

**PS3**

**24**

Jakarta

LAPORAN PENELITIAN RISBINKES

**Karakterisasi *genome* hantavirus spesies Seoul virus (SEOV) strain  
Kepulauan Seribu yang diisolasi dari *Rattus norvegicus*  
Tahun 2009**



**Dian Perwitasari, SKM, M.Biomed**

**Subangkit, S.Si, M.Biomed**

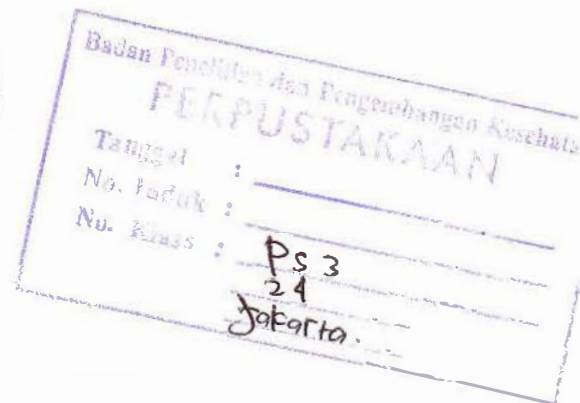
**Rosita, SKM**

**PUSAT TEKNOLOGI INTERVENSI KESEHATAN MASYARAKAT  
BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN KESEHATAN  
KEMENTERIAN KESEHATAN RI**

**2011**

**LAPORAN PENELITIAN RISBINKES**

**Karakterisasi *genome* hantavirus spesies Seoul virus (SEOV) strain  
Kepulauan Seribu yang diisolasi dari *Rattus norvegicus*  
Tahun 2009**



**Tim :**

**Dian Perwitasari, SKM, M.Biomed**

**Subangkit, S.Si, M.Biomed**

**Rosita, SKM**

**PUSAT TEKNOLOGI INTERVENSI KESEHATAN MASYARAKAT  
BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN KESEHATAN  
KEMENTERIAN KESEHATAN RI  
2011**

**Karakterisasi *genome* hantavirus spesies Seoul virus (SEOV) strain  
Kepulauan Seribu yang diisolasi dari *Rattus norvegicus*  
tahun 2009**

**RISBINKES**

**Tim :**

**Dian Perwitasari, SKM, M.Biomed**

**Subangkit, S.Si, M.Biomed**

**Rosita, SKM**

**PUSAT TEKNOLOGI INTERVENSI KESEHATAN MASYARAKAT  
BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN KESEHATAN  
KEMENTERIAN KESEHATAN RI**

**2011**



**KEMENTERIAN KESEHATAN**  
**BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN KESEHATAN**

Jalan Percetakan Negara No. 29 Jakarta 10560 Kotak Pos 1226

Telepon: (021) 4261088 Faksimile: (021) 4243933

E-mail: [sesban@litbang.depkes.go.id](mailto:sesban@litbang.depkes.go.id), Website: <http://www.litbang.depkes.go.id>

**KEPUTUSAN**  
**KEPALA BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN KESEHATAN**  
**NOMOR : HK.03.05/1/9345/2011**

**TENTANG**

**PEMBENTUKAN TIM PELAKSANA**

**RISET PEMBINAAN KESEHATAN (RISBINKES) BADAN PENELITIAN DAN  
PENGEMBANGAN KESEHATAN  
KEMENTERIAN KESEHATAN RI TAHUN 2011**

**KEPALA BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN KESEHATAN**

- Menimbang** : a Bahwa untuk melaksanakan kegiatan Riset Pembinaan (Risbin) Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian Kesehatan R.I Tahun 2011 perlu dibentuk Tim Pelaksana Riset Pembinaan (Risbin) pada masing-masing Satuan Kerja di lingkungan Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan;
- b bahwa berdasarkan pertimbangan sebagaimana dimaksud pada huruf a maka dipandang perlu menetapkan Keputusan Kepala Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan tentang Pembentukan Tim Pelaksana Riset Pembinaan (Risbin);
- Mengingat** : 1. Undang-undang Nomor 36 Tahun 2009 tentang Kesehatan (Lembaran Negara Republik Indonesia Tahun 2009 Nomor 144, Tambahan Lembaran Negara Republik Indonesia Nomor 5063);
2. Undang-Undang Nomor 18 tahun 2002 tentang Sistem Nasional Penelitian, Pengembangan, Penerapan Ilmu Pengetahuan dan Teknologi (Lembaran Negara Republik Indonesia Tahun 2002 Nomor 84, Tambahan Lembaran Negara Republik Indonesia Nomor 4219);
3. Undang-undang Nomor 14 Tahun 2001 tentang Paten (Lembaran Negara Republik Indonesia Tahun 2002 Nomor 109, Tambahan Lembaran negara Republik Indonesia Nomor 4130);



# KEMENTERIAN KESEHATAN

## BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN KESEHATAN

Jalan Percetakan Negara No. 29 Jakarta 10560 Kotak Pos 1226

Telepon: (021) 4261088 Faksimile: (021) 4243933

E-mail: [sesban@litbang.depkes.go.id](mailto:sesban@litbang.depkes.go.id), Website: <http://www.litbang.depkes.go.id>

4. Peraturan Pemerintah Nomor 39 Tahun 1995 tentang Penelitian dan Pengembangan Kesehatan (Lembaran Negara Tahun 1995 Nomor 67, Tambahan Lembaran Negara Nomor 3609);
5. Peraturan Pemerintah Nomor 20 Tahun 2005 tentang Alih Teknologi Kekayaan Intelektual serta Hasil Penelitian dan Pengembangan oleh Perguruan Tinggi dan Lembaga Penelitian dan Pengembangan (Lembaran Negara Tahun 2005 Nomor 43, Tambahan Lembaran Negara Nomor 4497);
6. Peraturan Presiden Nomor 10 Tahun 2005 tentang Unit Organisasi dan Tugas Eselon I Kementerian Negara Republik Indonesia sebagaimana telah diubah terakhir dengan Peraturan Presiden Nomor 50 Tahun 2008;
7. Instruksi Presiden Nomor 4 tahun 2003 tentang Pengkoordinasian Perumnasan dan Pelaksanaan Kebijakan Strategis Pembangunan Nasional Ilmu Pengetahuan dan Teknologi;
8. Keputusan Menteri Kesehatan Nomor 791/Menkes/SK/VII/ 1999 tentang Koordinasi Penyelenggaraan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan;
9. Keputusan Menteri Kesehatan Nomor 1179A/ Menkes/ SK/ XI/ 1999 tentang Kebijakan Nasional Penelitian dan Pengembangan Kesehatan;
10. Peraturan Menteri Kesehatan Nomor 1144/ Menkes/ Per/ VIII/ 2010 tentang Organisasi dan Tata Kerja Kementerian Kesehatan;
11. Keputusan Menteri Kesehatan Nomor HK.03.01/160/I/2010 tentang Rencana Strategis Kementerian Kesehatan Tahun 2010 – 2014;



**KEMENTERIAN KESEHATAN**  
**BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN KESEHATAN**

Jalan Percetakan Negara No. 29 Jakarta 10560 Kotak Pos 1226

Telepon: (021) 4261088 Faksimile: (021) 4243933

E-mail: [sesban@litbang.depkes.go.id](mailto:sesban@litbang.depkes.go.id), Website: <http://www.litbang.depkes.go.id>

**Memperhatikan** : Keputusan Kepala Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Nomor: HK.03.05//269/2011 tentang Tim Pengelola Risbinkes Badan Litbangkes Tahun 2011;

**MEMUTUSKAN** :

**Menetapkan** :

**KESATU**

: Keputusan Kepala Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan tentang Pembentukan Tim Pelaksana Riset Pembinaan (Risbin) Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian Kesehatan Tahun 2011.

**KEDUA**

: Pembentukan Tim Pelaksana Riset Pembinaan (Risbin) Tahun 2011 dengan susunan Tim sebagaimana tersebut dalam lampiran keputusan ini.

**KETIGA**

: Tim Pelaksana Riset Pembinaan (Risbin) Tahun 2011 bertugas:

1. Mengkoordinir pelaksanaan kegiatan penelitian dan pengembangan kesehatan sesuai dengan bidang fokus, jenis insentif, judul penelitian, pelaksana penelitian/perekayaan dan jumlah dana yang dialokasikan sesuai dengan Keputusan Kepala Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Nomor: HK.03.05/1/269/ 2011 tentang Tim Pengelola Riset Pembinaan(Risbin) Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Tahun 2011;
2. Melakukan monitoring dan evaluasi terhadap semua pelaksanaan kegiatan Riset Pembinaan (Risbin) sebagaimana dimaksud pada butir 1;
3. Melaporkan pelaksanaan, kemajuan dan akhir kegiatan penelitian kepada Kepala Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan yang meliputi laporan kegiatan dan laporan keuangan



**KEMENTERIAN KESEHATAN**  
**BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN KESEHATAN**

Jalan Percetakan Negara No. 29 Jakarta 10560 Kotak Pos 1226

Telepon: (021) 4261088 Faksimile: (021) 4243933

E-mail: [sesban@litbang.depkes.go.id](mailto:sesban@litbang.depkes.go.id), Website: <http://www.litbang.depkes.go.id>

- KEEMPAT** : Tim Pelaksana Riset Pembinaan (Risbin) Tahun 2011 bertanggung jawab kepada Kepala Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan;
- KELIMA** : Untuk tenaga pengadaan barang di tiap penelitian mendapatkan honor Rp 250.000,- / penelitian.
- KEENAM** : Tim sebagaimana dimaksud pada diktum kedua diberikan honorarium sesuai dengan ketentuan yang berlaku;
- KETUJUH** : Biaya pelaksanaan kegiatan penelitian ini dibebankan pada Daftar Isian Penggunaan Anggaran Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Tahun 2011;
- KEDELAPAN** : Keputusan ini mulai berlaku sejak tanggal ditetapkan sampai dengan bulan Desember 2011, dengan ketentuan apabila dikemudian hari ternyata terdapat kekeliruan dalam penetapan ini, akan diadakan perubahan dan perbaikan kembali sebagaimana mestinya.

