungkin juga tidak merusak, hasil *Probably Damaging* dapat menyebabkan protein tersebut tidak bisa berfungsi secara normal karena adanya kerusakan pada protein tersebut yang disebabkan oleh mutasi pada asam amino, dan hasil prediksi *Benign* tidak merusak protein.³⁵

Penelitian ini menggunakan gen LC3B sebagai sampel dikarenakan gen LC3B berperan dalam terjadinya regulasi autofagi. Dari hasil penelitian di atas diperoleh bahwa gen LC3B dapat bermutasi seperti pada varian Missense dan Frameshift. Untuk mengetahui tingkat kefatalan variasi genetik dilakukan analisis dengan perangkat lunak SIFT dan PolyPhen-2 dengan hasil seperti di atas. Jika gen LC3B mengalami mutasi maka regulasi autofagi akan terganggu karena gen LC3B berperan dalam regulasi pada tahap elongasi.

Penelitian yang dilakukan oleh Mahalakshmi Kumaraguru et al, menggunakan gen CHRNA5 dengan mutasi missense telah dilakukan analisis prediksi menggunakan tiga perangkat lunak yaitu SIFT, PolyPhen-2, dan PROVEAN. Setelah dilakukan analisis maka didapatkan hasil persentase distribusi dari ketiga perangkat lunak yaitu sebanyak 83% (134) bersifat damaging dan 17% (27) bersifat not damaging.³⁶

Penelitian yang dilakukan oleh Zhang R et al, yaitu dengan menggunakan gen AKT1 untuk mengidentifikasi mutasi missense yang bersifat deleterious dan memprediksi efek fungsional dan struktural dari gen AKT1 yang mengalami mutasi dengan menggunakan beberapa perangkat lunak seperti PolyPhen-2, SIFT, PROVEAN, SNAP-2, Mutation Assesor, PANTHER, PON-P2, dan P-Mut. Pada penelitian tersebut mendapati hasil SNP mutasi Missense sebanyak 12 SNP yang bersifat deleterious sehingga dapat mempengaruhi struktur dan fungsi protein AKTI.³⁷

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan maka dapat disimpulkan penelitian adalah:

1. Berdasarkan hasil penelitian diperoleh mutasi *Missense* dan *Frameshift* yang dapat merusak maupun tidak merusak protein autofagi.
2. Berdasarkan hasil penelitian diperoleh tingkat kefatalan mutasi *Missense* dengan perangkat lunak SIFT yaitu sebanyak 55 sampel (55%) *Deleterious* serta 45 sampel (45%) *Tolerated*, dan untuk mutasi *Frameshift* sebanyak 1 sampel (20%) *Deleterious* serta 4 sampel (80%) *Tolerated*.
3. Berdasarkan hasil penelitian diperoleh hasil tingkat kefatalan mutasi *Missense* dengan perangkat lunak Polyphen-2 yaitu sebanyak 45 sampel (45%) *Benign*, 15 sampel (15%) *Possibly Damaging*, dan 40 sampel (40%) *Probably Damaging*, dan untuk mutasi *Frameshift* sebanyak 1 sampel (20%) *Benign*, 2 sampel (40%) *Possibly Damaging*, dan 2 sampel (40%) *Probably Damaging*.
4. Berdasarkan hasil penelitian menurut data cross kedua perangkat lunak SIFT dan Polyphen-2 yang tergolong fatal diperoleh sebanyak 23 sampel (29,87%) pada mutasi *Missense*, dan 1 sampel (25%) pada mutasi *Frameshift*.
5. Berdasarkan hasil penelitian menurut data cross kedua perangkat lunak SIFT dan Polyphen-2 yang tergolong tidak fatal diperoleh 23 sampel (34,32%) pada mutasi *Missense* dan 1 sampel (25%) pada mutasi *Frameshift*.

5.2 Saran

1. Penelitian menggunakan analisis bioinformatika ini sebagai landasan awal, sehingga perlu mendapatkan validasi dengan pendekatan metode eskperimental.
2. Penelitian ini perlu dianalisis dengan berbagai jenis perangkat lunak

yang lain untuk mengetahui struktural protein sehingga menjamin hasil validasi yang lebih akurat.

DAFTAR PUSTAKA

1. Li C, Wang L. TFEB-dependent autophagy is involved in scavenger receptor OLR1/LOX-1-mediated tumor progression. *Autophagy*. 2022;18(2):462-464. doi:10.1080/15548627.2021.2012970
2. Hwang HJ, Ha H, Lee BS, Kim BH, Song HK, Kim YK. LC3B is an RNA-binding protein to trigger rapid mRNA degradation during autophagy. *Nat Commun*. 2022;13(1):1-17. doi:10.1038/s41467-022-29139-1
3. Li X, He S, Ma B. Autophagy and autophagy-related proteins in cancer. *Mol Cancer*. 2020;19(1):1-16. doi:10.1186/s12943-020-1138-4
4. Alharbi Y, Bima A, Elsamanoudy A. An overview of the perspective of cellular autophagy: Mechanism, regulation, and the role of autophagy dysregulation in the pathogenesis of diseases. *J Microsc Ultrastruct*. 2021;9(2):47-54. doi:10.4103/JMAU.JMAU_33_20
5. McLaren PJ, Fellay J. HIV-1 and human genetic variation. *Nat Rev Genet*. 2021;22(10):645-657. doi:10.1038/s41576-021-00378-0
6. Eichler EE. Genetic Variation, Comparative Genomics, and the Diagnosis of Disease. *N Engl J Med*. 2019;381(1):64-74. doi:10.1056/nejmra1809315
7. Zhang Z, Miteva MA, Wang L, Alexov E. Analyzing effects of naturally occurring missense mutations. *Comput Math Methods Med*. 2012;2012. doi:10.1155/2012/805827
8. Wang X, Dong Q, Chen G, Zhang J, Liu Y, Cai Y. Frameshift and wild-type proteins are often highly similar because the genetic code and genomes were optimized for frameshift tolerance. *BMC Genomics*. 2022;23(1):1-15. doi:10.1186/s12864-022-08435-6
9. Sim NL, Kumar P, Hu J, Henikoff S, Schneider G, Ng PC. SIFT web server: Predicting effects of amino acid substitutions on proteins. *Nucleic Acids Res*. 2012;40(W1):452-457. doi:10.1093/nar/gks539
10. Adzhubei I, Jordan DM, Sunyaev SR. *Predicting Functional Effect of Human Missense Mutations Using PolyPhen-2*. Vol 2.; 2013. doi:10.1002/0471142905.hg0720s76
11. Jiang H, Xi H, Juhas M, Zhang Y. Biosensors for Point Mutation Detection.

- Front Bioeng Biotechnol.* 2021;9(December):1-13.
doi:10.3389/fbioe.2021.797831
12. Zhang Y, Guo R, Wang SS, et al. Autophagy-related Proteins in Genome Stability: Autophagy-Dependent and Independent Actions. *Int J Biol Sci.* 2022;18(14):5329-5344. doi:10.7150/ijbs.76134
 13. Gómez-Virgilio L, Silva-Lucero MDC, Flores-Morelos DS, et al. Autophagy: A Key Regulator of Homeostasis and Disease: An Overview of Molecular Mechanisms and Modulators. *Cells.* 2022;11(15):1-40. doi:10.3390/cells11152262
 14. Cao W, Li J, Yang K, Cao D. An overview of autophagy : Mechanism , regulation and research progress. *Bull Cancer.* 2021;108(3):304-322. doi:10.1016/j.bulcan.2020.11.004
 15. Cuervo AM. Chaperone-mediated autophagy: Selectivity pays off. *Trends Endocrinol Metab.* 2010;21(3):142-150. doi:10.1016/j.tem.2009.10.003
 16. Pritchard, Dorian J. KB. *Medical Genetics At A Glance (3rd Edition)*. 3rd ed. WILEY BLACKWELL; 2013.
 17. Nishimura T, Tooze SA. Emerging roles of ATG proteins and membrane lipids in autophagosome formation. *Cell Discov.* 2020;6(1). doi:10.1038/s41421-020-0161-3
 18. Ichimiya T, Yamakawa T, Hirano T, et al. Autophagy and autophagy-related diseases: A review. *Int J Mol Sci.* 2020;21(23):1-21. doi:10.3390/ijms21238974
 19. Klionsky DJ, Petroni G, Amaravadi RK, et al. Autophagy in major human diseases. *EMBO J.* 2021;40(19):1-64. doi:10.15252/embj.2021108863
 20. Acevo-Rodríguez PS, Maldonado G, Castro-Obregón S, Hernández G. Autophagy Regulation by the Translation Machinery and Its Implications in Cancer. *Front Oncol.* 2020;10(March):1-17. doi:10.3389/fonc.2020.00322
 21. Wesch N, Kirkin V, Rogov V V. Atg8-Family Proteins-Structural Features and Molecular Interactions in Autophagy and Beyond. *Cells.* 2020;9(9). doi:10.3390/cells9092008

22. Bonam SR, Bayry J, Tschan MP, Muller S. Progress and Challenges in The Use of MAP1LC3 as a Legitimate Marker for Measuring Dynamic Autophagy In Vivo. *Cells*. 2020;9(5). doi:10.3390/cells9051321
23. Wirth M, Zhang W, Razi M, et al. Molecular determinants regulating selective binding of autophagy adapters and receptors to ATG8 proteins. *Nat Commun*. 2019;10(1). doi:10.1038/s41467-019-10059-6
24. Li W, Zhang L. *Regulation of ATG and Autophagy Initiation*. Vol 1206.; 2019. doi:10.1007/978-981-15-0602-4_2
25. Raudenska M, Balvan J, Masarik M. Crosstalk between autophagy inhibitors and endosome-related secretory pathways: a challenge for autophagy-based treatment of solid cancers. *Mol Cancer*. 2021;20(1):1-28. doi:10.1186/s12943-021-01423-6
26. Klionsky DJ, Abdel-Aziz AK, Abdelfatah S, et al. Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring autophagy (4th edition)1. *Autophagy*. 2021;17(1):1-382. doi:10.1080/15548627.2020.1797280
27. Warmadewi DA. Buku Ajar Mutasi Genetik. *Mutasi Genet*. 2017;15 16(Mutasi):1-53.
28. Nuta GC, Gilad Y, Gershoni M, et al. A cancer associated somatic mutation in LC3B attenuates its binding to E1-like ATG7 protein and subsequent lipidation. *Autophagy*. 2019;15(3):438-452. doi:10.1080/15548627.2018.1525476
29. Vergauwen E, Koch CA, Kutikov A, Vortmeyer AO. Von Hippel-Lindau Disease: Current Challenges and Future Prospects. Published online 2020:5669-5690.
30. Kang HM, Noh KH, Chang TK, et al. Ubiquitination of MAP1LC3B by pVHL is associated with autophagy and cell death in renal cell carcinoma. *Cell Death Dis*. 2019;10(4). doi:10.1038/s41419-019-1520-6
31. Chen SL, Chou HC, Lin KC, et al. Investigation of the role of the autophagic protein LC3B in the regulation of human airway epithelium cell differentiation in COPD using a biomimetic model. *Mater Today Bio*. 2022;13(December 2021):100182. doi:10.1016/j.mtbio.2021.100182

32. Sun S, Hou H, Ma G, et al. The interaction between E3 ubiquitin ligase Parkin and mitophagy receptor PHB2 links inner mitochondrial membrane ubiquitination to efficient mitophagy. *J Biol Chem.* 2022;298(12):1-14. doi:10.1016/j.jbc.2022.102704
33. Fas BA, Maiani E, Sora V, et al. The conformational and mutational landscape of the ubiquitine like marker for autophagosome formation in cancer. *Autophagy.* 2021;17(10):2818-2841. doi:10.1080/15548627.2020.1847443
34. Nuta GC, Gilad Y, Gershoni M, et al. A cancer associated somatic mutations in LC3B attenuates its binding to E1-like ATG7 protein and subsequent lipidation. *Autophagy.* 2019;15(3):438-452. doi:10.1080/15548627.2018.1525476
35. Laskar FS, Bappy MNI, Hossain MS, et al. An in Silico Approach towards Finding the Cancer-Causing Mutations in Human MET Gene. *Int J Genomics.* 2023;2023. doi:10.1155/2023/9705159.
36. Kumaraguru M, L L, Priyadharsini V J, et al. (October 23, 2023) Identification of Pathogenic Missense Mutations in the CHRNA5 Gene: A Computational Approach. *Cureus* 15(10): e47519. doi:10.7759/cureus.47519
37. Zhang R, Akhtar N, Wani AK, Raza K, Kaushik V. Discovering Deleterious Single Nucleotide Polymorphisms of Human AKTI Oncogene: An In Silico Study. *Life.* 2023;13(7). doi:10.3390/life13071532

LAMPIRAN

Lampiran 1. *Sequence gen LC3B*

```

1 agagtcggat tcgcccgcgc agcagccgcg gcccccgga gccgccgga cctcgcgctc
61 gtcgcccgcg ccgcccgcga gatccctgca ccatgcccgc ggagaagacc ttcaagcagc
121 gccgcacctt cgggtgagtg cgcgcgagg gcggcgggtg cggcggggcc ggggtccgag
181 ctgtggaggg cggcagggcc tgggacgccc tgaggggtcg gggccgagcc gggaggccga
241 gcggggccgg tggctgcccg ccggcggggc cgagggatgc ggggcccggg gccccgtgag
301 ggaccaccgc cgggaccgag ccgggagggc caggggctgg tctggcccgg gccggcctgc
361 ggacctctcg gaggcctggg agggagcagc cggcgggggg cgggcccggg ccggtgctgc
421 cggggccccc ggccctgctga atcacccccg gccctccgcg gcgggggtgc tgccttacc
481 cggccaccgc ccccccgca agcgcgctgc gggcaggggt cgcgctctg gggcccaaca
541 gcccccgggg ccgctgctgg ccgttcggct ctgaagcggg gctgcccggg gaccagcgc
601 gtcaccctca gggctgggtt tcccgtcag ggagcccgc cgggtgagc tgccttacc
661 agacctcagt gccctggtcg agaggagggg aatgtgctgg gccccggcct cgcgcgccc
721 gggacggccc acagcgggtg tgccagttcc tgtctgtag ccaggagctg ggggtggaga
781 ctctcttgg gtattgcatc acgttctcac ctggcacca ggaataccga atacatccct
841 tttctgcccg ttcagactgg aaaccagct taggtgtgct gccatttggg taaacgtgca
901 ggtgtcacca tcacaatatt tactccaccg agatgatgag aagtgtattt tccccgtg
961 agcaagagaa cggccgagat ccaggatctc gtgtgtgctc aagttccaga caccggtttg
1021 gaagggaaag accgtgttca tcgcggtgga ctgcgaatgc ctgccgcat cctcgtcagg
1081 agcccacaca gtggtgctgt ttgtctgctt ttgcctagtt tcccggagtc tagaaaagag
1141 tttagcattca tttaggtttg gatatagttt tcagggtctc atfgaccatt atttttttc
1201 ttatgcttga gaaacttaag caaataaaa tggaccttag ctgcccaagc atacttttc
1261 agacagcctc ttgagcagat ccgttggtta gcaagactta cacgtgctt tttgttagt
1321 agtttcttg tttagtcact taatgaactc ttactgtag tgtctaggct tattgagccc
1381 tgagagcagc attaaagaca gattttcttt tcttttttat ttgagacag ggtctcactc
1441 tgtcaccctg cttggagtc agtgggtcaa tcacagccca ctgcagcctc gacctcccgg
1501 gctaaagcga tccagcggcc cccctcagac ctggctctg tttccaca tgaaaagtta
1561 actgggaaca tttatgtagg agagatgccc ttttctcat aacagaaact atagttattt
1621 tcttttttgc ttagtacttt tgggttattc tggaaaagtc tctgcgaaga gtgggtagta
1681 agggtaggaa atgtgagact aacacatccg aacaaggaat tctctggaac ctaaaagttg
1741 cctgagggtg agaccagcaa taatgcccc aTTTTtccc attgatgtat ggaccttcta
1801 tatactgata tttcagggtt tttcccttg gctcaccctt attttgccc cccccctta
1861 aatatctctt taatagtac ttgtagaaa tgtgtcaaat atcttaacag ctgttacctt
1921 tctttgcttc tgattttggt aataaaaaa aaaaatcttt ctagttcatg aatattttg
1981 taatgttagt catgagtagt gacagttttc agacatgtgt agcacagtaa gtgagggaaa
2041 tgaatcctta gagagaacct ctttatggag cctaagataa gccccagtta gctgagtg
2101 tgttttctct ttccaagtg gtgagtttaa ggttaatact gaatatagct ctgctgataa
2161 actctaccag gattgacagg gtctcaaaag ttgaaatgga ttttaaggct cactgaaaac
2221 aacgccttcc tttgtagct aaagaaaact ggtggggcct ggtgggtaag atcatggtc
2281 acctagtgcc agagtctgga ctggtaacct taacctggca tgaattcttc cagctcccag
2341 taggtagcca tcattccag tatattaagt ggaccaagac tgtgtgagtc aggagacata
2401 gtgtgtcctt ggagatgtgt tggaaatatt gaatgaactt caaaaattaa aattgtgtg
2461 ggcattgggtg ctcacacctg taatcccagc actttggggc gccaaaggcag gatcgctga
2521 gttggggagt tcaagaccag cctgggcaac atagtgagag ctcatctta ccaaaaaaag
2581 aaaccaaaac gacaaataag agttgttctg gtgtggccca ggccagcttt aactattggc
2641 actctcttct gttccacctt tggtttccca aagtcctggg attacaggty tgagccacca
2701 cgcctggcct gggggagggg gagtgtctca gtttctctc gagaagttaa tcttggaaaa
2761 tcttggaaaa actgaaattt tacttaaaat gactgaagat atctcaaaac aactttgcaa
2821 agaactgtgt cttaaaaaa ggacacctta ggctcctacc gttgtttta atgtttgtaa
2881 aggtctttaa ggatctttt tgttttagaa gaaaggaatc tggggaagca ggttagattt
2941 tgctgtgcat gttgagccgt gttcatttct gttttacagc tttcattcag ttgttgatga
3001 actctcttct gtgtacaagc ctgagccctg ggggacaca gattggactg gactgggtc
3061 ctgactgccc agcggggcag tctgttgaga aagacaaaaa cagatgatta cagcattagg
3121 aaacagggag taaaagactt gccctcttc tatgccattg actgtgctgt tgataatgct
3181 tttgttaaat atactgttag cctcaaaaac agctgtctcc tgaagaatga gagtggagca
3241 tccgtgtgta ccgtgtacag ccagttagtt actccagget cagcactgga tttcattgc
3301 tgctggacag cgtgctaaga tgctcctatg ggacttgggt gtattcttt acagcttaag
3361 gaagtaactt gtctttata tacttcccac ctttcatgaa aataatcatt tttgtcttt
3421 taggtcgtgt tttgggaata aatcaggata aagataactt taaacactat agttcagac
3481 tttgaaactt catagagcct gtttttctt tcttctctt ttttttttt ttttttttt
3541 tttgagacag gatctcgcgc tgtcaccag cctggagtg agtggcatga tctcagctca
3601 ctgcaacctc cgcctcctgg gttcaagtg tctcctgccc tttagcctct gtagctggtg
3661 gattacgggt gcccgccatc acgcccagct aatttttgta tttttagtaa agacaggggt
3721 tcaccgtgtt ggccaggtg gttcttaact cctgacctca ggtgatccgc ccgcttggc
3781 ctcccaaaag gctgggttta cgagcgtgag ccaccgacc cagccaaacc tagtttcta
3841 tattaaaaa atgtttccag ccgggtgtgg tggcacatgc ctgtaatccc aacattttg
3901 taggccaagg tggcggatc acaaggtcag gagattgaga ccatcctggc taaatgatg
3961 aaaccccgct tttactaaaa atacaaaaa ttagccgggc gtggtggcgg gcgcctgtag
4021 tcccagctac ttgggatgct gagggaggg aatggcatga acctgggagg cgtagcttgc
4081 agtgagcaga gatcgcgcca ctgactcca gctgagtgca cagagcaaga ctccatctca
4141 aaaaaaaa aaaaatctt tcccctctgc ctgaacgttt ctacttttag atttattagg
4201 ataagctttt aaatgtgaaa cattccagga tatatgaaag aggtatcact tattcgtg