Ditetapkan di Jakarta  
Pada tanggal 13 Januari 2011

Kepala Badan Penelitian dan  
Pengembangan Kesehatan



Dr. dr. Trinono, MSc



**KEMENTERIAN KESEHATAN**  
**BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN KESEHATAN**

Jalan Percetakan Negara No. 29 Jakarta 10560 Kotak Pos 1226

Telepon: (021) 4261088 Faksimile: (021) 4243933

E-mail: [sesban@litbang.depkes.go.id](mailto:sesban@litbang.depkes.go.id), Website: <http://www.litbang.depkes.go.id>

**Perubahan Lampiran Keputusan Kepala Badan  
Litbangkes**

Nomor : HK.03.05/1/9345/2011

Tanggal : 2 Desember 2011

**SUSUNAN TIM PELAKSANA RISET PEMBINAAN BADAN LITBANGKES TAHUN 2011**

NO	JUDUL PENELITIAN	INSTANSI	SUSUNAN TIM	JABATAN TIM
1	Pengetahuan, Sikap dan Perilaku Kader dalam Deteksi Dini Kasus Gizi untuk Balita di Kab. Probolinggo Propinsi Jawa Timur	Pusat Humaniora, Kebijakan Kesehatan dan Pemberdayaan Masyarakat	Fenty Dwi Noviani, SKM dr. Tri Juni Angkasawati, M.Sc Nilasari Mukti, ST	Ketua  Pembantu Peneliti Administrasi
2	Peran Suami dan Keluarga Ibu Hamil dalam Perencanaan dan Persalinan dan Pencegahan Komplikasi di Kabupaten Sampang Jawa Timur	Pusat Humaniora, Kebijakan Kesehatan dan Pemberdayaan Masyarakat	Ira Ummu Aimanah, SKM dr. Wahyu Dwi Astuti, Sp. PK, M. Kes Sri Titiek Kalima, SE	Ketua  Pembantu Peneliti Administrasi
3	Pengaruh Penggunaan Obat Generik terhadap Cost Saving dan Keterjangkauan Harga Resep Di Lima Rumah Sakit Umum Daerah (RSUD) DKI Jakarta	Pusat Humaniora, Kebijakan Kesehatan dan Pemberdayaan Masyarakat	Muhamad Syaripuddin, S.Si., Apt. MKM Andi Leny Suyanty, S.Si., Apt, MKM  Ida Diana Sari, SSI., Apt, MPH	Ketua  Pembantu Peneliti  Pembantu Peneliti
4	Assesmen Fungsi Posyandu dalam Program Perencanaan Persalinan dan Pencegahan Komplikasi (P4K) di Kota Mojokerto dan Kabupaten Sampang Jawa Timur	Pusat Humaniora, Kebijakan Kesehatan dan Pemberdayaan Masyarakat	M. Agus Mikrajab, SKM., MPH Choirum Latifah, SKM  dr. Tety Rachmawati, M.Si.	Ketua  Pembantu Peneliti Pembantu Peneliti
5	Uji Mutagenik Ekstrak Gambir ( <i>Uncaria gambir roxb.</i> ) Untuk Melengkapi Data Keamanan	Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan	Novi Sulistyaningrum, MSi Dra. Sukmayati Alegantina Lina Rustanti, SF, Apt, MMol. Biol	Ketua  Pembantu Peneliti Pembantu Peneliti
6	Deteksi Imunoglobulin M Campak pada <i>Dried Serum Spot</i>	Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan	Kartika Dewi Puspa, Apt dr. Mursinah  Ratumas, SKM	Ketua  Pembantu Peneliti Pembantu Peneliti



**KEMENTERIAN KESEHATAN**  
**BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN KESEHATAN**

Jalan Percetakan Negara No. 29 Jakarta 10560 Kotak Pos 1226

Telepon: (021) 4261088 Faksimile: (021) 4243933

E-mail: [sesban@litbang.depkes.go.id](mailto:sesban@litbang.depkes.go.id), Website: <http://www.litbang.depkes.go.id>

NO	JUDUL PENELITIAN	INSTANSI	SUSUNAN TIM	JABATAN TIM
7	Pola Resistensi Bakteri <i>Vibrio cholerae</i> KLB Diare di Kabupaten Jember dan Bogor Tahun 2010	Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan	drh. Khariri Kambang Sariadji, SSi dr. Nelly Puspendari	Ketua Pembantu Peneliti Pembantu Peneliti
8	Karakteristik Demam Berdarah Dengue (DBD) di Lima RSUD Jakarta Tahun 2010	Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan	dr. Rossa Avrina dr. Eva Sulistiowati dr. Siti Nur Hasanah	Ketua Pembantu Peneliti Pembantu Peneliti
9	Karakteristik Genom Hantavirus Spesies Seoul Virus (SEOV) Strain Kepulauan Seribu yang di Isolasi dari <i>Rattus norvegicus</i> Tahun 2009	Pusat Teknologi Intervensi Kesehatan Masyarakat	Dian Perwitasari, SKM Subangkit, S.Si Rosita, SKM	Ketua Pembantu Peneliti Pembantu Peneliti
10	Pola Pemeriksaan Kehamilan dan Pertolongan Persalinan pada Wilayah Kerja Puskesmas Poned Kabupaten Karawang Tahun 2011	Pusat Teknologi Intervensi Kesehatan Masyarakat	Jerico F Pardosi, SKM, MPH Heny Lestary, SKM, MKM Sugiharti, SKM, MKM	Ketua Pembantu Peneliti Pembantu Peneliti
11	Status Gizi Pegawai Badan Litbangkes menurut Suhu Lingkungan Kerja di Jakarta Pusat dan Tawangmangu	Pusat Teknologi Intervensi Kesehatan Masyarakat	Fithia Dyah Puspitasari, S.Gz Prisca Petty Arfines, S.Gz	Ketua Pembantu Peneliti
12	Faktor-faktor yang Berhubungan dengan Densitas Mineral Tulang pada Wanita Dewasa Muda Usia 25-35 Tahun	Pusat Teknologi Terapan Kesehatan dan Epidemiologi Klinik	Budi Setyawati, MPH Elisa Diana Julianti, SP dr. Diane Adha	Ketua Pembantu Peneliti Pembantu Peneliti



**KEMENTERIAN KESEHATAN**  
**BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN KESEHATAN**

Jalan Percetakan Negara No. 29 Jakarta 10560 Kotak Pos 1226

Telepon: (021) 4261088 Faksimile: (021) 4243933

E-mail: [sesban@litbang.depkes.go.id](mailto:sesban@litbang.depkes.go.id), Website: <http://www.litbang.depkes.go.id>

NO	JUDUL PENELITIAN	INSTANSI	SUSUNAN TIM	JABATAN TIM
13	Kejadian Diabetes Mellitus Tipe 2 dari Kasus Toleransi Glukosa Terganggu dan Faktor Risiko Determinannya di Propinsi Jawa Tengah (follow up study dari Riskesdas 2007)	Pusat Teknologi Terapan Kesehatan dan Epidemiologi Klinik	Rika Rachmawati, MPH Dyah Santi Puspitasari, SKM, MKM Tety Meliawati, BSp	Ketua Pembantu Peneliti Administrasi
14	Pengembangan Media Edukasi Gizi Melalui Buku Mewarnai untuk Anak Peserta Program PAUD	Pusat Teknologi Terapan Kesehatan dan Epidemiologi Klinik	Yurista Permanasari, SKM, M.Si Ir. Erna Luciasari S. MKP Aditianti, SP, M.Si	Ketua Pembantu Peneliti Pembantu Peneliti
15	Persepsi Body Image dan Upaya Mencapainya Pada Remaja Putri di Bekasi	Pusat Teknologi Intervensi Kesehatan Masyarakat	Bunga Ch. Rosha, S.Sos, MSi  Nur Handayani utami, SP, M.Gizi Rika Rachmalina, SP	Ketua Tim Pelaksana  Peneliti Pembantu Peneliti
16	Hubungan Latihan Fisik terhadap Kejadian Peroksidasi Lipid pada Penderita Diabetes Mellitus Tipe 2	Pusat Teknologi Terapan Kesehatan dan Epidemiologi Klinik	Nazarina, M. Med. Sci Dr. ReViana, M. Kes  Yunita Diana Sari, SKM	Ketua Pembantu Peneliti Pembantu Peneliti
17	Studi Penilaian Teknik Pengukuran Panjang/Tinggi Badan Anak Balita di Posyandu	Pusat Teknologi Intervensi Kesehatan Masyarakat	Noviati Fuada, Sp, MKM Ir. Salimar, M.Si  Irlina Raswanti, SKM	Ketua Pembantu Peneliti Administrasi
18	Studi Bioekologi Vektor Malaria <i>Anopheles spp.</i> di Kecamatan Rowokele Kabupaten Kebumen Jawa Tengah	B2P2VRP Salatiga	Dhian Prastowo, S.Si Farida Dwi Handayani, S.Si, M.S. Yusnita Mirna Anggraini, S.Si	Ketua Pembantu Peneliti Pembantu Peneliti



**KEMENTERIAN KESEHATAN**  
**BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN KESEHATAN**

Jalan Percetakan Negara No. 29 Jakarta 10560 Kotak Pos 1226

Telepon: (021) 4261088 Faksimile: (021) 4243933

E-mail: [sesban@litbang.depkes.go.id](mailto:sesban@litbang.depkes.go.id), Website: <http://www.litbang.depkes.go.id>

NO	JUDUL PENELITIAN	INSTANSI	SUSUNAN TIM	JABATAN TIM
19	Pengetahuan, Sikap, dan Perilaku Masyarakat tentang Malaria di Kecamatan Rowokele, Kabupaten Kebumen, Jawa Tengah	B2P2VRP Salatiga	Anggi septia Irawan. S.Ant Aryani.Pujianti, SKM, M.Ph K Sekar Negari, SKM	Ketua Pembantu Peneliti Pembantu Peneliti
20	Efek Pemberian Infus Daun Ungu ( <i>Graptophyllum pictum</i> (L) griff) terhadap Waktu Perdarahan, Waktu Koagulasi dan Penurunan Serapan Plasma Mencit Galur <i>Swiss Webster</i>	B2P2TOOT Tawangmangu	drh. Galuh Ratnawati Saryanto, S.Farm. Apt. Fitriana,S.Farm	Ketua Pembantu Peneliti Pembantu Peneliti
21	Karakterisasi Simplisia Tanaman Jombang ( <i>Taraxacum officinale</i> ) dari Tiga Tempat Tumbuh Yang Berbeda	B2P2TOOT Tawangmangu	Elok Widayanti. MSi Amalia Damayanti, Msi Harto Widodo, M.Biotech	Ketua Pembantu Peneliti Administrasi
22	Studi Kemandirian Sosial Penderita Gaki di Kabupaten Magelang	BP GAKI Magelang	Cati Martiyana, S Sos Leny Latifah, Psi, MPH Hadi Ashar, SKM	Ketua Pembantu Peneliti Pembantu Peneliti
23	Studi Antropologi Budaya Mengenai Pola Makan pada Anak Penderita GAKI di Kabupaten Magelang	BP GAKI Magelang	Manzka Khairunnisa,S.Ant. Hastin Dyah Kusumawardani, SKM Aniek Prihatin, SKM	Ketua Pembantu Peneliti Pembantu Peneliti
24	Validasi Penentuan TSH Metode <i>Bloodspot</i> Dibanding dengan Serum untuk Diagnosa Hipotiroidisme pada Balita	BP GAKI Magelang	dr.Yuni Rahmawati R. Agus Wibowo S.Ssi.,MSc Muhamad Arif Musoddaq,S.Si	Ketua Pembantu Peneliti Pembantu Peneliti