```

4261 agtgaattaa atcgtgattt accctataca ctgaatccac actgacacaa tggacgtttt
 4321 tattgtgaag agggctctgg gtaggacagg cataggaaga tgtctcatac ttaggagagg
 4381 tgatgatgag gggctactga gaatctcgct gggaaagtaga gaaggagatca aaggataaga
 4441 gccactaggt taattttact gttaacaata gcgaaatttg fcattattat ttttattttt
 4501 catttttttg agacaaaagt cttgctctgt cgccagact agagtgcagt ggcgtgatct
 4561 cggctgactg caacctgtgc ctcccgggtt caagcgattc tcttacctca gcctccctag
 4621 tagctgggat tacaggcgcc ggacgccgag cccagctcat tttgtattt ttagtagaga
 4681 tgggctatca ccattgtggc caggctagtc tcaaactcct gacctcgtga tccaccgccc
 4741 tcggcctccc aaagtgtcgg ggttacaggc atgagccact gcgccagcc accaaaatta
 4801 tcatttgcac atatatcaa taggaatatg cactggtaga aatccatgag tttgcaatct
 4861 ttgttgcaaa gatgtttata tttagcaatg tatcttagaa gctgatttta aagttttgga
 4921 tggggaaaaca gaagtcgaac ttatggctgt acttgaacac aggaatttta aaagttttta
 4981 taaagagtga tactaaaatt gggctgggct tgggtggctca cgcttgaat cccagcactt
 5041 tgggaggctg aggtgggagg atcacgaggt caggagatgg agaccatcct gggttaacagg
 5101 gtgaaacccg tcttactaaa aaatacaaaa aaattagccg agcatgggtg cgggtgacctg
 5161 tagtcccagg tactcgggag gctgaggcag gagaatgggt tgaaccagg agcgggagct
 5221 tgcagtgagc ggagattgca gcactgcact ccagcctggg caacagagtg agactctgtc
 5281 tcaaaaaaag aatgatacta aaattttttt taatccaaat gagattggca atgatattag
 5341 agtaacgtca tttttatgta ggtcacacca tttttttct gtctcaggaa gttcgtgaca
 5401 ttgatttatt atttgcgctt accgtgagaa tcaatcctac catagtaaat caaggttatt
 5461 ttgctcattt tttttttgg aggttttaaa taatgccatc taagtcatat gttcacatat
 5521 tgcccttttt tttttaacac acatatgtct ttgtaaatga ctctctctca actgtatttt
 5581 tgggtttctg ggaactggac ttggctgttt ttttttccc tgtattgccc acagtctagt
 5641 acagttgttg aaattatcaa taagtattc tattaaaagg gagaaaaaga tttttttttt
 5701 tttttgagat ggagtctggc tctgtcggc atgctggagt gcagtgggtc aatgtccgct
 5761 cactgcaacc tccgtgtccc aggttcaagt gatctcctg cctcagcctc ccgagtagct
 5821 gggattacag gcatgtgcca tcacgcccgg ctaattttta tacttttagt agagacggga
 5881 cagggtttca ccattgtggc caggctggtc tcgaactcct gacctcaagt gatctgcca
 5941 cctcagcctc ccaaggtgct gggattacag gcatcatatt ccattctctt gagcagttta
 6001 ttttctctta ggcaccatat cattaaaaag ctggaagtga taagggaaaa attgcaattc
 6061 ctggtttata atggattcca tttccaactt aaagtgtgga aaattaacaa aaatgaaagt
 6121 taatattata ggtgtagtg gctttggag gaaggactgg gtctcatgca gttgggtctg
 6181 ctgtatgtc tgaccacaaa ctttgggctc caaattcctt gaaactagtt gtcccatatt
 6241 cctgtctttt gtccatcac ctgatagagc catgtatggt atgtgtctct tggccttaga
 6301 tacaacctt tatcaggtt gaagtgttc tgtttgttt cttaagtcc taggaaagat
 6361 gtcttcagtg ttctgctgt ccacagctag cagctgaact tggatggaga accagcagca
 6421 gtgctgggaa gaagctgctt ggcccttagt aatgctctg tctcttcatt tcatgacaga
 6481 acaaaagatg gaagatgtcc gacttattcg agagcagcat ccaaccaaaa tcccggtagg
 6541 tagtctcagg cctcggttc agtcatgaa gtacgcagag gagagcaccg cataagtga
 6601 tccacttgac gggtttttac aggaatcacc agacagccaa accctgggtg tcagtttcac
 6661 aacctagaga gaggatcct tttttaaga gacagggtct cactctctt cccaggctgg
 6721 agtgagtggt tgcgatcgta gctcagtgca gtctcagcca cctgtgtctc aagcagctct
 6781 cctcctcag cctcctgagt agctctgact agaggcacac accactacac ctggctaatt
 6841 ttttaagttt ttgtagaga cagggtcttg ctatgtttaa acccccaggc tgatctcaaa
 6901 ctctgggct caaatgatcc tccaacttga cctctcaaa tgttgggatt ataggcatga
 6961 gccactggct ggccctcaggt gccaagattt ctgtactgcc tctaatttct gctaccactt
 7021 aaactcaggc aggtggagcc tacacactga tatttcttg tggatctac acttcagaac
 7081 gtgtccgcta gataaagctc tcaaaactac caaggaaagt gatgacagct tgactcggcc
 7141 ttacacagaa ccctatgtag gtctcacaca atagaacaat gtacaaataa gcatttttct
 7201 ttcccaaaaga agcatgtaaa gatttcccat tctgcccact caacttctct ttgtgtgac
 7261 aggttggaaag aattactgta tatagaaaag atgtccgag cgttcagtaa acacagacac
 7321 taatgagact cagaggctca tctgtgtgca ggtattataa acccttaaaa ctaaaaaaa
 7381 acaaaatatt ttgctccatg gaaaggaagc atagttagga gccaatggat tatttattta
 7441 tttatttatt tttttgaga cggagtcttg ctgtgtcggc caggctggag tgtagtggc
 7501 cgatctcggc tcactgcaac ctccgctcc caggttcaag tgaattctct gcctcagcct
 7561 cctgaatagc tgggactaca ggcacgtgcc actacgccc gctaattttt gtatttttag
 7621 tagagacagg gtttcacat gttggccagg atggtcttga tctctgacc tcatgatccg
 7681 cccacctcgg cctccaaaag tgcgtggatt acaggcgtga gtcaccagc cggcctgatg
 7741 gctttattta aattcataat atgaaactat atgtgttccc tgtgtagttc aaatcgtgt
 7801 gtgtgtgtgt gtgtgtgtgt gtgtgtgtgt gtgtgtgtat aaaaattttt tttttttttt
 7861 gagatgcagt ctgcctctgt caccaggctt ggagtgcagt ggcgtgatct cggctcactg
 7921 caagctccac ctcccgggtt cacgccattc tctgcctca gcctcctgag tagctgggac
 7981 tgcaggcgcc caccaccatg cgcggctaatt ttttttga ttttttagtag agacggggtt
 8041 tcaccatggt agccaggatg gtctcagctc cctgacctca tgatctgctt gccttggcct
 8101 cccaaaatgc tgggattaca ggcgtgagcc accgcacctg gcctcaaaata tttgtatttt
 8161 taacctcatt taaagaaata tgttatcaga atgaaagtac caggctatta tgcacaaaac
 8221 tttgtctcta gaaccagcta ataattgact ctacttgctt ttgcaaatat aatttttca
 8281 tgtcaactag acagtctcta gtgtgaaaa acattgagca tattactata attaggaact
 8341 tacacattta ttaaaacaca ggcatttact ttttttttt ttttaatgga tgaaggttt
 8401 ttatgtttcc cagggtggcc tgaacgcgat agcctcactt ccttatgcac cagaacaacc
 8461 agcctgagtc accgtggctc ccaaaaacaca tgcatttact ttcatagaa cctcagctgg
 8521 ccggacgcgg tggctcacgc ctgtatccca gcactttgga aggccgaggc ggggtgatca

8581 cgaagtccagg ggttcgagac cagcctgacc aacatgggta aaccccatct ctactaaaaa
 8641 tacaaaaaatt agctgggctt ggtggcgggt gcctgtaatc ccagctactc aggaggctga
 8701 ggaggagaaa ttgcttgaac ccgggagtcg gagggttcag tgagccaaga tcgtgccact
 8761 gcattccagc ctgggcgaca gagcaagact ctgtctcaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa
 8821 acttcagcca tgcctcagga tatggtagtt ttggaattga gaggttcaga tgtttgtgc
 8881 ttgaagctgg ttcccagcct ctctgcctcg gtaaggcttg aggtcttttt ctgactagg
 8941 atgtattttt catggttcca aaactgaaac agaatgaaag gatacatagc caagtatctt
 9001 cccccacttc ctacctgacg gcagacatat tgcctctctt gtactatatt ttgtaagggg
 9061 tagatgtcta agctagcaaa tgatcactct tcacaggaga gctatgagga aactagtga
 9121 tgtgctgttt caaagcccat tttggcatgt gccagttaga ctgtaggagg catttgtat
 9181 attttaattt gttgatgact attttattta tttattggag acagtctagc tctatgccct
 9241 aggtctggagt gcagtgccgc aacctcagct cactgcaacc tccgctctct aggttcaagc
 9301 ttgtctcagc ctcccagcta gctggaaggc attacaggca cctgccacca cacctggata
 9361 atttttgtat ttttagtaga gtcggggttt tgccatgttg accaggctgg tctcgaactc
 9421 ctgacctcag gtgatctgct ggcctcacc tcccaaagtg ctgggattac aggcattgct
 9481 caccatgccc agcctgatga ctttttttt tttttgagat ggagctctcg tctgtcacc
 9541 aggtctggagt gcggtgccgc gatctcggct cactgcaagc tcaccctccc gggttcacgc
 9601 tttgtacctg cctcagcctc ctgagtagct gggactacag gcgcccgcca ccatgcccg
 9661 ctaatttttt tttgtatttt tagtagagat ggggtttcac catgttagcc aggggtgct
 9721 cagtctcctg acctcgtgat gtgcccgcct cggcctccca aaatgctggg gttacagggt
 9781 tgagccaccg cgcttgccc tgatgactat tttaaaaatc ctctggctt cttttccagg
 9841 tgataataga acgatacaag ggtgagaagc agcttctctg tctggataaa acaaagtctc
 9901 ttgtacctga ccatgtcaac atgagtggag tcatcaaatg aattaggtag tcaagtccct
 9961 ttgtttcata atatatattc tttgagtaac ttcttattct ttatgaaact tacagttaaa
 10021 tcttttagttc tggttaaaaa ctttaaaaaa tatttttcag ctgaattcag ttctgattca
 10081 gttatgatta aaacaatttc aacttaaaat ataaaatggt tctttttttg aggttttata
 10141 ttacttgcta gactgcagag cccgtttctt tcatcataac atcgtttaga tgtttcctgt
 10201 ttaaaatcag tgttacaagt tattaaagga ttgtacagca aagctagtta aagagaatgt
 10261 agactctgtg agtggcagta aatggcacag gcttagatct tagaatagtt cagaaactgt
 10321 atttgaactg ctttcttata tttagacagtt taacagctgt tcagacagta tactagttta
 10381 aaatcagcct aatatgtaat ctttcagtga ttatagctca tgtcaatata atcaaaaggaa
 10441 gtgtcctgtg ctttatgaga agtattggat tcaagagcat ttagaacatt ttatatttt
 10501 accgatcaga gtgggtgata ttttaacaca tgcttcatcc ttcttgtatt gttgtcaata
 10561 tttcttcacg ttgttttctt tcaatagaag gcgcttacag ctcaatgcta atcaggcctt
 10621 cttcctgttg gtgaacggac acagcatggt cagcgtctcc acaccaatct cagagggtga
 10681 tgagatggag aaagatgaag atggattcct gtacatggtc tatgcctccc agggagcgtt
 10741 cgggatgaaa ttgtcagttg aaaaccagaa aaaaatgcagc tcttctagaa ttgtttaaac
 10801 ccttaccag gaaaaaaaaa ggatgttacc aactgagatc gatcagttca tccaatcaca
 10861 gatcatgaaa cagttagtgt cccacctagg agtgttagga agtgtgttt gtgtttcaag
 10921 cagaaaaaact gagctccaag tgagcacatt cagctttgga aactatatta ttaatgtag
 10981 gctagcttgt tttcaaattt taaaagttta aaaaaaaaat actttgcatt ctaagttgcc
 11041 aataaaatag accttcaagt tattttaatg ctcttttctc actaatagga acttgaatt
 11101 ccagcagtaa tttaaaggct tttagagaga ccttgagtct tctcttcagg ttcaaaaaac
 11161 ccgccgcctt tttgggtaga agttttctac tcagctagag agatctccct aagaggatct
 11221 ttaggcctga gttgtgaagc gcaacccccg caaaacgcat ttgccatcac agttggcaca
 11281 aacgcagggtt aaacgggctg tgtgagaaaa cggccctgac tgtaaactgc tgaaggtccc
 11341 tgaactctaa gagaaccaca ccaaaagtc tactcttgc aggggtagac atttctggtt
 11401 tggtttgttc tctagatagt tacacacata aagacaccac tcaaaaggaa acttgaataa
 11461 tttataattt tgatcgagtt tcttaaaaga ccctggagaa agagtggcat ttcttctgtt
 11521 tcaggttttg tctgagttca aactagtgcc tgtgtgtgta cggaaaagcag cagtgtacca
 11581 gtgtcactct ggagtacagc gggagaaaca caaaatagta taactgaaaa cattaacatt
 11641 cagacacact cccttctgcc ttccggctta aagctgtgga tgatccacgt tttgttttt
 11701 ttaatgttaa atgtgtaact cagtattact gaaaaggtag ccacattttg aatagtagtt
 11761 atcactctta ggtcagacag ccatcagaat tctcccacac caagtgcagc tcagttgtgg
 11821 agaaaacata gcaaaaagag ccgtacgctc tttagagata ctaatgtcaa gaggtaaac
 11881 tcctcaggtt caacctgtga taaaagacta gtgcttccca gtacttgcac ggggttcaat
 11941 atttatagtt ttcttgggag tatcacagga aatcacaaat tacaccactt tagaccctat
 12001 gtgtagcagg tcacaactta ccttgtgtg tttagatgtg tatgaaatac ctgtatagct
 12061 tagtgaagc tgtttactgt aacggggaaa accagattct ttgcatctgg gcccttact
 12121 gattgttaaa ggagttcctg tcacctgctc cccccaccc cgcatgcgct tgtccacttg
 12181 gctaactttt aatatgtgta tttttacatt atgtatattc ttaactggac tgtctcgttt
 12241 agactgtata catcatatct gacattattg taactaccgt gtgatcagta agattccctgt
 12301 aagaaaactc gctttttaag aaaaaaata acatgctgag gggtagccta tatccatgt
 12361 gagtggctac tttatttata ggatctttaa aacattttta atgaactaag ttgaataaag
 12421 gcacaattaa aaactgtca

Lampiran 2. Data Prediksi Variasi Genetik Gen LC3B

No.	Seri	Idn	Wewascon	AHL	Posisi	Mutasi	Software	
							Polyspam2	SIFT
1	LC3B	n113810767	38-8739847 (GRCv3.8) 38-87401454 (GRCv3.7)	G>C	NP_073728.1.p.Gln292G	Misense mutation	HamDy -> Possibly Damaging 0,533 HumVar -> Benign 0,000	Tolerated score 0.63
2	LC3B	n112861363	38-87403071 (GRCv3.8) 38-87403071 (GRCv3.8)	A>G	NP_073728.1.p.Trp1189A	Misense mutation	HamDy -> Possibly Damaging 0,911 HumVar -> Possibly Damaging 0,611	Tolerated score 0.68
3	LC3B	n135874987	38-87403094 (GRCv3.8) 38-87436299 (GRCv3.7)	T>C	NP_073728.1.p.Val135A	Misense mutation	HamDy -> Benign 0,005 HumVar -> Benign 0,010	Deleterious 0.01
4	LC3B	n141375076	38-87398842 (GRCv3.8) 38-87331448 (GRCv3.7)	T>C	NP_073728.1.p.Phe227H	Misense mutation	HamDy -> Possibly Damaging 1,000 HumVar -> Possibly Damaging 1,000	Deleterious 0.00
5	LC3B	n142958756	38-87403019 (GRCv3.8) 38-87403019 (GRCv3.7)	G>C	NP_073728.1.p.Gln390A	Misense mutation	HamDy -> Benign 0,597 HumVar -> Benign 0,031	Tolerated score 0.10
6	LC3B	n144307314	38-87398860 (GRCv3.8) 38-87332488 (GRCv3.7)	C>A,G,T	NP_073728.1.p.Trp356A	Misense mutation	HamDy -> Benign 0,002 HumVar -> Benign 0,186	Tolerated score 0.42
7	LC3B	n145476789	38-87403124 (GRCv3.8) 38-87436292 (GRCv3.7)	A>G	NP_073728.1.p.Met193Val	Misense mutation	HamDy -> Possibly Damaging 0,785 HumVar -> Possibly Damaging 0,675	Tolerated score 1.00
8	LC3B	n145954536	38-87403178 (GRCv3.8) 38-87436292 (GRCv3.7)	T>C	NP_073728.1.p.Val335A	Misense mutation	HamDy -> Possibly Damaging 1,000 HumVar -> Possibly Damaging 1,000	Deleterious 0.00
9	LC3B	n149003518	38-87403395 (GRCv3.8) 38-87436296 (GRCv3.7)	G>A,C,T	NP_073728.1.p.Val191Leu	Misense mutation	HamDy -> Benign 0,045 HumVar -> Benign 0,267	Deleterious 0.01
10	LC3B	n149843518	38-87403171 (GRCv3.8) 38-87331581 (GRCv3.7)	C>T	NP_073728.1.p.Leu61Phe	Misense mutation	HamDy -> Possibly Damaging 1,000 HumVar -> Possibly Damaging 1,000	Deleterious 0.00
11	LC3B	n120709875	38-87403077 (GRCv3.8) 38-87436292 (GRCv3.7)	A>C,G,T	NP_073728.1.p.Tyr1133Ser	Misense mutation	HamDy -> Possibly Damaging 1,000 HumVar -> Possibly Damaging 0,846	Deleterious 0.00
12	LC3B	n120888087	38-87403194 (GRCv3.8) 38-87436292 (GRCv3.7)	G>A,T	NP_073728.1.p.Gln451Ser	Misense mutation	HamDy -> Benign 0,134 HumVar -> Benign 0,036	Tolerated score 0.19
13	LC3B	n132789458	38-87403555 (GRCv3.8) 38-87436263 (GRCv3.7)	T>C	NP_073728.1.p.Phe179Ser	Misense mutation	HamDy -> Possibly Damaging 1,000 HumVar -> Possibly Damaging 1,000	Deleterious 0.00
14	LC3B	n137325748	38-87403079 (GRCv3.8) 38-87436235 (GRCv3.7)	G>A,T	NP_073728.1.p.Arg104Asn	Misense mutation	HamDy -> Possibly Damaging 0,848 HumVar -> Possibly Damaging 0,675	Deleterious 0.00
15	LC3B	n137493938	38-87403049 (GRCv3.8) 38-87436255 (GRCv3.7)	A>C,G	NP_073728.1.p.Gln77Pro	Misense mutation	HamDy -> Possibly Damaging 0,939 HumVar -> Possibly Damaging 0,999	Deleterious 0.00
16	LC3B	n151645957	38-87202435 (GRCv3.8) 38-87426041 (GRCv3.7)	C>A,G,T	NP_073728.1.p.Ser171Ile	Misense mutation	HamDy -> Possibly Damaging 0,930 HumVar -> Possibly Damaging 0,500	Deleterious 0.00
17	LC3B	n154899312	38-87403012 (GRCv3.8) 38-87436268 (GRCv3.7)	T>A	NP_073728.1.p.Leu131Asn	Misense mutation	HamDy -> Benign 0,001 HumVar -> Benign 0,010	Tolerated score 0.89
18	LC3B	n145788833	38-87403011 (GRCv3.8) 38-87436267 (GRCv3.7)	G>T	NP_073728.1.p.Val198Leu	Misense mutation	HamDy -> Benign 0,001 HumVar -> Benign 0,008	Tolerated score 0.19
19	LC3B	n147491762	38-87403294 (GRCv3.8) 38-87436266 (GRCv3.7)	A>G	NP_073728.1.p.Gln72Asn	Misense mutation	HamDy -> Possibly Damaging 0,989 HumVar -> Benign 0,001	Tolerated score 0.17
20	LC3B	n174241248	38-87403050 (GRCv3.8) 38-87436268 (GRCv3.7)	A>G	NP_073728.1.p.Leu160Val	Misense mutation	HamDy -> Benign 0,001 HumVar -> Benign 0,018	Deleterious 0.01
21	LC3B	n151222513	38-87403275 (GRCv3.8) 38-87436261 (GRCv3.7)	C>G,T	NP_073728.1.p.Val188Arg	Misense mutation	HamDy -> Possibly Damaging 0,200 HumVar -> Possibly Damaging 0,899	Tolerated score 0.27
22	LC3B	n151307980	38-87403091 (GRCv3.8) 38-87436292 (GRCv3.7)	T>G	NP_073728.1.p.Val193Ile	Misense mutation	HamDy -> Possibly Damaging 0,991 HumVar -> Possibly Damaging 0,999	Deleterious 0.00
23	LC3B	n151627876	38-87403072 (GRCv3.8) 38-87436270 (GRCv3.7)	C>T	NP_073728.1.p.Trp118Met	Misense mutation	HamDy -> Possibly Damaging 0,999 HumVar -> Possibly Damaging 0,972	Deleterious 0.00
24	LC3B	n151625288	38-87398818 (GRCv3.8) 38-87433244 (GRCv3.7)	A>G	NP_073728.1.p.Gln154Gln	Misense mutation	HamDy -> Benign 0,001 HumVar -> Benign 0,004	Tolerated score 0.27
25	LC3B	n1518897154	38-87398854 (GRCv3.8) 38-87433260 (GRCv3.7)	A>C,G	NP_073728.1.p.His171His	Misense mutation	HamDy -> Possibly Damaging 1,000 HumVar -> Possibly Damaging 0,999	Deleterious 0.00
26	LC3B	n151891811	38-87398801 (GRCv3.8) 38-87432451 (GRCv3.7)	G>A	NP_073728.1.p.Arg245Gln	Misense mutation	HamDy -> Benign 0,001 HumVar -> Benign 0,111	Deleterious 0.05
27	LC3B	n151841744	38-87403246 (GRCv3.8) 38-87433254 (GRCv3.7)	C>G	NP_073728.1.p.Gln77Gln	Misense mutation	HamDy -> Benign 0,939 HumVar -> Benign 0,111	Tolerated score 0.99
28	LC3B	n151925817	38-87403074 (GRCv3.8) 38-87436270 (GRCv3.7)	A>T	NP_073728.1.p.Gln17Val	Misense mutation	HamDy -> Possibly Damaging 0,999 HumVar -> Possibly Damaging 0,999	Deleterious 0.01
29	LC3B	n151974783	38-87403271 (GRCv3.8) 38-87433277 (GRCv3.7)	A>G	NP_073728.1.p.Leu160Gln	Misense mutation	HamDy -> Possibly Damaging 0,991 HumVar -> Possibly Damaging 0,912	Tolerated score 0.89
30	LC3B	n1519247573	38-87403002 (GRCv3.8) 38-87436296 (GRCv3.7)	A>C,G	NP_073728.1.p.His111Gln	Misense mutation	HamDy -> Benign 0,001 HumVar -> Benign 0,034	Tolerated score 0.06
31	LC3B	n151944027	38-87393452 (GRCv3.8) 38-87436296 (GRCv3.7)	C>A,S,T	NP_073728.1.p.Phe165Gln	Misense mutation	HamDy -> Possibly Damaging 0,069 HumVar -> Possibly Damaging 0,119	Deleterious 0.00
32	LC3B	n151927648	38-87403016 (GRCv3.8) 38-87436262 (GRCv3.7)	A>G	NP_073728.1.p.Arg186Ile	Misense mutation	HamDy -> Possibly Damaging 0,907 HumVar -> Possibly Damaging 0,918	Deleterious 0.00
33	LC3B	n151978813	38-87403071 (GRCv3.8) 38-87436270 (GRCv3.7)	C>G,T	NP_073728.1.p.Arg181Asp	Misense mutation	HamDy -> Possibly Damaging 0,064 HumVar -> Possibly Damaging 0,972	Tolerated score 0.21
34	LC3B	n151929811	38-87403274 (GRCv3.8) 38-87433260 (GRCv3.7)	A>G	NP_073728.1.p.Arg184Val	Misense mutation	HamDy -> Possibly Damaging 0,907 HumVar -> Possibly Damaging 0,999	Tolerated score 1.00
35	LC3B	n151844619	38-87393456 (GRCv3.8) 38-87426044 (GRCv3.7)	C>T	NP_073728.1.p.Arg111Gln	Misense mutation	HamDy -> Possibly Damaging 0,504 HumVar -> Benign 0,004	Tolerated score 0.95
36	LC3B	n151901083	38-87403286 (GRCv3.8) 38-87433260 (GRCv3.7)	G>A,C	NP_073728.1.p.Val188Gln	Misense mutation	HamDy -> Possibly Damaging 0,051 HumVar -> Possibly Damaging 0,500	Tolerated score 0.14
37	LC3B	n151844198	38-87403017 (GRCv3.8) 38-87436261 (GRCv3.7)	T>A	NP_073728.1.p.Arg190Gln	Misense mutation	HamDy -> Possibly Damaging 0,711 HumVar -> Possibly Damaging 0,519	Deleterious 0.00
38	LC3B	n151990793	38-87398802 (GRCv3.8) 38-87433275 (GRCv3.7)	C>T	NP_073728.1.p.Pro153Asp	Misense mutation	HamDy -> Possibly Damaging 1,000 HumVar -> Possibly Damaging 0,991	Deleterious 0.00
39	LC3B	n151992511	38-87403252 (GRCv3.8) 38-87436298 (GRCv3.7)	C>A	NP_073728.1.p.Arg176Arg	Misense mutation	HamDy -> Possibly Damaging 0,980 HumVar -> Possibly Damaging 0,915	Deleterious 0.00
40	LC3B	n171630448	38-87403140 (GRCv3.8) 38-87403048 (GRCv3.7)	A>G,T	NP_073728.1.p.Asn145Ser	Misense mutation	HamDy -> Possibly Damaging 0,484 HumVar -> Benign 0,208	Tolerated score 0.23
41	LC3B	n171680180	38-87403534 (GRCv3.8) 38-87403054 (GRCv3.7)	G>A	NP_073728.1.p.Arg126Asp	Misense mutation	HamDy -> Possibly Damaging 1,000 HumVar -> Possibly Damaging 0,991	Deleterious 0.04
42	LC3B	n1715971070	38-87403288 (GRCv3.8) 38-87403794 (GRCv3.7)	G>A	NP_073728.1.p.Arg137Gln	Misense mutation	HamDy -> Possibly Damaging 1,000 HumVar -> Possibly Damaging 0,991	Deleterious 0.01
43	LC3B	n171694073	38-87403294 (GRCv3.8) 38-87436262 (GRCv3.7)	C>G	NP_073728.1.p.Ser192Cys	Misense mutation	HamDy -> Benign 0,286 HumVar -> Benign 0,044	Deleterious 0.00
44	LC3B	n184300212	38-87398853 (GRCv3.8) 38-87433245 (GRCv3.7)	A>G	NP_073728.1.p.Trp28Asp	Misense mutation	HamDy -> Benign 0,001 HumVar -> Benign 0,009	Deleterious 0.01
45	LC3B	n184570119	38-87403197 (GRCv3.8) 38-87436292 (GRCv3.7)	G>A	NP_073728.1.p.Gln162Arg	Misense mutation	HamDy -> Possibly Damaging 0,629 HumVar -> Possibly Damaging 0,891	Tolerated score 0.41
46	LC3B	n184742424	38-87393446 (GRCv3.8) 38-87426072 (GRCv3.7)	C>G,T	NP_073728.1.p.Phe153Asp	Misense mutation	HamDy -> Benign 0,001 HumVar -> Benign 0,001	Tolerated score 0.59
47	LC3B	n184702469	38-87403077 (GRCv3.8) 38-87436262 (GRCv3.7)	G>A	NP_073728.1.p.Gly123Arg	Misense mutation	HamDy -> Possibly Damaging 1,000 HumVar -> Possibly Damaging 0,988	Deleterious 0.00
48	LC3B	n184211810	38-87403015 (GRCv3.8) 38-87436271 (GRCv3.7)	A>G	NP_073728.1.p.Tyr96Cys	Misense mutation	HamDy -> Possibly Damaging 0,784 HumVar -> Possibly Damaging 0,480	Deleterious 0.00
49	LC3B	n180114074	38-87398828 (GRCv3.8) 38-87432434 (GRCv3.7)	A>T	NP_073728.1.p.Gln188Arg	Misense mutation	HamDy -> Benign 0,000 HumVar -> Benign 0,000	Tolerated score 0.89