**KEMENTERIAN KESEHATAN**  
**BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN KESEHATAN**

Jalan Percetakan Negara No. 29 Jakarta 10560 Kotak Pos 1226

Telepon: (021) 4261088 Faksimile: (021) 4243933

E-mail: [sesban@litbang.depkes.go.id](mailto:sesban@litbang.depkes.go.id), Website: <http://www.litbang.depkes.go.id>

NO	JUDUL PENELITIAN	INSTANSI	SUSUNAN TIM	JABATAN TIM
25	Pengetahuan, Sikap, Perilaku dan Lingkungan Rumah Penderita TB di Wilayah Kerja Puskesmas Sentani Kabupaten Jayapura	Balai Litbang Biomedis Papua	Tri Nury Kridaningsih, S.Si Anita Tanna, SKM Windarti Fauziah	Ketua Pembantu Peneliti Pembantu Peneliti
26	Hubungan Antara Manifestasi Klinis dan Kepadatan Parasit pada Penderita Malaria Falcifarum di Rumah Sakit Dian Harapan, Jayapura	Balai Litbang Biomedis Papua	dr. Antonius Oktavian, Mkes Yunita Mirino, SKM Anugrah Juliana, SKM	Ketua Pembantu Peneliti Pembantu Peneliti
27	Faktor-faktor yang Berhubungan dengan Angka Kecacangan di Dua Kelurahan di Kota Palu, Sulawesi Tengah	Balai Litbang P2B2 Donggala	Phetisya Pamela F. S, S.Si Sitti Chadijah, SKM, M.Si Ni Nyoman Verdiana, SKM	Ketua Pembantu Peneliti Pembantu Peneliti
28	Pemanfaatan Ekstrak Daun Ketepeng ( <i>Cassia alata Linn</i> ) dan Ketepeng Kecil ( <i>Cassia tora</i> ) sebagai Anti Malaria secara In Vitro	Balai Litbang P2B2 Donggala	Murni, S.Si Drh. Gunawan Brian Janitra, S.Kom	Ketua Pembantu Peneliti Pembantu Peneliti
29	Faktor Risiko Penularan Filariasis Berkaitan dengan Vektor dan Habitat Perkembangbiakan di Desa Karya Makmur, Kecamatan Madang Suku III Kabupaten OKU Timur Tahun 2011	Loka Litbang P2B2 Baturaja	Yanelza Supranelfy, S.Si Hotnida Sitorus, M.Sc R. Irpan Pahlepi, SKM	Ketua Pembantu Peneliti Pembantu Peneliti
30	Studi Pengetahuan, Sikap dan Perilaku Masyarakat Berkaitan dengan Filariasis Limfatik di Kecamatan Madang Suku III Kabupaten OKU Timur Tahun 2011	Loka Litbang P2B2 Baturaja	Drh Nungki Hapsari Suryaningtyas Santoso, SKM, M.Sc Risna Gunvari, SKM	Ketua Pembantu Peneliti Pembantu Peneliti



**KEMENTERIAN KESEHATAN**  
**BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN KESEHATAN**

Jalan Percetakan Negara No. 29 Jakarta 10560 Kotak Pos 1226

Telepon: (021) 4261088 Faksimile: (021) 4243933

E-mail: [sesban@litbang.depkes.go.id](mailto:sesban@litbang.depkes.go.id), Website: <http://www.litbang.depkes.go.id>

NO	JUDUL PENELITIAN	INSTANSI	SUSUNAN TIM	JABATAN TIM
31	Distribusi Spasial Malaria di Kecamatan Lengkiti Kabupaten Ogan Komering Ulu Provinsi Sumatera Selatan	Loka Litbang P2B2 Baturaja	Ritawati.S.Si Yahya, SKM, M.Si Betriyon, SKM	Ketua Pembantu Peneliti Pembantu Peneliti
32	Sensitifitas dan Spesifisitas Limfosit Plasma Biru dalam Diagnosa Demam Berdarah Dengue pada Berbagai Kelompok Umur di Kota Tasikmalaya	Loka Litbang P2B2 Ciamis	Drh. Tri Wahono Heni Prasetyowati, S.Si, M.Sc Yuneu Yuliasih, SKM	Ketua Pembantu Peneliti Pembantu Peneliti
33	Hubungan Indeks Larva dan Indeks Pupa Terhadap Kasus Demam Berdarah Dengue di Kecamatan Tawang, Kota Tasikmalaya	Loka Litbang P2B2 Ciamis	Muhammad Umar Riandi, S.Si Mara Ipa, SKM, M.Sc Joni Hendri, SKM	Ketua Pembantu Peneliti Pembantu Peneliti
34	Kapasitas Vektor Nyamuk Anopheles di desa Pamotan, Kecamatan Kalipucang, Kabupaten Ciamis, Jawa Barat	Loka Litbang P2B2 Ciamis	Pandji Wibawa Dhewantara, S.Si Endang Puji Astuti, SKM, M.Si Firda Yanuar, S.Si	Ketua Pembantu Peneliti Pembantu Peneliti
35	Pola Sebaran Leptospirosis di Daerah Istimewa Yogyakarta	Loka Litbang P2B2 Banjarnegara	Rahmawati, S.Si Sunaryo, SKM.M.Sc Tri Isnani, S.Sos	Ketua Pembantu Peneliti Pembantu Peneliti
36	Studi Bioekologi Tikus di daerah dengan Masalah Leptospirosis di Kabupaten Sleman Provinsi DIY	Loka Litbang P2B2 Banjarnegara	Asnan Prastawa, SKM Zumrotus Sholichah, SKM drh.Agung Yuwono	Ketua Pembantu Peneliti Pembantu Peneliti



**KEMENTERIAN KESEHATAN**  
**BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN KESEHATAN**

Jalan Percetakan Negara No. 29 Jakarta 10560 Kotak Pos 1226

Telepon: (021) 4261088 Faksimile: (021) 4243933

E-mail: sesban@litbang.depkes.go.id, Website: <http://www.litbang.depkes.go.id>

NO	JUDUL PENELITIAN	INSTANSI	SUSUNAN TIM	JABATAN TIM
37	Bioekologi Vektor Malaria di Kabupaten Sumba Tengah	Loka Litbang P2B2 Waikabubak	Monika Noshirma, SKM Ni Wayan Dewi Adyana, S.Si Ruben Wadu Willa, SKM	Ketua Pembantu Peneliti Pembantu Peneliti
38	Pola Pencarian Pertolongan Persalinan di Masyarakat Aceh Utara (Studi dengan Pendekatan Antropologi Sosial Budaya Bidang kesehatan)	UPF Litbang Aceh	Mufida Afreni B. Bara, S.Sos Fitrah Wahyuni S. Si, Apt Zain Hadifah, SKM	Ketua Pembantu Peneliti Pembantu Peneliti
39	Evaluasi Pelaksanaan Desa Siaga Di Kabupaten Bengkulu Utara	FE Universitas Ratu Samban, Bengkulu	Rossa Damayanti, SE, MM Praningrum, SE, M. Si Milono, SKM, MM	Ketua Tim Pelaksana Pembantu Peneliti Pembantu Peneliti
40	Hubungan Kondisi Pre-Operatif dan Waktu Tunggu Dengan outcome Pada Pasien Elektif Pasca Bedah Pintas Koroner di RS Jantung dan Pembuluh Darah Harapan Kita	FKM UI	Hartaty Sarma Sangkot, SKM, MARS Vetty Yulianty Permanasari, S.Si, MPH Tresnasari Satya Putri, SKM	Ketua Pembantu Peneliti Pembantu Peneliti
41	Analisis Sosial Budaya Penanggulangan Flu Burung pada Sentra Peternakan Ayam	FKM-Unhas	Indra Fajarwati Ibnu, SKM, MA Wahiduddin, SKM, M.Kes Drs. Muh. Yahya, MA	Ketua Pembantu Peneliti Administrasi
42	Hubungan Kadar Hemoglobin dan Serum Feritin Ibu Hamil 36-38 Minggu dengan Serum Feritin Plasenta, Berat Plasenta, Berat dan Panjang Badan Bayi Baru Lahir	FKM-Unhas	St. Fatimah, SKM, M.Kes dr. A. Yasmin Syauki, M.Sc Fitriana Umar, SKM	Ketua Pembantu Peneliti Administrasi

Ditetapkan di Jakarta

Pada tanggal 2 Desember 2011

Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan,



## KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmanirahim,

Puji syukur kami panjatkan kehadirat Allah SWT atas segala keridho'an, taufiq dan HidayahNya yang telah melimpahkan rahmat sehingga pelaksanaan penelitian dan penyusunan laporan penelitian **Karakterisasi *genome* hantavirus spesies Seoul virus (SEOV) strain Kepulauan Seribu yang diisolasi dari *Rattus norvegicus* Tahun 2009** dapat diselesaikan. Penelitian ini merupakan bagian dari penelitian Riset Pembinaan Kesehatan yang diselenggarakan oleh Badan Penelitian Kesehatan dan bertujuan untuk mendapatkan data karakterisasi hantavirus yang ditemukan di Kepulauan Seribu.

Laporan ini memuat informasi mengenai homologi nukleotida, homologi asam amino Gen S dan M dan melihat adanya epitop sel T di daerah lestari dari gen S, sedangkan untuk gen L dilakukan desain primer untuk digunakan pada penelitian hantavirus selanjutnya.

Dalam kesempatan ini kami sampaikan terima kasih kepada Kepala Badan Penelitian Kesehatan yang memberikan bantuan dan fasilitas untuk pelaksanaan penelitian ini sehingga dapat diselesaikan dengan lancar.

Kami menyadari masih banyak kekurangan dan keterbatasan dalam penulisan laporan ini. Semoga laporan ini banyak membawa manfaat untuk masyarakat dan ilmu pengetahuan sebagai upaya pencegahan penyakit yang sedang berkembang saat ini. Kepada semua pihak yang banyak membantu semoga mendapatkan limpahan rahmat dari Allah SWT.