50	LC8	r104817889	36.6740227 (GRCv38)	T+C	NP_073728.1.p.Med07h	Misense mutation	HumDiv → Possibly Damaging 0.836 HumVar → Possibly Damaging 0.946	Deleterious 0.01
51	LC8	r113800607	36.6740210 (GRCv38)	A+G	NP_073728.1.p.SaMNA	Misense mutation	HumDiv → Possibly Damaging 1.000 HumVar → Possibly Damaging 1.000	Deleterious 0.00
52	LC8	r113804003	36.6743176 (GRCv38)	Ins	NP_073728.1.p.AgU8f	Misense mutation	HumDiv → Range 0.346 HumVar → Range 0.075	Tolerated score 0.58
53	LC8	r116891113	36.6740206 (GRCv38)	G+A	NP_073728.1.p.Phe7Ka	Misense mutation	HumDiv → Possibly Damaging 1.000 HumVar → Possibly Damaging 1.000	Tolerated score 0.38
54	LC8	r116892814	36.6740234 (GRCv38)	G+C	NP_073728.1.p.GA4Aa	Misense mutation	HumDiv → Range 0.269 HumVar → Range 0.079	Deleterious 0.01
55	LC8	r118046704	36.6743144 (GRCv38)	T+C	NP_073728.1.p.Phe7Jc	Misense mutation	HumDiv → Range 0.164 HumVar → Range 0.075	Deleterious 0.00
56	LC8	r119481294	36.6740201 (GRCv38)	A+C	NP_073728.1.p.La420c	Misense mutation	HumDiv → Possibly Damaging 0.877 HumVar → Possibly Damaging 0.955	Tolerated score 0.58
57	LC8	r119899362	36.6740281 (GRCv38)	A+G	NP_073728.1.p.Mc88F	Misense mutation	HumDiv → Possibly Damaging 0.828 HumVar → Possibly Damaging 0.648	Tolerated score 0.34
58	LC8	r120440002	36.6740249 (GRCv38)	G+A,T	NP_073728.1.p.Gi4Aq	Misense mutation	HumDiv → Range 0.000 HumVar → Range 0.000	Tolerated score 0.36
59	LC8	r121198918	36.6740241 (GRCv38)	G+C,T	NP_073728.1.p.Ly1Aa	Misense mutation	HumDiv → Range 0.001 HumVar → Range 0.000	Tolerated score 0.38
60	LC8	r124238676	36.6740298 (GRCv38)	G+G	NP_073728.1.p.Pro8Ma	Misense mutation	HumDiv → Range 0.002 HumVar → Range 0.001	Tolerated score 0.32
61	LC8	r128932036	36.6740297 (GRCv38)	G+A,C	NP_073728.1.p.Gly8Aq	Misense mutation	HumDiv → Possibly Damaging 0.943 HumVar → Possibly Damaging 0.744	Tolerated score 0.37
62	LC8	r134486148	36.6740234 (GRCv38)	G+C	NP_073728.1.p.Aq19H	Misense mutation	HumDiv → Possibly Damaging 1.000 HumVar → Possibly Damaging 1.000	Tolerated score 0.58
63	LC8	r135248128	36.6740290 (GRCv38)	T+C	NP_073728.1.p.Va19A	Misense mutation	HumDiv → Possibly Damaging 0.817 HumVar → Possibly Damaging 0.957	Tolerated score 0.31
64	LC8	r135276867	36.6740244 (GRCv38)	D+T	NP_073728.1.p.Th6G	Misense mutation	HumDiv → Range 0.072 HumVar → Range 0.078	Deleterious 0.03
65	LC8	r136243607	36.6740210 (GRCv38)	A+C	NP_073728.1.p.Ty18G	Misense mutation	HumDiv → Possibly Damaging 0.688 HumVar → Possibly Damaging 0.770	Deleterious 0.02
66	LC8	r137290362	36.6740227 (GRCv38)	G+C,T	NP_073728.1.p.Ty18Aq	Misense mutation	HumDiv → Possibly Damaging 0.888 HumVar → Possibly Damaging 0.863	Tolerated score 0.58
67	LC8	r137990179	36.6740260 (GRCv38)	G+A	NP_073728.1.p.Ty12An	Misense mutation	HumDiv → Range 0.063 HumVar → Range 0.117	Deleterious 0.03
68	LC8	r137923447	36.6740248 (GRCv38)	T+C	NP_073728.1.p.Ty12Gn	Misense mutation	HumDiv → Range 0.488 HumVar → Possibly Damaging 0.538	Deleterious 0.00
69	LC8	r137900380	36.6740210 (GRCv38)	T+A,C	NP_073728.1.p.Ty18An	Misense mutation	HumDiv → Possibly Damaging 1.000 HumVar → Possibly Damaging 1.000	Deleterious 0.03
70	LC8	r138040346	36.6740240 (GRCv38)	A+G	NP_073728.1.p.Ly02G	Misense mutation	HumDiv → Range 0.000 HumVar → Range 0.001	Tolerated score 0.38
71	LC8	r139676363	36.6740300 (GRCv38)	G+A,C	NP_073728.1.p.Va123Aa	Misense mutation	HumDiv → Range 0.011 HumVar → Range 0.011	Deleterious 0.03
72	LC8	r139612094	36.6740268 (GRCv38)	G+A,T	NP_073728.1.p.Aq11A	Misense mutation	HumDiv → Range 0.017 HumVar → Range 0.000	Tolerated score 0.38
73	LC8	r139439002	36.6740290 (GRCv38)	D+T	NP_073728.1.p.La18Ph	Misense mutation	HumDiv → Possibly Damaging 0.899 HumVar → Possibly Damaging 0.863	Tolerated score 0.58
74	LC8	r131218767	36.6740281 (GRCv38)	A+C,G	NP_073728.1.p.Aq10C	Misense mutation	HumDiv → Possibly Damaging 1.000 HumVar → Possibly Damaging 0.998	Deleterious 0.00
75	LC8	r131827104	36.6740280 (GRCv38)	A+C	NP_073728.1.p.Aq10D	Misense mutation	HumDiv → Possibly Damaging 0.966 HumVar → Possibly Damaging 0.960	Deleterious 0.00
76	LC8	r131806734	36.6740340 (GRCv38)	G+A,T	NP_073728.1.p.Wa18A	Misense mutation	HumDiv → Range 0.154 HumVar → Range 0.014	Tolerated score 0.46
77	LC8	r134452718	36.6740300 (GRCv38)	T+A	NP_073728.1.p.Pa10Bf	Misense mutation	HumDiv → Possibly Damaging 0.848 HumVar → Possibly Damaging 0.809	Deleterious 0.00
78	LC8	r136748318	36.6740247 (GRCv38)	T+A,C	NP_073728.1.p.Phe7Jg	Misense mutation	HumDiv → Range 0.082 HumVar → Range 0.137	Deleterious 0.00
79	LC8	r135542676	36.6740249 (GRCv38)	A+T	NP_073728.1.p.Gi4Aq	Misense mutation	HumDiv → Range 0.013 HumVar → Range 0.088	Tolerated score 0.34
80	LC8	r134742746	36.6740263 (GRCv38)	G+A,T	NP_073728.1.p.Pr02F	Misense mutation	HumDiv → Range 0.018 HumVar → Range 0.007	Deleterious 0.00
81	LC8	r137988424	36.6740300 (GRCv38)	A+C	NP_073728.1.p.Gi47A	Misense mutation	HumDiv → Possibly Damaging 0.988 HumVar → Possibly Damaging 0.986	Tolerated score 0.80
82	LC8	r137989166	36.6740300 (GRCv38)	G+A	NP_073728.1.p.Aq121G	Misense mutation	HumDiv → Range 0.238 HumVar → Range 0.076	Tolerated score 0.51
83	LC8	r140567948	36.6740258 (GRCv38)	T+A,C	NP_073728.1.p.Na15A	Misense mutation	HumDiv → Possibly Damaging 0.134 HumVar → Range 0.123	Deleterious 0.01
84	LC8	r140167363	36.6740242 (GRCv38)	T+C	NP_073728.1.p.Ae10T	Misense mutation	HumDiv → Range 0.118 HumVar → Possibly Damaging 0.447	Deleterious 0.02
85	LC8	r138893083	36.6740340 (GRCv38)	A+G	NP_073728.1.p.Na12A	Misense mutation	HumDiv → Range 0.134 HumVar → Range 0.019	Deleterious 0.01
86	LC8	r144529170	36.6740341 (GRCv38)	A+G	NP_073728.1.p.Ly18G	Misense mutation	HumDiv → Range 0.000 HumVar → Range 0.000	Tolerated score 0.80
87	LC8	r143834882	36.6740276 (GRCv38)	A+G	NP_073728.1.p.Sa18AA	Misense mutation	HumDiv → Possibly Damaging 1.000 HumVar → Possibly Damaging 1.000	Deleterious 0.00
88	LC8	r142882480	36.6740290 (GRCv38)	A+C	NP_073728.1.p.Ae10B	Misense mutation	HumDiv → Range 0.006 HumVar → Range 0.010	Deleterious 0.02
89	LC8	r146818804	36.6740312 (GRCv38)	T+C	NP_073728.1.p.Va18Aa V14	Misense mutation	HumDiv → Range 0.358 HumVar → Possibly Damaging 0.371	Deleterious 0.00
90	LC8	r146127462	36.6740280 (GRCv38)	G+C	NP_073728.1.p.Va17Aa V1c	Misense mutation	HumDiv → Range 0.205 HumVar → Range 0.021	Tolerated score 0.32
91	LC8	r145804148	36.6740288 (GRCv38)	A+G	NP_073728.1.p.Sa18Aa	Misense mutation	HumDiv → Possibly Damaging 0.901 HumVar → Possibly Damaging 0.894	Deleterious 0.02
92	LC8	r147388402	36.6740291 (GRCv38)	G+A,T	NP_073728.1.p.La18An G1b	Misense mutation	HumDiv → Range 0.598 HumVar → Range 0.330	Deleterious 0.00
93	LC8	r146717718	36.6740276 (GRCv38)	G+T	NP_073728.1.p.Sa18Tb 1c1	Misense mutation	HumDiv → Possibly Damaging 0.990 HumVar → Possibly Damaging 0.821	Tolerated score 0.36
94	LC8	r138793825	36.6740300 (GRCv38)	G+A	NP_073728.1.p.Gi107Gh	Misense mutation	HumDiv → Possibly Damaging 0.993 HumVar → Possibly Damaging 0.988	Deleterious 0.00
95	LC8	r138715379	36.6740240 (GRCv38)	A+G	NP_073728.1.p.Ly02G	Misense mutation	HumDiv → Range 0.000 HumVar → Range 0.001	Deleterious 0.00
96	LC8	r138761558	36.6740343 (GRCv38)	A+T	NP_073728.1.p.Gi47A	Misense mutation	HumDiv → Range 0.025 HumVar → Range 0.009	Tolerated score 0.34
97	LC8	r138761646	36.6740340 (GRCv38)	T+A	NP_073728.1.p.Phe7Jf	Misense mutation	HumDiv → Range 0.000 HumVar → Range 0.000	Deleterious 0.02
98	LC8	r138760884	36.6740301 (GRCv38)	G+A	NP_073728.1.p.Aq10A	Misense mutation	HumDiv → Possibly Damaging 0.958 HumVar → Possibly Damaging 0.962	Deleterious 0.00
99	LC8	r138581187	36.6740300 (GRCv38)	V+I	NP_073728.1.p.Va12Bb	Misense mutation	HumDiv → Range 0.367 HumVar → Range 0.270	Tolerated score 0.38

83	ICM	r146787978	368742579 (GRCv3.8)	G>T	NP_073728.1:p.L46878e-1-r	Missense mutation	HumDiv → Probably Damaging 0.880 HumVar → Probably Damaging 0.821	Tolerated score 0.86
84	ICM	r1387381825	368742639 (GRCv3.7)	G>A	NP_073728.1:p.D4527Gfs	Missense mutation	HumDiv → Probably Damaging 0.999 HumVar → Probably Damaging 0.999	Deleterious 0.80
85	ICM	r1387415479	368742645 (GRCv3.7)	A>G	NP_073728.1:p.L46879s	Missense mutation	HumDiv → Range 0.839 HumVar → Range 0.408	Deleterious 0.80
86	ICM	r1280742008	368742651 (GRCv3.8)	A>T	NP_073728.1:p.G1488fs	Missense mutation	HumDiv → Range 0.815 HumVar → Range 0.009	Tolerated score 0.86
87	ICM	r1280743404	368742659 (GRCv3.8)	T>A	NP_073728.1:p.P4617Yp	Missense mutation	HumDiv → Range 0.800 HumVar → Range 0.000	Deleterious 0.82
88	ICM	r1280744684	368742671 (GRCv3.7)	G>A	NP_073728.1:p.A4616fs	Missense mutation	HumDiv → Probably Damaging 0.958 HumVar → Probably Damaging 0.982	Deleterious 0.80
89	ICM	r1387381187	368742677 (GRCv3.8)	V>I	NP_073728.1:p.V4239fs	Missense mutation	HumDiv → Range 0.837 HumVar → Range 0.270	Tolerated score 0.88
90	ICM	r1387382128	368742687 (GRCv3.8)	P>R	NP_073728.1:p.P4238fs	Missense mutation	HumDiv → Range 0.248 HumVar → Range 0.233	Deleterious 0.80
91	ICM	r134897411	368743284 (GRCv3.8)	V>T	NP_073728.1:p.T438fs	Frameshift mutation	HumDiv → Probably Damaging 1.000 HumVar → Probably Damaging 0.999	Deleterious 0.82
92	ICM	r1258194970	368743287 (GRCv3.7)	V>A	NP_073728.1:p.V438fs	Frameshift mutation	HumDiv → Probably Damaging 0.935 HumVar → Probably Damaging 0.975	Tolerated score 0.85
93	ICM	r1387382129	368743287 (GRCv3.8)	I>G	NP_073728.1:p.I438fs	Frameshift mutation	HumDiv → Probably Damaging 0.889 HumVar → Probably Damaging 0.970	Tolerated 0.89
94	ICM	r1387382980	368743292 (GRCv3.8)	D>E	NP_073728.1:p.D4410fs	Frameshift mutation	HumDiv → Probably Damaging 0.912 HumVar → Probably Damaging 0.851	Tolerated score 0.83
95	ICM	r1425251867	368743291 (GRCv3.8)	M>I	NP_073728.1:p.M4211fs	Frameshift mutation	HumDiv → Range 0.801 HumVar → Range 0.011	Tolerated 0.80

Lampiran 3. Data *cross* sampel variasi genetik dari kedua piranti lunak

No	Gen	Id rs	Probably Damaging	Deleterious dan Tolerated	Possibly Damaging	Benign
1	LC3B	rs113610787				
2	LC3B	rs112861363				
3	LC3B	rs139874987				
4	LC3B	rs141375676				
5	LC3B	rs142958756				
6	LC3B	rs144107314				
7	LC3B	rs145476799				
8	LC3B	rs145954536				
9	LC3B	rs149003518				
10	LC3B	rs149663518				
11	LC3B	rs200708875				
12	LC3B	rs200880487				
13	LC3B	rs367894639				
14	LC3B	rs371925748				
15	LC3B	rs374049318				
16	LC3B	rs536459957				
17	LC3B	rs564990322				
18	LC3B	rs745784433				
19	LC3B	rs747037162				
20	LC3B	rs747241240				
21	LC3B	rs751222313				
22	LC3B	rs753075601				
23	LC3B	rs753273870				
24	LC3B	rs755252288				
25	LC3B	rs756997154				
26	LC3B	rs758538522				
27	LC3B	rs759447346				
28	LC3B	rs760263872				
29	LC3B	rs760756783				
30	LC3B	rs761427573				
31	LC3B	rs762464327				
32	LC3B	rs762678560				
33	LC3B	rs762766923				
34	LC3B	rs766258510				
35	LC3B	rs766466303				
36	LC3B	rs767001083				
37	LC3B	rs768443366				
38	LC3B	rs769606792				
39	LC3B	rs769607522				
40	LC3B	rs770930548				
41	LC3B	rs773600180				
42	LC3B	rs775971070				
43	LC3B	rs778084073				
44	LC3B	rs866304233				
45	LC3B	rs946755199				
46	LC3B	rs947434234				
47	LC3B	rs964702469				
48	LC3B	rs968213830				
49	LC3B	rs1001507647				
50	LC3B	rs1043979090				
51	LC3B	rs1158904097				
52	LC3B	rs1159549670				
53	LC3B	rs1168581119				
54	LC3B	rs1169428414				
55	LC3B	rs1185367024				
56	LC3B	rs1194622963				
57	LC3B	rs1198385032				

58	LC3B	rs1205463052					
59	LC3B	rs1215789596					
60	LC3B	rs1232106476					
61	LC3B	rs1239320436					
62	LC3B	rs1244863548					
63	LC3B	rs1253481208					
64	LC3B	rs1257683827					
65	LC3B	rs1267406070					
66	LC3B	rs1257261961					
67	LC3B	rs1273939278					
68	LC3B	rs1276251647					
69	LC3B	rs1277061660					
70	LC3B	rs1286045946					
71	LC3B	rs1294076302					
72	LC3B	rs1298120918					
73	LC3B	rs1304300602					
74	LC3B	rs1312185767					
75	LC3B	rs1318273356					
76	LC3B	rs1319586734					
77	LC3B	rs1346527718					
78	LC3B	rs1367485018					
79	LC3B	rs1355405976					
80	LC3B	rs1347427446					
81	LC3B	rs1370984614					
82	LC3B	rs1372891566					
83	LC3B	rs1405079418					
84	LC3B	rs1401977665					
85	LC3B	rs1389035002					
86	LC3B	rs1445256770					
87	LC3B	rs1436364882					
88	LC3B	rs1420825485					
89	LC3B	rs1466316304					
90	LC3B	rs1465274431					
91	LC3B	rs1458044148					
92	LC3B	rs1472695422					
93	LC3B	rs1467977978					
94	LC3B	rs1597391925					
95	LC3B	rs1907615379					
96	LC3B	rs1907615509					
97	LC3B	rs1907616404					
98	LC3B	rs1907890684					
99	LC3B	rs1907891187					
100	LC3B	rs1907892128					
101	LC3B	rs746997312					
102	LC3B	rs1209134970					
103	LC3B	rs1908050229					
104	LC3B	rs1908050960					
105	LC3B	rs1453251667					

Lampiran 4. Halaman Pengesahan



MAJELIS PENDIDIKAN TINGGI, PENELITIAN & PENGEMBANGAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SUMATERA UTARA
FAKULTAS KEDOKTERAN
Jalan Gedung Arca No. 53 Medan 20217 Telp. (061) 7350163 – 7333162 Ext.
20 Fax. (061) 7363488
Website : fk@umsu.ac.id

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh

Nama : Vanisa Pricilia Putri

NPM : 2008260005

Judul : PREDIKSI TINGKAT KEFATALAN MUTASI GENETIK GEN
LC3B TERHADAP FUNGSIONALITAS PROTEIN AUTOFAGI
DENGAN STUDI IN SILICO

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima untuk diteruskan ke ranah penelitian.