Jakarta, 20 Januari 2012

Tim Penelitian

## RINGKASAN EKSEKUTIF

Infeksi hantavirus adalah salah satu *new emerging diseases* di Indonesia dan menjadi penyakit potensial yang dapat menimbulkan kematian. Hantavirus merupakan salah satu genus virus yang dapat ditularkan oleh beberapa spesies rodensia. Infeksi hantavirus merupakan penyakit zoonosis yang dapat menyebabkan *Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome (HFRS)* dan *Hemorrhagic pulmonary Syndrome (HPS)* pada manusia. Pada penelitian yang dilakukan oleh Puslitbang Ekologi Kesehatan, Depkes RI tahun 2009 menemukan hantavirus dengan spesies SEOV strain Kepulauan Seribu. Salah satu faktor yang mempengaruhi perkembangan penyakit ini adalah lingkungan yang buruk sehingga menjadi tempat berkembangbiaknya hewan reservoir

Sampel tersebut telah dilakukan *screening* menggunakan ELISA untuk menemukan hasil positif hantavirus. Dari 83 sampel rodensia yang ditangkap, diperoleh 4 sampel positif serologi. Pada tahun 2010, dari 4 sampel tersebut dilakukan *Real Time Polymerase Chain Reaction (RT-PCR)* untuk konfirmasi. Reaksi RT-PCR memperoleh 3 sampel positif dengan nomor sampel KS74, KS80 dan KS90. Kemudian sampel tersebut diekstraksi dan diisolasi menggunakan jaringan paru-paru rodensia sehingga menghasilkan RNA. Kemudian RNA tersebut dilakukan reaksi balik menjadi cDNA dan disimpan pada Laboratorium terpadu Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan dalam  $-20^{\circ}\text{C}$  sampai digunakan kembali.

Pada penelitian ini akan dilakukan karakterisasi yang berguna untuk memperoleh informasi mengenai homologi nukleotida, homologi asam amino dan melihat adanya epitop sel T di daerah *lesteri* dari gen S, sedangkan untuk Gen M dilakukan karakterisasi secara *partial* untuk melihat adanya kekerabatan dengan Seoul virus dari Negara lain. Karakterisasi ini dilakukan karena strain virus di setiap tempat atau negara dapat berbeda sehingga memungkinkan adanya perbedaan virulensinya.

Jenis penelitian ini adalah observasi laboratorium dengan mengamplifikasi virus menggunakan 4 pasang primer untuk gen S dan 2 pasang primers untuk gen M yang di desain dengan merujuk program NCBI, sedangkan primer untuk gen L sudah berhasil di desain, tetapi belum dilakukan optimasi, sehingga primer gen L belum dapat digunakan untuk karakterisasi. Setelah didapatkan hasil amplifikasi kemudian dilakukan elektroforesis dan purifikasi selanjutnya di sekuensing menggunakan ABI 377 *automatic*

*sequencer*. Analisis data menggunakan program *Seqscape* untuk menggabungkan hasil sekuen dan program bioedit untuk melihat matrik homologi, selanjutnya menggunakan *Mega5* untuk membuat pohon filogenetik dan melihat daerah lestari.

Hasil sekuensing genom akan dibandingkan dengan sekuen nukleotida Seoul virus yang berasal dari Negara lain merujuk dari *gene bank*. Hasil analisis perbandingan gen S antara Seoul virus strain Indonesia dengan Seoul virus asal Korea menunjukkan bahwa homologi tertinggi nukleotida di dapat dari strain KS74 sebesar 88.4% dan homologi terendah pada strain KS90 sebesar 87.2%. Homologi gen S antar strain Kepulauan Seribu yang dibandingkan didapatkan hasil antara 98.5% - 96.8%. Homologi tertinggi Asam Amino gen S yang dibandingkan dengan asam amino Seoul virus dan strain dari Singapore adalah 91.3 % pada strain KS74 dan terendah sebesar 89.5% pada strain KS90. Homologi asam amino gen S antara strain Kepulauan Seribu berkisar antara 98.4% - 99.4%. Homologi nukleotida tertinggi pada gen M antara strain Kepulauan Seribu yaitu pada KS90 dengan KS80 yaitu sebesar 95.5% dan terendah pada KS80 dengan KS74 yaitu sebesar 91.4%. Homologi asam amino gen M tertinggi antara strain Kepulauan Seribu tertinggi pada KS90 dengan KS80 yaitu sebesar 89%, sedangkan homologi terendah pada KS80 dengan KS74 yaitu sebesar 83,2%.

Terdapat perubahan pada asam amino gen S dari ketiga strain yang diteliti tetapi protein tersebut tidak menyebabkan perubahan struktur dan sifat virus. Bagian *conserved* dari gen S dapat digunakan untuk perkembangan uji diagnostik untuk hantavirus strain Indonesia. Karakterisasi *genom* virus ini akan memberikan informasi tentang kekerabatan dan prediksi virulensi virus berdasarkan sekuen asam amino. Diharapkan hasil karakterisasi ini bermanfaat untuk perkembangan vaksin dan uji diagnostik Seoul virus (SEOV) strain Indonesia.

## Karakterisasi *genome* hantavirus spesies Seoul virus (SEOV) strain Kepulauan Seribu yang diisolasi dari *Rattus norvegicus* tahun 2009

### ABSTRAK

Dian Perwitasari

Infeksi hantavirus merupakan *new emerging disease* di Indonesia yang dapat menyebabkan kematian pada manusia. Pada tahun 2009 dengan menggunakan metode serologi telah ditemukan *Rattus norvegicus* terinfeksi hantavirus di Kepulauan Seribu. Hantavirus spesies Seoul virus (SEOV) adalah virus RNA negative rantai tunggal yang termasuk dalam keluarga Bunyaviridae. Genom Seoul virus terdiri dari 3 gen yaitu gen S (small) yang mengkode protein nukleokapsid, gen M (medium) yang mengkode glikoprotein G1 dan G2 dan gen L (large) yang mengkode *RNA dependent RNA polymerase*. Protein hasil translasi dari ketiga gen tersebut menunjukkan protein N merupakan protein yang paling imunogenik dan mempunyai daerah lestari, sehingga berpotensi untuk pengembangan uji diagnostik. Pada penelitian ini dilakukan sekuensing gen S lengkap dan gen M *partial* yang berasal dari jaringan paru-paru rodensia di Kepulauan Seribu, sedangkan primer untuk gen L telah berhasil didesain. Dari 83 rodensia yang ditangkap didapatkan 3 sampel dengan RT-PCR positif yang selanjutnya diberi kode KS74, KS80 dan KS90. Hasil sekuensing di analisa menggunakan program *seqscape* sehingga didapatkan urutan nukleotida. Kemudian di analisis lebih lanjut dengan menggunakan program Bioedit dan Mega5. Homologi Nukleotida dan asam amino dari ketiga strain Kepulauan Seribu tersebut dibandingkan dengan Seoul virus Korea yang diambil dari genbank dengan nomor akses AY006465.1. Untuk analisis filogenetik, strain yang diteliti dibandingkan dengan 9 strain hantavirus yang berasal dari Negara lain. Hasil analisis filogenetik menunjukkan bahwa gen S dari strain yang diteliti berdekatan dengan strain yang berasal dari Korea dan Singapore. Dari analisis perbandingan menunjukkan bahwa homologi nukleotida pada gen S tertinggi adalah strain KS74 (88.4%) dan terendah pada strain KS90 (87.2%), jika dibandingkan dengan Seoul virus dari Korea. Sedangkan homologi asam amino tertinggi adalah strain KS74 (91.3 %) dan terendah pada strain KS90 (89.5%), jika dibandingkan dengan Seoul virus Korea. Homologi nukleotida tertinggi pada gen M antara strain Kepulauan Seribu yaitu pada KS90 dengan KS80 yaitu sebesar 95.5% dan terendah pada KS80 dengan KS74 yaitu sebesar 91.4%. Analisis perbandingan homologi asam amino gen M tertinggi antara strain Kepulauan Seribu tertinggi pada KS90 dengan KS80 yaitu sebesar 89%, sedangkan homologi terendah pada KS80 dengan KS74 yaitu sebesar 83,2%. Terdapat perbedaan asam amino dari ketiga strain yang diteliti tetapi dari analisis struktur protein, perbedaan tersebut tidak merubah struktur protein. Pada penelitian ini ditemukan juga bagian yang lestari dari gen S sehingga dapat digunakan sebagai uji diagnostik untuk hantavirus strain Indonesia di masa mendatang.

**Kata kunci:** Soulvirus (SEOV), genom, Kepulauan Seribu, Indonesia

## Genome Characterization of Hantavirus species Seoul virus (SEOV) Thousand Islands strain isolated from *Rattus norvegicus* in 2009

### ABSTRACT

Dian Perwitasari

Hantavirus infection is a new emerging disease in Indonesia that is cause of death in humans. In 2009, a species Seoul virus has been found of *Rattus norvegicus* in thousand islands by serology test. Hantavirus species Seoul virus (SEOV) of are RNA viruses negative single stranded from the family Bunyaviridae. Seoul virus has 3 genes, gene S (small) that encodes a protein gene nucleocapsid, M (medium) that encodes glycoprotein's G1 and G2 and L (large) genes that encode RNA dependent RNA polymerase. The translation result of protein showed S gene, which are immunogenic and has conserved region sustainable to be the potential development of a diagnostic test. In this study S gene was complete sequence and M gene was partial sequence derived from lung tissue rodents in the Thousand Islands, while the primers for L gene has been successfully designed. The arrest of 83 rodents obtained 3 samples by RT-PCR was positive, which has code KS74, KS80 and KS90. The results of sequence were analyze by seqscape program to obtain a sequence of nucleotides, and then used Mega5 programs. The phylogenetic analyze, homology nucleotides and amino acids were compared with the other hantavirus species from gene bank. The result of Phylogenetic tree showed close relations S gene between strain of Kepulauan Seribu with Seoul virus of Korean and Singapore. The analyze comparison for S gene showed, the highest homology from strain KS74 is 88.4% and the lowest from strain KS90 is 87.2%. The other hand, the highest homology of amino acids sequence compared with Seoul virus came from strain KS74 is 91.3% and the lowest came from strain KS90 is 89.5%. The analyze comparison for M gene the highest amino acid homologies between strains of at the Thousand Islands that is equal 89% belong to KS80 and KS90. The lowest homology belong to KS74 and KS80 that is equal to 83.2%. The analyze protein of three strain which have differences, but didn't change of protein structure. There are differences in amino acids if compared to SEOV strains especially for cysteine amino acids that is play a role for formation in disulfide bonds of globular protein structure: the changes affect has expected function of the N protein and viral pathogenicity. Therefore, the study of amino acid effect for differences function of the N protein and viral pathogenicity are required in the future.