DEWAN PENGUJI

Pembimbing,

(dr. Tegar Adriansyah Putra Siregar, M.Biomed, Ph.D)

Penguji 1

Penguji 2

(Dr. Emni Purwoningsih, S.Pd., M.Kes)

(dr. Des Suryani, M.Biomed)

Ditetapkan di: Medan

Tanggal: 26 September 2023

Lampiran 5. Artikel

PREDIKSI TINGKAT KEFATALAN MUTASI GENETIK GEN LC3B TERHADAP FUNGSIONALITAS PROTEIN AUTOFAGI DENGAN STUDI IN SILICO

Vanisa Pricilia Putri¹, Tegar Adriansyah Putra Siregar²

Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara

Jl. Gedung Arca No.53, Medan-Sumatera Utara, 2024

vanisapricilia1104@gmail.com¹, tegaradriansyah@gmail.com²

Abstrak

Pendahuluan: Autofagi adalah jalur penting yang mengatur homeostasis organisme, ketika keseimbangan autofagi terganggu maka dapat menyebabkan keadaan yang bersifat patologis. Autofagi terbagi menjadi tiga jenis, (1) makroautofagi, (2) mikroautofagi, dan (3) *Chaperone-mediated autophagy* (CMA). Modulator tahap autofagi terdiri dari (1) inisiasi, saat terjadinya starvasi mTORCI dihambat dan fosforilasi oleh AMPK, kemudian akan mengaktivasi ULK1, (2) Ekspansi, yang melibatkan BECLIN1, dan (2) elongasi, akan melibatkan peran LC3B. Sel melakukan autofagi untuk mendaur ulang organel yang rusak dan protein yang salah pelipatan, bekerja sama dengan sistem kekebalan adaptif untuk menjaga homeostasis sel serta kualitas protein dan organel. Kelainan pada proses autofagi akan berdampak pada kejadian mutasi genetik khususnya pada mutasi *Missense* dan *Frameshift*. Mutasi genetik ditandai oleh perubahan urutan asam amino yang dapat mengakibatkan perubahan fungsi protein. **Tujuan:** Mengetahui tingkat kefatalan mutasi *Missense* dan *Frameshift* gen LC3B terhadap protein autofagi. **Metodologi:** Memprediksi tingkat kefatalan mutasi dengan menggunakan perangkat lunak SIFT dan PolyPhen-2. **Hasil:** Hasil prediksi gen LC3B menggunakan perangkat lunak SIFT pada mutasi *Missense* didapatkan 55% sampel mengalami *Deleterious* dan 45% sampel mengalami *Tolerated*. Mutasi *Frameshift* didapatkan 20% sampel mengalami *Deleterious* dan 80% sampel mengalami *Tolerated*. Sedangkan perangkat lunak PolyPhen-2 pada mutasi *Missense* didapatkan hasil 45% untuk *Benign*, 14% untuk *Possibly Damaging*, dan 45% untuk *Probably Damaging*. Mutasi *Frameshift* didapatkan hasil 20% untuk *Benign*, 40% untuk *Possibly Damaging*, dan 40% untuk *Probably Damaging*. **Kesimpulan:** Setelah dilakukan penelitian dapat disimpulkan bahwa mutasi *Missense* dan *Frameshift* pada gen LC3B dapat mempengaruhi fungsionalitas protein LC3B.

Kata Kunci: LC3B, Autofagi, Missense, Frameshift, SIFT, PolyPhen-2

ABSTRACT

Introduction: Autophagy is an important pathway that regulates an organism's hemostasis, when the balance of autophagy is disturbed it can cause pathological conditions. Autophagy is divided into three types, (1) macroautophagy, (2) microautophagy, and (3) Chaperone-mediated autophagy (CMA). The autophagy stage modulator consists of (1) initiation, when starvation occurs, mTORC1 is inhibited and phosphorylated by AMPK, which then activates ULK1, (2) expansion, which involves BECLIN1, and (2) elongation, which involves the role of LC3B. Cells perform autophagy to repair damaged organelles and misfolded proteins, working together with the adaptive immune system to maintain cell homeostasis and the quality of proteins and organelles. Abnormalities in the autophagy process will have an impact on the occurrence of genetic mutations, especially Missense and Frameshift mutations. Genetic mutations are characterized by changes in the amino acid sequence which can result in changes in protein function. **Objective:** To determine the fatality rate of Missense and Frameshift LC3B gene treatment for autophagy proteins. **Methodology:** Predicting treatment fatality rates using SIFT and PolyPhen-2 software. **Results:** The results of LC3B gene prediction using SIFT software for Missense treatment showed that 55% of samples were damaged and 45% of samples were Tolerated. Frameshift mutations found that 20% of samples experienced Deleterious and 80% of samples experienced Tolerated. Meanwhile, the PolyPhen-2 software for Missense treatment obtained results of 45% for Benign, 14% for Possible Damage, and 45% for Possible Damage. Frameshift mutations get results of 20% for Benign, 40% for Likely Destructive, and 40% for Likely to Destruct. **Results:** After conducting research, it can be concluded that Missense and Frameshift treatment on the LC3B gene can affect the functionality of the LC3B protein.

Keywords: LC3B, Autophagy, Missense, Frameshift, SIFT, Polyphen-2

PENDAHULUAN

Autofagi adalah proses seluler alami yang bertanggung jawab untuk mempertahankan homeostasis sel dengan cara mendegradasi komponen intraseluler termasuk agregat protein atau organel sel.¹ Autofagi akan mempertahankan metabolisme sel dengan cara menghilangkan protein dan organel yang rusak untuk menjaga kualitas dan kuantitas protein dan organel agar tetap dalam keadaan baik. Hal ini menunjukkan bahwa autofagi berperan pada kondisi patofisiologis.³

Autofagi mempunyai tiga tahapan regulasi yaitu dimulai dari inisiasi, nukleasi fagofor, dan ekspansi. Adapun tiga jenis dari autofagi meliputi macroautophagy, chaperone-mediated autophagy, dan microautophagy. Langkah penting untuk pembentukan autofagosom adalah penggabungan protein rantai ringan terkait mikrotubulus 3 [LC3]/ATG8. LC3B sebagai gen penanda/ *marker* aktivitas autofagi.⁴

Variasi genetik adalah perbedaan urutan *Deoxyribonucleic acid* (DNA) antara individu dalam suatu populasi. Variasi genetik dalam

gen LC3B memiliki keterlibatan besar terhadap penyakit yang berdampak pada respon imun bawaan dan respon imun adaptif.^{5,6}

Jenis mutasi yang dapat terjadi pada manusia yaitu mutasi *Missense* dan *Frameshift*.^{8,9} *Database* seperti dbSNP berguna untuk meyarang dan mengidentifikasi varian mutasi sehingga diperlukan bantuan perangkat lunak algoritma seperti SIFT (*Sorting Intolerant From Tolerant*) dan PolyPhen-2 (*Polymorphism Phenotyping v2*), untuk memprediksi kemungkinan dampak terhadap stabilitas dan fungsionalitas protein.¹¹

METODE

Penelitian ini merupakan penelitian analisis data kuantitatif dengan statistik deskriptif. Data yang diperoleh kemudian disajikan dalam bentuk narasi dan tabel distribusi frekuensi. Penelitian ini dilaksanakan di Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara pada bulan September 2023. Pada penelitian ini digunakan 100 sampel mutasi *Missense* dan 5 sampel mutasi *Frameshift* gen LC3B dengan total

105 sampel yang diambil dari database NCBI dbSNP. Data yang telah terkumpul kemudian dianalisis dengan menggunakan bantuan perangkat lunak SIFT dan PolyPhen-2 untuk dilihat tingkat kefatalannya. Kemudian dari hasil skor tersebut akan diolah ke dalam program Microsoft Excel dan disesuaikan dengan statistic deskriptif untuk diinterpretasikan ke dalam bentuk persentase, disajikan dengan narasi, tabel distribusi frekuensi, dan *pie chart*.

HASIL

Hasil data yang diperoleh dari penelitian berikut dengan analisis data kuantitatif dan statistik deskriptif berupa tabel dan *pie chart* yang menunjukkan skor dan persentase tingkat kefatalan mutasi genetik gen LC3B dengan studi in silico.

Sko r	Efek Mutasi	Juml ah	Persent ase (%)
0.00	Deleterio us	55	55
0.04			

0.0	Tolerate	45	45
5-	d		
1.0			
0			
Total		100	100

Tabel 4.1 menunjukkan Hasil prediksi tingkat kefatalan mutasi *Missense* dengan perangkat lunak SIFT yang menunjukkan bahwa 55% sampel bersifat *Deleterious* dan 45% sampel bersifat *Tolerated*.

Sko r	Efek Mutasi	Jumla h	Persenta se (%)
0.00	Deleterio us	1	20
-			
0.			
0			
4			
0.05	Tolerated	4	80
-			
1.00			
Total		5	100

Tabel 4.2 Hasil analisis prediksi mutasi Frameshift dengan perangkat lunak SIFT menunjukkan bahwa 80% sampel bersifat *Tolerated* dan 20% sampel bersifat *Deleterious*.

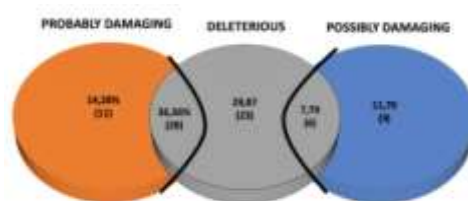
Skor	Efek Mutasi	Jumlah Sampel	Persentase (%)
0,000-0,336	Benign	45	45
0,500-0,899	Possibly Damaging	15	15
0,946-1,000	Probably Damaging	40	40
Total		100	100

Tabel 4.3 Hasil analisis prediksi mutasi Missense dengan piranti lunak PolyPhen-2 menunjukkan bahwa mutasi *Missense* yang telah dianalisis dengan perangkat lunak PolyPhen-2 diperoleh hasil 45% *Benign*, 15% *Possibly Damaging*, dan 40% *Probably Damaging*.

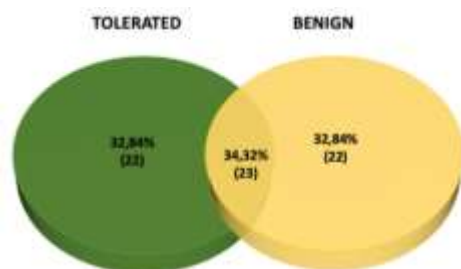
Skor	Efek Mutasi	Jumlah Sampel	Persentase (%)
0,000-0,011	Benign	1	20
0,851-0,974	Possibly Damaging	2	40
0,975-1,000	Probably Damaging	2	40

Total	5	100
-------	---	-----

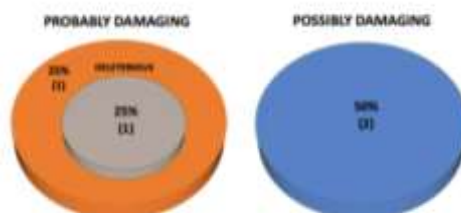
Tabel 4. 5 Hasil analisis prediksi mutasi *Frameshift* dengan perangkat lunak menunjukkan bahwa mutasi *Frameshift* yang telah dianalisis menggunakan perangkat lunak PolyPhen-2 diperoleh hasil 20% *Benign*, 40% *Possibly Damaging*, dan 40% *Probably Damaging*.



Gambar 4. 5 Hasil analisis sampel Missense gen LC3B yang tergolong fatal berdasarkan persilangan perangkat lunak SIFT dan PolyPhen-2 menunjukkan bahwa 36,36% (28 sampel) dari *Deleterious* di SIFT juga merupakan *Probably Damaging* di PolyPhen-2, sedangkan 7,79% (6 sampel) dari *Deleterious* di SIFT juga merupakan *Possibly Damaging* di PolyPhen-2.