Key word: Seoul virus, S segment, Thousand Island

## **SUSUNAN TIM PENELITIAN**

**Ketua Pelaksana** : Dian Perwitasari, SKM, M.Biomed

**Peneliti** : 1. Subangkit, S.Si, M.Biomed  
2. Rosita, SKM

## DAFTAR ISI

BAB	HALAMAN
HALAMAN JUDUL.....	i
KATA PENGANTAR.....	ii
RINGKASAN EKSEKUTIF .....	iii
ABSTRAK.....	v
ABSTRACT.....	vi
SUSUNAN TIM.....	vii
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
DAFTAR LAMBANG.....	xiv
DAFTAR SINGKATAN.....	xv
DAFTAR SINGKATAN NUKLEOTIDA.....	xvii
DAFTAR SINGKATAN ASAM AMINO.....	xvii
I. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Manfaat Penelitian.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.3.1 Tujuan Umum.....	3
1.3.2 Tujuan Khusus.....	3
II. METODE PENELITIAN.....	5
2.1 Alur Kerja Penelitian.....	5
2.2 Sampel Penelitian.....	5
2.3 Tempat dan Waktu Penelitian.....	6
2.4 Desain dan Jenis Penelitian.....	6
2.5 Prosedur Kerja.....	6
2.5.1 Alat dan Bahan.....	6
2.5.2 Prosedur Kerja.....	7
2.5.2.1 Strain virus.....	7

	2.5.2.2	Desain primer.....	7
	2.5.2.3	Reaksi <i>Reverse Transkripsi</i> (RT).....	8
	2.5.2.4	Amplifikasi.....	8
	2.5.2.5	Jel Elektroforesis.....	9
	2.5.2.6	Purifikasi.....	9
	2.5.2.7	Sekuensing.....	10
	2.5.2.8	Analisa Data.....	11
III.	HASIL .....		13
	3.1	Amplifikasi Genome.....	13
	3.1.1	Gen S.....	13
	3.1.1.1	Pasangan primer SEOS28F dan SEOS360R.....	13
	3.1.1.2	Pasangan primer MurS110R dan SEOS1160R.....	13
	3.1.1.3	Pasangan primer VNS800F dan VNS1589R.....	14
	3.1.1.4	Pasangan primer VNS1501F dan VNCS8R.....	14
	3.1.2	Gen M.....	14
	3.1.3	Gen L.....	15
	3.2	Pohon Filogenetik.....	16
	3.3	Homologi Nukleotida dan Asam Amino.....	17
	3.4	Mutasi Asam Amino.....	19
	3.5	Epitope sel T <i>cytotoxic</i> .....	20
IV.	PEMBAHASAN.....		22
	4.1	Amplifikasi <i>genome</i> .....	22
	4.2	Pohon Filogenetik.....	23
	4.3	Homologi Nukleotida dan Asam Amino.....	24
	4.4	Mutasi Asam Amino gen S.....	25
	4.5	Epitope sel T <i>cytotoxic</i> .....	26
	4.6	Potensi Protein S sebagai Uji Imunodiagnostik.....	27
V.	KESIMPULAN .....		28
VI.	SARAN.....		29
VII.	UCAPAN TERIMA KASIH.....		30
VIII.	DAFTAR KEPUSTAKAAN.....		30

IX. BIODATA PENELITI.....	33
LEMBAR PERSETUJUAN.....	34
LAMPIRAN .....	35

## DAFTAR TABEL

<b>TABEL</b>	<b>HALAMAN</b>
1. Primers dan TM primer yang digunakan.....	7
2. Gen S Seoul Virus pembanding.....	11
3. Gen M Seoul Virus pembanding.....	12
4. Hasil Desain Primer gen L.....	15
5. Homologi Asam Amino dan Nukleotida gen S.....	18
6. Homologi Asam Amino dan Nukleotida gen M.....	19
7. Perubahan susunan Asam Amino gen S pada ketiga sampel yang dibandingkan dengan Seoul virus.....	20

## DAFTAR GAMBAR

GAMBAR	HALAMAN
1. Alur Kerja Penelitian.....	4
2. Hasil PCR fragmen 1.....	13
3. Hasil PCR fragmen 2.....	13
4. Hasil PCR fragmen 3.....	14
5. Hasil PCR fragmen 4.....	14
6. Hasil PCR gen M.....	15
7. Pohon Filogenetik gen S.....	16
8. Pohon Filogenetik gen M.....	17
9. Daerah pengenalan epitop N-terminal dari tiga strain yang diteliti.....	21
10. Daerah pengenalan epitop C-terminal dari tiga strain yang diteliti.....	21
11. Daerah pengenalan epitop sel T <i>cytotoxic</i> dari Seoul virus.....	21

## DAFTAR LAMPIRAN

LAMPIRAN	HALAMAN
1. Runutan nukleotida lestari gen S.....	35
2. Runutan Asam Amino lestari gen S.....	44
3. Runutan nukleotida lestari gen S.....	49
4. Runutan Asam Amino lestari gen S.....	55

## DAFTAR LAMBANG

°C	=	Derajat Celcius
bp	=	Base pair
kb	=	Kilo base
kDa	=	Kilo dalton
%	=	Persen
pH	=	Derajat keasaman
rpm	=	<i>Revolution per minute</i>
μl	=	mikroliter
μg	=	Microgram
ng	=	Nanogram
ml	=	Milliliter
mM	=	Milimolar
α	=	Alpha
β	=	Betta
λ	=	Lamda

## DAFTAR SINGKATAN

ADRS	=	<i>Acute Respiratory Distrees Sindrome</i>
AB	=	<i>Applied Biosystem</i>
bp	=	<i>Base Pair</i>
cDNA	=	<i>Complementary Deoxyrebomucleid Acid</i>
CFR	=	<i>Case Fatality Rate</i>
CTL	=	<i>Cytotoxic T Lymphosit</i>
DIC	=	<i>Koagulasi Intravaskular Diseminata</i>
DNA	=	<i>Deoxyrebomucleid Acid</i>
EB	=	<i>Elution buffer</i>
FRNT	=	<i>Foccus Reductation Neutralization Test</i>
FUO	=	<i>Fever Unknown Origine</i>
Gc	=	<i>Glikoprotein carbon</i>
Gn	=	<i>Glikoprotein nitrogen</i>
HFRS	=	<i>Haemorrhagic Fever with Renal Sindrome</i>
HNTV	=	<i>Hantavirus</i>
HPS	=	<i>Hantavirus Pulmonary Sindrome</i>
IFA	=	<i>Immunology Flourecent Assay</i>
IFN	=	<i>Interferon</i>
IgG	=	<i>Imunoglobulin M</i>
IgM	=	<i>Immunoglobulin G</i>
IL	=	<i>Interleukin</i>
kb	=	<i>Kilobase</i>
KS	=	<i>Kepulauan Seribu</i>
L	=	<i>Large</i>
M	=	<i>Medium</i>
N	=	<i>Nukleokapsid</i>
NP	=	<i>Nukleokapsid Protein</i>
PCR	=	<i>polymerase chain reaction</i>
PE	=	<i>Protein Extraction</i>
PMBC	=	<i>peripheral blood mononuclear cells</i>

PUUV	=	Puumalavirus
RNA	=	<i>Ribonucleid Acid</i>
RT	=	Reverse Transkripsi
RT-PCR	=	<i>Real Time Polimerase Chain Reaction</i>
S	=	Small
SEOV	=	Seoul virus
SNV	=	Sinombrevirus
TAE	=	<i>Tris-Acetate EDTA</i>
TPMV	=	Totapalayamvirus
UPGMA	=	Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean
UVP	=	<i>Ultraviolet Products</i>
WHO	=	World Health Organization

## DAFTAR SINGKATAN NUKLEOTIDA

A	=	Adenin
C	=	Sitosin
T	=	Timin
G	=	Guanin

## DAFTAR SINGKATAN ASAM AMINO

A	=	Alanin (Ala)
C	=	Sistein (Cys)
D	=	Asam Aspartat (Asp)
E	=	Asam Glutamat (Glu)
F	=	Fenilalanin (Phe)
G	=	Glisin (Gly)
H	=	Histidin (His)
I	=	Isoleusin (Ile)
K	=	Lisin (Lys)
L	=	Leusin (Leu)
M	=	Metionin (Met)
N	=	Asparagin (Asn)
P	=	Prolin (Pro)
Q	=	Glutamin (Gln)
R	=	Arginin (Arg)
S	=	Serin (Ser)
T	=	Threonin (Thr)
V	=	Valin (Val)
W	=	Triptofan (Trp)
Y	=	Tirosin (Tyr)

## BAB I. PENDAHULUAN

### 1.1 LATARBELAKANG

Saat ini telah terjadi perkembangan dan penyebaran penyakit yang sangat pesat diantaranya adalah infeksi hantavirus. Penyakit ini sudah menyebar ke seluruh dunia sejak ditemukan pertama kali pada tahun 1950 saat terjadinya perang Korea. Infeksi *Hantavirus* saat ini sudah termasuk dalam *emerging diseases* penting. Manifestasi penyakit ini memperlihatkan dua gejala yaitu demam berdarah dengan sindrom renal *Haemorrhagic Fever with Renal Syndrome* (HFRS) dan *Hantavirus Pulmonary Syndrome* (HPS).<sup>1</sup>

Total jumlah kasus HFRS yang pernah dilaporkan di seluruh dunia sekitar 60.000 – 150.000. Lebih dari 90% kasus terjadi di negara-negara Asia. Sedangkan kasus HPS dilaporkan pernah terjadi di Eropa dan Amerika.<sup>1</sup> Di Amerika kasus HPS dikenal sebagai *Acute Respiratory Distress Syndrome* (ARDS) dan sebanyak 40 % mengakibatkan kematian. *Case Fatality Rate/CFR* HFRS berkisar antara 5% -15%.<sup>2</sup>

Prevalensi infeksi hantavirus di daerah pelabuhan Pulau Batam dan Makasar sebesar 1,6 %.<sup>2</sup> Sedangkan persentase antibodi positif hantavirus dari 1052 serum rodensia yang diperiksa secara serologis dengan ELISA yang berasal dari Pulau Batam, Serang, Jakarta, Subang, Semarang dan makasar secara berurutan adalah 2,3%, 9,0%, 28,6%, 4,2%, 12,4%, dan 5,1%.<sup>3</sup> Beberapa jenis rodensia (*Rattus norvegicus* dan *Rattus tanezumi*) dan hewan invertebrata (*Suncus murinus*) di daerah pelabuhan Jakarta dan daerah kepulauan yaitu beberapa Kepulauan Seribu juga sudah terinfeksi hantavirus.<sup>2</sup>

HFRS dapat menimbulkan kerusakan ginjal, sedangkan pada HPS kerusakan terjadi di paru-paru dan limpa.<sup>2,3</sup> HFRS timbul dengan peradangan menyeluruh dalam pembuluh darah kapiler dan pembuluh darah kecil dapat juga terjadi insufisiensi fungsi renal (hematuria, proteinuria, oliguria dan/atau creatinin serum di atas normal). Beberapa gejala/sindrom klinis lain dalam fase prodromal dapat terjadi selama 3 – 5 hari berupa demam tinggi, gejala mirip influenza, berbagai manifestasi perdarahan, nyeri persendian, sakit kepala dan beberapa kasus dapat timbul dengan gejala *Fever Unknown Origin* (FUO). Kasus yang terjadi pada HPS dapat juga disertai peradangan pada ginjal hingga timbul pembengkakan.<sup>1,4</sup>

Hantavirus termasuk dalam keluarga *Bunyaviridae* dan merupakan virus RNA negative sense yang mempunyai envelope. Bentuk dari hantavirus adalah lingkaran atau oval dengan diameter antara 80 sampai dengan 120 nm. Genome dari hantavirus berisi S (small) segment, M (medium) segment, dan L (large) segment. S segment RNA yang mengkodekan nukleokapsid protein (N, 48 sampai dengan 58 kDa) dan M RNA mengkodekan poliprotein dua external glikoprotein Gn (68 – 76 kDa) dan Gc (52 – 58 kDa) dan *transcriptase* protein L (246–247 kDa) mengkodekan L protein.<sup>1</sup>

Replikasi hantavirus terjadi di makrofag dan sel-sel endotel vaskular, terutama di paru-paru dan ginjal. Secara umum virus masuk melalui membran sel menggunakan reseptor integrin- $\alpha$ V atau - $\beta$ 3. Beberapa strain hantavirus lain dapat masuk melalui integrin - $\alpha$ II atau - $\beta$ I.<sup>5</sup> Pertama kali virus masuk ke dalam tubuh melalui pernafasan atau pada luka terbuka kemudian menempel pada sel inang melalui reseptor spesifik. Setelah terjadi pengikatan pada reseptor seluler, kemudian virion masuk dengan cara endositosis.<sup>6</sup> Di dalam sitoplasma menggunakan protein *fitonectrin*, virion mengeluarkan materi genetik yaitu RNA S, M dan L. Protein L berfungsi sebagai RdRp (*RNA dependent RNA polymerase*) yang melakukan replikasi virus dan transkripsi mRNA. Protein L menghasilkan RNA genom komplemen yaitu *sense-positif RNA intermediate*. mRNA kemudian di transkripsi dari *sense-positif intermediate*. mRNA di translasi oleh ribosom untuk menghasilkan protein NP, glikoprotein (G), dan RdRp. Protein G dipotong oleh protease untuk menghasilkan G1 dan G2. Virion dirakit dengan cara menggabungkan nukleokapsid dengan glikoprotein yang berada di membran dalam Golgi selanjutnya ke *cisternae* Golgi. Virion baru yang terbentuk kemudian keluar ke ekstrasel melalui vesikel dan dilepaskan dengan cara eksositosis.<sup>5,7,8</sup>

Penularan Infeksi hantavirus dapat melalui udara yang tercemar oleh urine dan saliva yang berasal dari hewan rodensia yang terinfeksi. Lingkungan yang buruk sehingga menjadi tempat lalu lalang dan berkembangbiak rodensia merupakan tempat yang berpotensi untuk terjadi penyebaran hantavirus, apabila rodensia tersebut terinfeksi.<sup>1,2,3</sup> Infeksi pada manusia dapat terjadi jika manusia berada pada lingkungan tersebut dan tidak sengaja menghirup udara yang sudah tercemar hantavirus.<sup>2,3</sup> Sedangkan infeksi yang terjadi pada rodensia dapat melalui kontak langsung dengan hewan (rodensia) yang terinfeksi hantavirus sebelumnya. Rodensia merupakan reservoir utama terjadinya hantavirus.<sup>2</sup>

Pada tahun 2009, penelitian hantavirus di Kepulauan Seribu menemukan spesies SEOV dengan serologi diagnostik dan metoda PCR. Pada penelitian tersebut belum dilakukan karakterisasi virus tersebut. Oleh karena itu perlu dilakukan karakterisasi karena kemungkinan memiliki kesamaan ataupun perbedaan dengan hantavirus strain negara lain. Karakter virus strain Kepulauan Seribu kemungkinan memiliki ciri yang khas atau keunikan nukleotida dan asam amino yang menandakan asal daerah ditemukannya virus. Penelitian tersebut juga belum mempunyai primer yang spesifik gen L untuk amplifikasi virus. Untuk menentukan primer yang tepat pada strain Kepulauan Seribu, maka dilakukan desain primer untuk gen L. Karakterisasi dapat juga menentukan apakah ada hubungan antara mutasi asam amino dengan virulensi SEOV strain Kepulauan Seribu. Sedangkan sekuen genom virus ini, akan memberikan informasi tentang kekerabatan dan prediksi virulensi virus berdasarkan sekuen asam amino yang bermanfaat untuk perkembangan vaksin dan uji imunodiagnostik Seoul virus (SEOV) strain Indonesia.

## **1.2 MANFAAT PENELITIAN**

- 1.2.1 Penelitian ini dapat digunakan sebagai informasi penelitian lanjutan untuk melihat patogenitas dan potensi penyebaran infeksi hantavirus di masyarakat.
- 1.2.2 Penelitian ini dapat digunakan untuk dasar perkembangan uji imunodiagnostik dan penemuan kandidat vaksin.

## **1.3 TUJUAN PENELITIAN**

### **1.3.1 Tujuan Umum**

Mendapatkan karakter *genome* hantavirus spesies Seoul virus (SEOV) strain Kepulauan Seribu yang diisolasi dari *Rattus norvegicus* tahun 2009 sebagai upaya pengembangan uji diagnostik dan vaksin.

### **1.3.2 Tujuan Khusus**

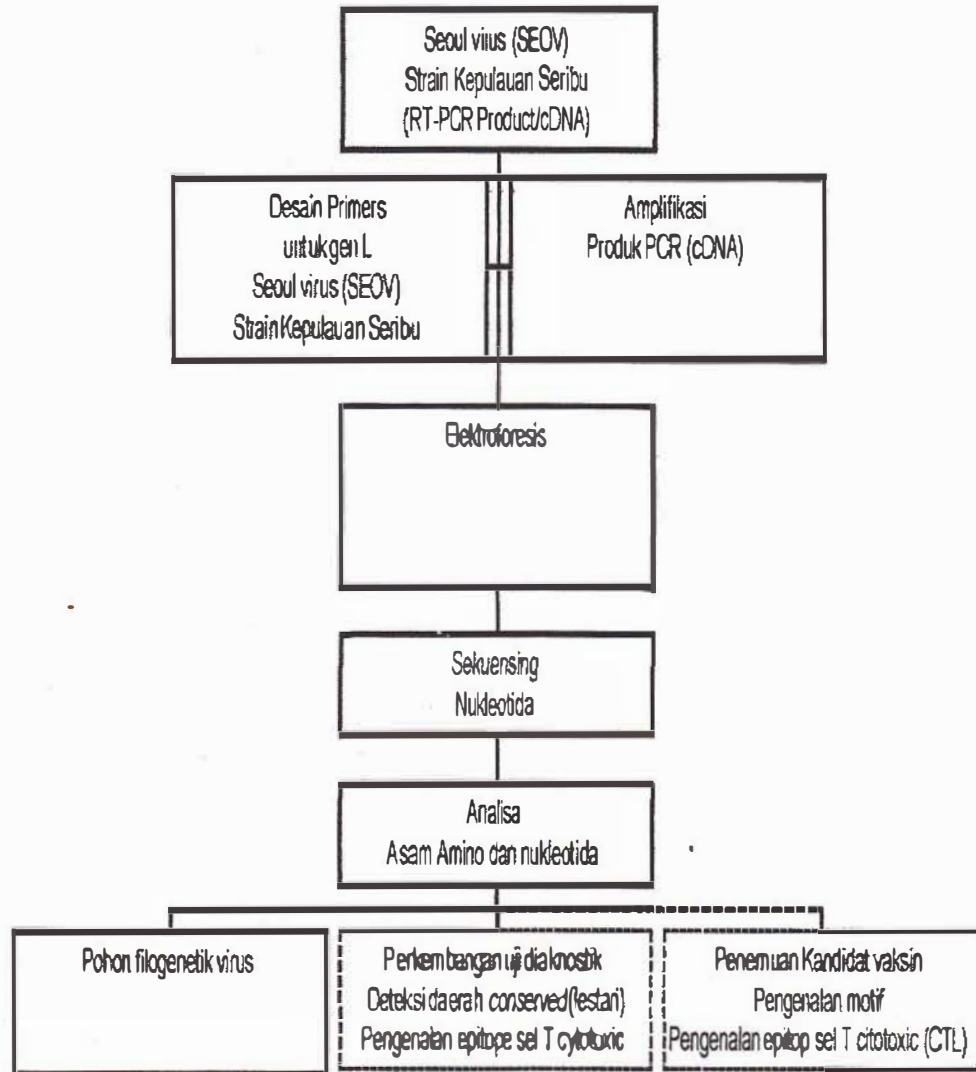
- 1.3.2.1 Mengamplifikasi dan sekuensing genom Hantavirus yang diisolasi dari Kepulauan Seribu
- 1.3.2.2 Mendapatkan prediksi kekerabatan Hantavirus yang ditemukan di Kepulauan

Seribu terhadap Hantavirus spesies Seoul virus dan spesies lainnya yang diisolasi dari Indonesia atau negara lain.

- 1.3.1.3. Melihat homologi nukleotida dan asam amino gen S dan M Hantavirus yang diisolasi dari Kepulauan Seribu.
- 1.3.1.4. Analisis epitop sel T terhadap protein N Hantavirus spesies Seoul virus yang diisolasi dari Kepulauan Seribu.
- 1.3.1.5 Analisis potensi penggunaan protein N Hantavirus yang diisolasi dari Kepulauan Seribu untuk pengembangan uji imunodiagnostik.