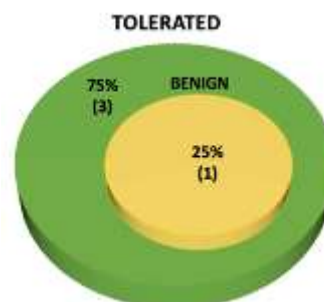


Gambar 4. 6 Hasil analisis sampel Missense gen LC3B yang tergolong tidak fatal berdasarkan persilangan perangkat lunak SIFT dan PolyPhen-2 menunjukkan bahwa 34,32% (23 sampel) merupakan mutasi yang tidak fatal dengan hasil analisis kedua perangkat lunak SIFT dan PolyPhen-2.



Gambar 4.3 Hasil analisis sampel Frameshift gen LC3B yang tergolong fatal berdasarkan persilangan perangkat lunak SIFT dan PolyPhen-2 menunjukkan Terlihat pada gambar bahwa 25% (1 sampel) dari Deleterious di SIFT juga merupakan Probably Damaging di PolyPhen-2, sedangkan tidak dijumpai data perpotongan antara Deleterious pada

SIFT dan Possibly Damaging pada PolyPhen-2



Gambar 4. 4 Hasil analisis sampel Frameshift gen LC3B yang tergolong tidak fatal berdasarkan persilangan perangkat lunak SIFT dan PolyPhen-2 menunjukkan gambar bahwa 25% (1 sampel) merupakan hasil irisan mutasi yang tidak fatal dengan hasil analisis kedua perangkat lunak SIFT dan PolyPhen-2.

PEMBAHASAN

Gen LC3B Terdapat total 4841 SNPs dengan berbagai macam tipe variasi genetik yang ada pada gen LC3B. Data variasi genetik pada gen LC3B homo sapiens diambil dari database NCBI dbSNP. Tipe variasi genetik yang digunakan pada penelitian ini yaitu Missense dan Frameshift. Setelah dilakukan penghitungan jumlah sampel yang digunakan menggunakan rumus

Slovin hasil yang didapatkan yaitu minimal 98 sampel dari total populasi variasi genetik gen LC3B. Dari hasil identifikasi variasi genetik diatas diperoleh dua tipe mutasi dengan total 105 sampel yaitu Missense sebanyak 100 sampel dan Frameshift sebanyak 5 sampel.

Pada hasil analisis karakteristik dampak variasi genetik mutasi missense pada gen LC3B pada penelitian ini dijumpai beberapa hasil mutasi yang dapat mengganggu kerja autofagi (55%). Hal ini sejalan dengan penelitian dari Burcu Aykac Fas *et al* yaitu didapatkan 28 mutasi missense pada LC3B yang ditemukan pada 13 jenis kanker yang berbeda. Hal ini menjelaskan bahwa beberapa mutasi missense pada LC3B membahayakan fungsi LC3B dan mempengaruhi autofagi sehingga dapat menyebabkan keadaan yang patologis.¹²

Hasil penelitian Gal Chaim Nuta *et al* menggunakan pendekatan dengan mengidentifikasi 20 *point mutation* pada 12 gen autofagi yang diperiksa dalam *database Catalogue Of Somatic Mutations In Cancer (COSMIC)* tentang *point mutation*

pada kanker. Dampak paling signifikan yang ditemukan pada tumor hati dan melanoma adalah mutasi *missense*. Terjadi perubahan asam amino tirosin menjadi sistein pada posisi 113 (Y113C) pada gen LC3B. Mutasi tersebut melemahkan lipdasi LC3B, menunjukkan bahwa substitusi asam amino tunggal ini mengganggu autofagi dengan mengurangi ikatan antara LC3B dengan protein ATG7. Dengan terganggunya ikatan tersebut pada autofagi maka akan memicu pembentukan, diferensiasi, dan metastasis tumor.¹³

Berdasarkan penelitian lain yang dilakukan oleh Feyeza Sadia Laskar *et al*, hasil prediksi *deleterious* dapat menyebabkan kerusakan protein sehingga tidak bisa berfungsi secara normal sedangkan *Tolerated* tidak merusak protein. Untuk perangkat lunak Polyphen-2 dengan hasil prediksi *Possibly Damaging* yaitu kemungkinan dapat merusak protein dan mungkin juga tidak merusak, hasil *Probably Damaging* dapat menyebabkan protein tersebut tidak bisa berfungsi secara normal karena adanya

kerusakan pada protein tersebut yang disebabkan oleh mutasi pada asam amino, dan hasil prediksi *Benign* tidak merusak protein.¹⁴

Penelitian ini menggunakan gen LC3B sebagai sampel dikarenakan gen LC3B berperan dalam terjadinya regulasi autofagi. Dari hasil penelitian di atas diperoleh bahwa gen LC3B dapat bermutasi seperti pada varian Missense dan Frameshift. Untuk mengetahui tingkat kefatalan variasi genetik dilakukan analisis dengan perangkat lunak SIFT dan PolyPhen-2 dengan hasil seperti di atas. Jika gen LC3B mengalami mutasi maka regulasi autofagi akan terganggu karena gen LC3B berperan dalam regulasi pada tahap elongasi.

Penelitian yang dilakukan oleh Mahalakshmi Kumaraguru et al, menggunakan gen CHRNA5 dengan mutasi missense telah dilakukan analisis prediksi menggunakan tiga perangkat lunak yaitu SIFT, PolyPhen-2, dan PROVEAN. Setelah dilakukan analisis maka didapatkan hasil persentase distribusi dari ketiga perangkat lunak yaitu sebanyak 83% (134) bersifat damaging dan 17%

(27) bersifat not damaging.¹⁵

Penelitian yang dilakukan oleh Zhang R et al, yaitu dengan menggunakan gen AKT1 untuk mengidentifikasi mutasi missense yang bersifat deleterious dan memprediksi efek fungsional dan struktural dari gen AKT1 yang mengalami mutasi dengan menggunakan beberapa perangkat lunak seperti PolyPhen-2, SIFT, PROVEAN, SNAP-2, Mutation Assesor, PANTHER, PON-P2, dan P-Mut. Pada penelitian tersebut mendapati hasil SNP mutasi Missense sebanyak 12 SNP yang bersifat deleterious sehingga dapat mempengaruhi struktur dan fungsi protein AKTI.¹⁶

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan maka dapat disimpulkan penelitian yaitu diperoleh mutasi *Missense* dan *Frameshift* yang dapat merusak maupun tidak merusak protein autofagi. Berdasarkan hasil penelitian diperoleh tingkat kefatalan mutasi Missense dengan perangkat lunak SIFT yaitu sebanyak 55

sampel (55%) Deleterious serta 45 sampel (45%) Tolerated, dan untuk mutasi Frameshift sebanyak 1 sampel (20%) Deleterious serta 4 sampel (80%) Tolerated. Berdasarkan hasil penelitian diperoleh hasil tingkat kefatalan mutasi Missense dengan perangkat lunak Polyphen-2 yaitu sebanyak 45 sampel (45%) Benign, 15 sampel (15%) Possibly Damaging, dan 40 sampel (40%) Probably Damaging, dan untuk mutasi Frameshift sebanyak 1 sampel (20%) Benign, 2 sampel (40%) Possibly Damaging, dan 2 sampel (40%) Probably Damaging. Berdasarkan hasil penelitian menurut data cross kedua perangkat lunak SIFT dan Polyphen-2 yang tergolong fatal diperoleh sebanyak 23 sampel (29,87%) pada mutasi Missense, dan 1 sampel (25%) pada mutasi Frameshift. Berdasarkan hasil penelitian menurut data cross kedua perangkat lunak SIFT dan Polyphen-2 yang tergolong tidak fatal diperoleh 23 sampel (34,32%) pada mutasi Missense dan 1 sampel (25%) pada mutasi Frameshift

DAFTAR PUSTAKA

1. Li C, Wang L. TFEB-dependent autophagy is involved in scavenger receptor OLR1/LOX-1-mediated tumor progression. *Autophagy*. 2022;18(2):462-464. doi:10.1080/15548627.2021.2012970
2. Li X, He S, Ma B. Autophagy and autophagy-related proteins in cancer. *Mol Cancer*. 2020;19(1):1-16. doi:10.1186/s12943-020-1138-4
3. Alharbi Y, Bima A, Elsamanoudy A. An overview of the perspective of cellular autophagy: Mechanism, regulation, and the role of autophagy dysregulation in the pathogenesis of diseases. *J Microsc Ultrastruct*. 2021;9(2):47-54. doi:10.4103/JMAU.JMAU_33_20
4. McLaren PJ, Fellay J. HIV-1 and human genetic variation. *Nat Rev Genet*. 2021;22(10):645-657. doi:10.1038/s41576-021-00378-0

5. Eichler EE. Genetic Variation, Comparative Genomics, and the Diagnosis of Disease. *N Engl J Med.* 2019;381(1):64-74. doi:10.1056/nejmra1809315
6. Wang X, Dong Q, Chen G, Zhang J, Liu Y, Cai Y. Frameshift and wild-type proteins are often highly similar because the genetic code and genomes were optimized for frameshift tolerance. *BMC Genomics.* 2022;23(1):1-15. doi:10.1186/s12864-022-08435-6
7. Sim NL, Kumar P, Hu J, Henikoff S, Schneider G, Ng PC. SIFT web server: Predicting effects of amino acid substitutions on proteins. *Nucleic Acids Res.* 2012;40(W1):452-457. doi:10.1093/nar/gks539
8. Jiang H, Xi H, Juhas M, Zhang Y. Biosensors for Point Mutation Detection. *Front Bioeng Biotechnol.* 2021;9(December):1-13. doi:10.3389/fbioe.2021.79783
9. Zhang Y, Guo R, Wang SS, et al. Autophagy-related Proteins in Genome Stability: Autophagy-Dependent and Independent Actions. *Int J Biol Sci.* 2022;18(14):5329-5344. doi:10.7150/ijbs.76134
10. Gómez-Virgilio L, Silva-Lucero MDC, Flores-Morelos DS, et al. Autophagy: A Key Regulator of Homeostasis and Disease: An Overview of Molecular Mechanisms and Modulators. *Cells.* 2022;11(15):1-40. doi:10.3390/cells11152262
11. Cao W, Li J, Yang K, Cao D. An overview of autophagy: Mechanism, regulation and research progress. *Bull Cancer.* 2021;108(3):304-322. doi:10.1016/j.bulcan.2020.11.004
12. Fas BA, Maiani E, Sora V, et al. The conformational and mutational landscape of the ubiquitin like marker for autophagosome formation in cancer. *Autophagy.* 2021;17(10):2818-2841.

- doi:10.1080/15548627.2020.1847443
13. Nuta GC, Gilad Y, Gershoni M, et al. A cancer associated somatic mutations in LC3B attenuates its binding to E1-like ATG7 protein and subsequent lipidation. *Autophagy*. 2019;15(3):438-452.doi:10.1080/15548627.2018.1525476
14. Laskar FS, Bappy MNI, Hossain MS, et al. An in Silico Approach towards Finding the Cancer-Causing Mutations in Human MET Gene. *Int J Genomics*. 2023;2023. doi:10.1155/2023/9705159.
15. Kumaraguru M, L L, Priyadharsini V J, et al. (October 23, 2023) Identification of Pathogenic Missense Mutations in the CHRNA5 Gene: A Computational Approach. *Cureus* 15(10): e47519. doi:10.7759/cureus.47519
16. Zhang R, Akhtar N, Wani AK, Raza K, Kaushik V. Discovering Deleterious Single Nucleotide Polymorphisms of Human