## BAB II. METODOLOGI PENELITIAN

### 2.1 Alur Kerja Penelitian



Gambar 1. Alur kerja penelitian

### 2.2 Sampel Penelitian

Penelitian ini merupakan lanjutan dari penelitian sebelumnya (2009) yang menggunakan hasil dari pemeriksaan ELISA dengan jumlah sampel sebanyak 83. Pemeriksaan ELISA tersebut menggunakan serum yang berasal dari hewan reservoir (rodensia). Dari 83 sampel tersebut didapatkan hasil positif berjumlah 4 sampel. Dari empat sampel tersebut dilakukan pemeriksaan RT-PCR untuk konfirmasi. Hasil RT-PCR tersebut didapatkan 3 sampel positif, kemudian 3 sampel tersebut di ekstraksi

dan isolasi menjadi RNA menggunakan sampel yang berasal dari jaringan paru-paru. Setelah itu dilakukan reaksi balik menjadi cDNA menggunakan reaksi RT pada tahun 2010 dan disimpan di  $-20^{\circ}\text{C}$  sampai digunakan.

#### 2.4 Tempat dan waktu penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Kepmenkes RI selama 7 (tujuh) bulan yang dimulai pada bulan Mei sampai dengan bulan November 2011.

#### 2.5 Desain dan Jenis Penelitian

Penelitian ini berupa pemeriksaan laboratorium observasional dengan menggunakan bahan biologi tersimpan pada laboratorium terpadu Pusat Biomedis dan Tehnologi dasar Kesehatan.

#### 2.6 Prosedur Kerja

Prosedur kerja dimulai dari cara pengambilan sampel hingga analisis menggunakan fasilitas Laboratorium Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Kepmenkes RI.

##### 2.6.1 Alat dan Bahan

Alat	Bahan
- Vortek	- Aquadestilata/aquabidestilata
- Sentrifuge	- Buffer solutions
- <i>Micropipet</i>	- Primers S, M dan L
- <i>Micro chanel pipet</i>	- PBS
- <i>Micro tube</i>	- <i>Gel Agarose</i>
- <i>Micro tip</i> (biru dan kuning)	- Buffer TAE
- Parafilm	- PCR kit ( <i>in house</i> )
- ABI 377 automatic sequencer	
- <i>Thermocycle</i> (Biorad)	
- <i>Running Gel Electrophoresis</i> (Mupid)	
- Geldoc (Biorad)	
- Tray Gel	

## 2.6.2 Prosedur Kerja

### 2.6.2.1 Strain virus

Penelitian ini menggunakan 3 sampel yaitu KS74, KS80 dan KS90. Sampel yang terpilih diamplifikasi menggunakan 12 primer spesifik SEOV yang di desain melalui program NCBI. Kemudian sampel di sekuen dengan *ABI 377 automatic sequencer*.

### 2.6.2.2 Desain Primer

Untuk gen S dan gen M menggunakan primer yang sudah diketahui spesifik dan sensitifitasnya,<sup>9</sup> sedangkan untuk gen L dilakukan desain primer menggunakan program NCBI. Pasangan primer untuk gen S dan gen M yang digunakan adalah sebagai berikut:

Tabel 1.

#### Primer dan TM primer yang digunakan

##### 1. Primer *Forward*

No.	Nama Primer	Sekuen	TM
1.	SEOV-28F	TAGTAGTAGACTCCCTAAAGAGCTACTA	59.1
2.	MurSF-110	CAGAAGGTIAIGGATGCAGA	52
3.	VietNamSEOS-800F	CCGGGAGTTTATCTGGGAAT	56.3
4.	VNS1198F	TTGCCTGGGGAAAGGAGGCAGT	62.3
5.	VNS1501F	AGCACAATCACTGCCATGTA	54.3
6.	SEOM1936F	GTG GAC TCT TCT TCT CAT TAT T	53

##### 2. Primer *Reverse*

No.	Nama Primer	Sekuen	TM
1.	VietNamSEOS360R	TGTCCTGTAGGTTTCATCAATGTCAAG	58.9
2.	MurSR-1160	TGGTCCAGTTGTATRCCCAT	54
3.	HTNR-GS6	AGCTCIGGATCCATITCATC	52
4.	VietNamSEOS-1589R	ACTTAAGGTGACCTGGCCCT	58.4
5.	CS-8	TAGTAGTAGGCTCCCTAAAAGACAA	62
6.	SEO-3010MR	TGTAAACCCGACACCTGAACCCAGGCACC	71

### 2.6.2.3 Reaksi *Reverse Transkripsi* (RT)

Reaksi ini dilakukan pada tahun 2010. Langkah singkat sebagai berikut; sampel RNA dicampur dengan random hexamer, dNTP mix, dan aquabidestilata (sesuai petunjuk produk) pada suhu 65°C, diamkan 5 min dalam es *spin down* tambahkan 5x buffer dan campur perlahan dengan 0.1 M DTT diamkan selama 2 min pada suhu 25°C, tambahkan 1 µl superscrip II (reverse transcriptase enzim) campur dengan hati-hati menggunakan pipet diamkan selama 10 min pada suhu 25°C kemudian inkubasi selama 50 min pada suhu 42°C, dan inaktivasi reaksi dengan pemanasan pada suhu 70°C selama 15 min. Untuk menghilangkan sisa RNA dapat ditambahkan 1 µl RNAse H dan inkubasi selama 20 menit pada suhu 37°C.

### 2.6.2.4 Amplifikasi

Hasil cDNA dari reaksi RT diamplifikasi dengan metode PCR menggunakan DNA polymerase *Gold Taq* (AB applied). Pada PCR I menggunakan pasangan primer SEOV-28F dengan CS-8 untuk menghasilkan DNA S yang lengkap. Fragment tersebut nantinya dapat berfungsi sebagai cetakan (*template*) untuk PCR II (*nested*). PCR II menggunakan empat pasangan primer yaitu: fragmen 1, SEOV-28F dengan VietNamSEOS360R; fragmen 2, MurSF-110 dengan MurSR-1160; fragmen 3, VietNamSEOS-800F dengan VietNamSEOS-1589R, dan fragmen 4, VNS1501F dengan CS-8. Sedangkan untuk konfirmasi menggunakan pasangan primer VNS1198F dengan HTNR-GS6. Pada reaksi PCR I (25 µl) adalah sebagai berikut; 10x PCR buffer [200mM Tris-HCl (pH 8.4), 500mM KcL] dengan konsentrasi akhir 1x, 50 mM MgSO<sub>4</sub> dengan konsentrasi akhir 0,75 mM, 10µM dNTP mix dengan konsentrasi akhir 0.5 µM, 10 µM *forward* dan 10 µM *reverse* primer dengan konsentrasi akhir 0.5 µM, DNA polymerase *Gold Taq* dengan konsentrasi akhir 0.2 U, cDNA (*template*) sebanyak 1 - 3 µl. Komposisi reaksi PCR II sama dengan PCR I jumlah cetakan sebanyak 1 µl. Kemudian PCR dilakukan dengan menggunakan Mesin *thermocycle* (Biorad). Reaksi PCR I dilakukan menggunakan tehnik *touchdown*:

suhu 94°C, 2 min; 4 siklus pada suhu 94°C, 30 detik, 68 – 60°C, 30 detik, 68°C, 2 min; 35 siklus pada suhu 94°C, 30 detik; 58°C, 30 dtk; 68, 2 min; 68°C, 10 min; 4°C sampai akan digunakan untuk elektroforesis. Reaksi PCR II dilakukan menggunakan tehnik touchdown, untuk fragmen 1 dan 2 menggunakan: suhu 94°C, 2 min; 4 siklus pada suhu 94°C, 30 detik, 68 – 62°C, 30 detik, 68°C, 2 min; 35 siklus pada suhu 94°C, 30 detik; 60°C, 30 dtk; 68, 2 min; 68°C, 10 min; dan 4°C sampai akan digunakan untuk elektroforesis. Untuk fragmen 3 dan 4 menggunakan tehnik touchdown: suhu 94°C, 2 min; 4 siklus pada suhu 94°C, 30 detik, 62 – 56°C, 30 detik, 68°C, 2 min; 35 siklus pada suhu 94°C, 30 detik; 54°C, 30 dtk; 68, 2 min; 68°C, 10 min; 4°C sampai akan digunakan untuk elektroforesis.

#### 2.6.2.5 Jel Elektroforesis

Pembuatan jel agarose menggunakan 1.5 gr (3 tablet) yang dimasukkan ke dalam buffer TAE sebanyak 100 ml. Kemudian ditunggu beberapa menit sampai tercampur sempurna dan dipanaskan hingga mendidih. Setelah hangat ditambahkan ethidium bromide (2.5 µl) dan didiamkan hingga menjadi keras pada cetakan jel *agarose*. Sampel dimasukkan ke dalam sumur-sumur jel dan dimasukkan *marker* pada sumur yang lain. Sampel di *running* dalam jel selama 15 ~ 25 menit. Pita DNA yang terbentuk dalam jel divisualisasikan menggunakan UVP *transilluminator* (Biorad).

#### 2.6.2.6 Purifikasi

Produk PCR dapat dilihat dari hasil Gambar UVP *transilluminator* yaitu dengan membandingkan ukuran pita hasil dengan marker. Jika produk PCR menunjukkan satu pita spesifik maka dapat dilakukan purifikasi langsung dari produk PCR, tapi bila terdapat pita non spesifik maka dilakukan purifikasi DNA yang berasal dari Jel. Langkah yang digunakan dalam purifikasi DNA dari jel dan purifikasi produk PCR mengikuti petunjuk yang terdapat dalam kit. Pada PCR purifikasi menggunakan dua jenis produk yaitu (MinElute or QIAquick dari

QIAGEN). Pada penelitian ini menggunakan MinElute produk dari QIAGEN. Langkah singkat; ditambahkan 5 bufer PBI ke dalam 1 volume produk PCR menggunakan column untuk mengikat DNA, di sentrifugasi selama 1 menit (13.000 rpm), kemudian di cuci menggunakan buffer PE 750 µl/0.75 ml yang berfungsi menghilangkan residu ethanol, dilakukan *centrifuge* selama 1 menit, column diganti dengan *collection tube*. Untuk melarutkan DNA ditambahkan 10 µl EB pada tengah column, disentrifugasi selama 1 menit dan siap untuk di sekuensing. Untuk purifikasi gel digunakan QIAquick (lot no: 28704); langkah ini memerlukan gel elektroforesis untuk purifikasi produk, hasil dari Jel elektroforesis mempunyai 2 pita, dipastikan untuk mengambil pita yang spesifik, fragment DNA dari agarose diletakkan ditempat yang bersih, digunakan pemotong yang tajam untuk memotong jel agar mendapatkan potongan DNA yang utuh, dimasukkan gel yang sudah dipotong ke dalam tube bersih, yang sebelumnya sudah ditimbang terlebih dahulu, ditambahkan 3 volume dari buffer QG ke dalam 1 volume gel (100 mg ~ 100 µl), dan di inkubasi pada suhu 50° C selama 10 min (sampai gel mencair), ditambahkan isopropanol ke dalam sample dan di campur, dan dimasukkan ke dalam *collection column*. Untuk mencuci produk, ditambahkan 0.75 ml buffer PE dan di sentrifugasi, kemudian ditempatkan column ke dalam mikrosentrifugasi yang baru. Untuk melarutkan DNA ditambahkan 50 µl buffer EB pada tengah filter *column* dan di sentrifugasi selama 1 menit. Produk PCR siap untuk di sekuensing.

#### 2.5.2.7 Sekuensing

Menggunakan 5 ul dari *Big dye* (ABI Prism<sup>®</sup>BigDye<sup>®</sup> Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit), 4 µl dari 5 x *sequence buffer* digunakan kit siap pakai, 0.5 µl dari 10 µM primer dan produk PCR yang diperkirakan 1 ~ 50 ng (estimasi 100 ~ > 2000 bp) dari produk PCR. Reaksi PCR dilakukan dengan kondisi: 96°C, 1 min, kemudian tahap kedua menggunakan 25 siklus: 96°C, 10 detik; 50°C, 5 detik; 60°C, 4 min dan 4°C sampai digunakan untuk analisis selanjutnya. Sebelum sekuen analisis, untuk menghilangkan dye berlebih digunakan *BigDye*

Ex yaitu campuran antara 10 µl SAM solution dengan 45 µl Buffer solution. Sampel dianalisis menggunakan system sekuen 3130 DNA (Applied Biosystems), fmol DNA sequencing System; Promega dan tehnik sekuense flourecent (dRodhamine Terminator Cycle Sequencing kit; Applied Biosystem) menggunakan ABI 377 automatic sequencer.

#### 2.5.2.8 Analisa Data

Hasil sekuen gen S diedit dan dianalisis menggunakan program *seqscape Applied Biosystem (AB)*. Setelah didapatkan basil sekuen lengkap gen S, gen tersebut dibandingkan dengan strain lain untuk mengetahui pohon pilogenetik, homologi nukleotida, homologi asam amino dan daerah lestari epitop sel T. Pembacaan perbandingan sekuen tersebut dilakukan menggunakan Program Mega 5 dan program ClustalW (European Bioinformatics Institute). Hasil sekuen nukleotida lengkap gen S dari strain KS74, KS80 dan KS90, dibandingkan dengan sekuen Seoul virus yang berasal dari Negara lain dengan nomor akses pada tabel 2.

**Tabel 2.**  
**Gen S Seoul virus pembanding**

No.	Strain	Asal	Tabun	Sumber/ Nomor Akses.
1	KS74	Kepulauan Seribu	2009	Penelitian ini
2	KS80	Kepulauan Seribu	2009	Penelitian ini
3	KS90	Kepulauan Seribu	2009	Penelitian ini
4	Gen S	China	2000	AY006465.1.
5	Thailand 741	Thailand	2004	AB186420
6	Caø Bang strain 3	Vietnam	2007	EF54324.1
7	Singapore/06	Singapura	2009	GQ274945
8	Strain 80-39	Korea	2003	NC__005239
9	Andesvirus	Argentina	2002	NC__003466.1
10	Araucariavirus	Brasilia	2004	AY740633.1
11	Tulavirus	Erøpa	2011	NC__0055227.2
12	Serangvirus	Serang	2004	AM998808.1
13	Dobravirus	Rusia	2011	JF920152

Hasil sekuen nukleotida lengkap gen M dari strain KS74, KS80 dan KS90, dibandingkan dengan sekuen Seoul virus yang berasal dari Negara lain dengan nomor akses pada tabel 3.

**Tabel 3**  
**Gen M Seoul virus pembanding**

No.	Strain	Asal	Tahun	Sumber/ Nomor Akses.
1	KS74	Kepulauan Seribu	2009	Penelitian ini
2	KS80	Kepulauan Seribu	2009	Penelitian ini
3	KS90	Kepulauan Seribu	2009	Penelitian ini
4	Seoul virus 80-39	Korea	1991	S47716
5	Baltimore	Amerika Serikat	1994	U00151
6	Beijing-Rn	China	2000	AB027087
7	Brazil	Brasil	1994	U00460
8	Egypt	Mesir	1994	U00463
9	France	Perancis	2005	AJ878418
10	Huston	Texas	1994	U00465
11	Jakarta	Indonesia	2004	AJ620583

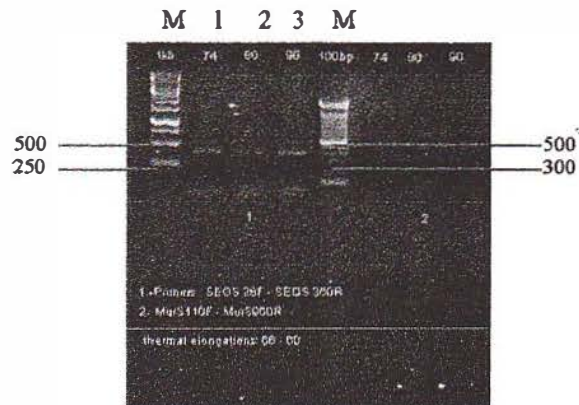
## BAB III. HASIL

### 3.1 Amplifikasi genom

#### 3.1.1 Gen S (small)

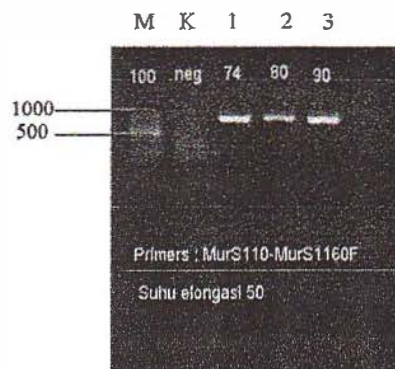
Berdasarkan sekuen gen S Hantavirus, panjang fragmen DNA S berkisar 1500 – 1800 bp. Dalam penelitian ini, untuk mengamplifikasi gen S digunakan 4 pasang primer yang saling tumpang tindih untuk mencakup keseluruhan gen S. Elektroforesis menggunakan 1.5% jel agarose.

##### 3.1.1.1 Pasangan primers SEOS28F dan SEOS360F dengan prediksi fragmen DNA sekitar 332 bp.



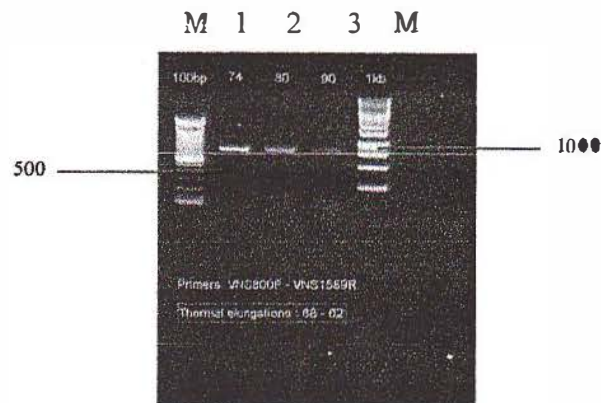
**Gambar 2.** Hasil PCR fragmen 1; (M) marker 1kb, Lajur 1,2,3 menunjukkan sampel, (M) marker 100 bp.

##### 3.1.1.2 Pasangan primers MurS110R dan SEOS1160R dengan prediksi fragment DNA sekitar 1050 bp.



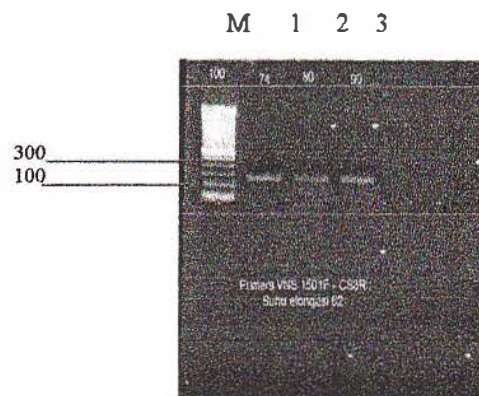
**Gambar 3.** Hasil PCR fragmen 2; (M) marker 100 bp, (K) Kontrol negatif, lajur 1, 2, 3 sampel.

3.1.1.3 Pasangan primers VNS800F dan VNS1589R dengan prediksi primers sekitar 789 bp.



**Gambar 4.** Hasil PCR fragmen 3; (M) marker 100 bp, Lajur 1,2,3 menunjukkan sampel, (M) marker 1 kb.

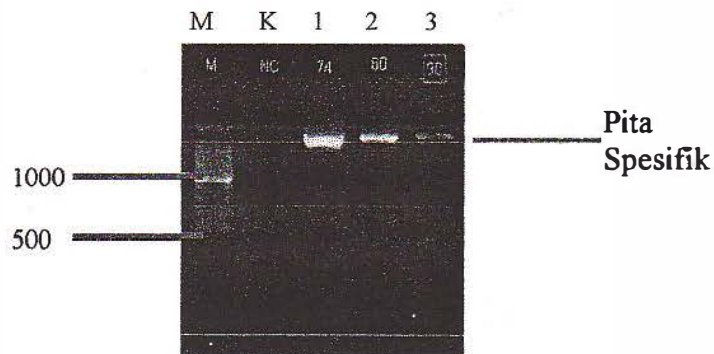
3.1.1.4 Pasangan primers VNS1501F dan VNCS8R dengan prediksi primers sekitar 250 bp.



**Gambar 5.** Hasil PCR fragmen 4; (M) marker 100 bp, Lajur 1,2,3 menunjukkan sampel.

### 3.1.2 Gen M (Medium)

Referensi sekuen gen M Seoul virus yang digunakan sebagai pembanding mempunyai panjang 3000 – 5000 bp. Penelitian ini menggunakan pasangan primers M1936-M3010R dengan prediksi panjang DNA 1074. (Gambar 6)



**Gambar 6:** Hasil PCR gen M; (M) marker 100 bp, (K) Kontrol negatif, lajur 1, 2, 3 sampel.

### 3.1.3 Gen L (Large)

Referensi sekuen gen L Seoul virus yang digunakan sebagai pembanding mempunyai panjang 6000 – 7000 bp. Pada penelitian ini primer untuk gen L sudah dapat di desain, tetapi belum dapat digunakan untuk amplifikasi, karena belum dilakukan optimasi terhadap sensitivitas dan spesifitas terhadap primers.

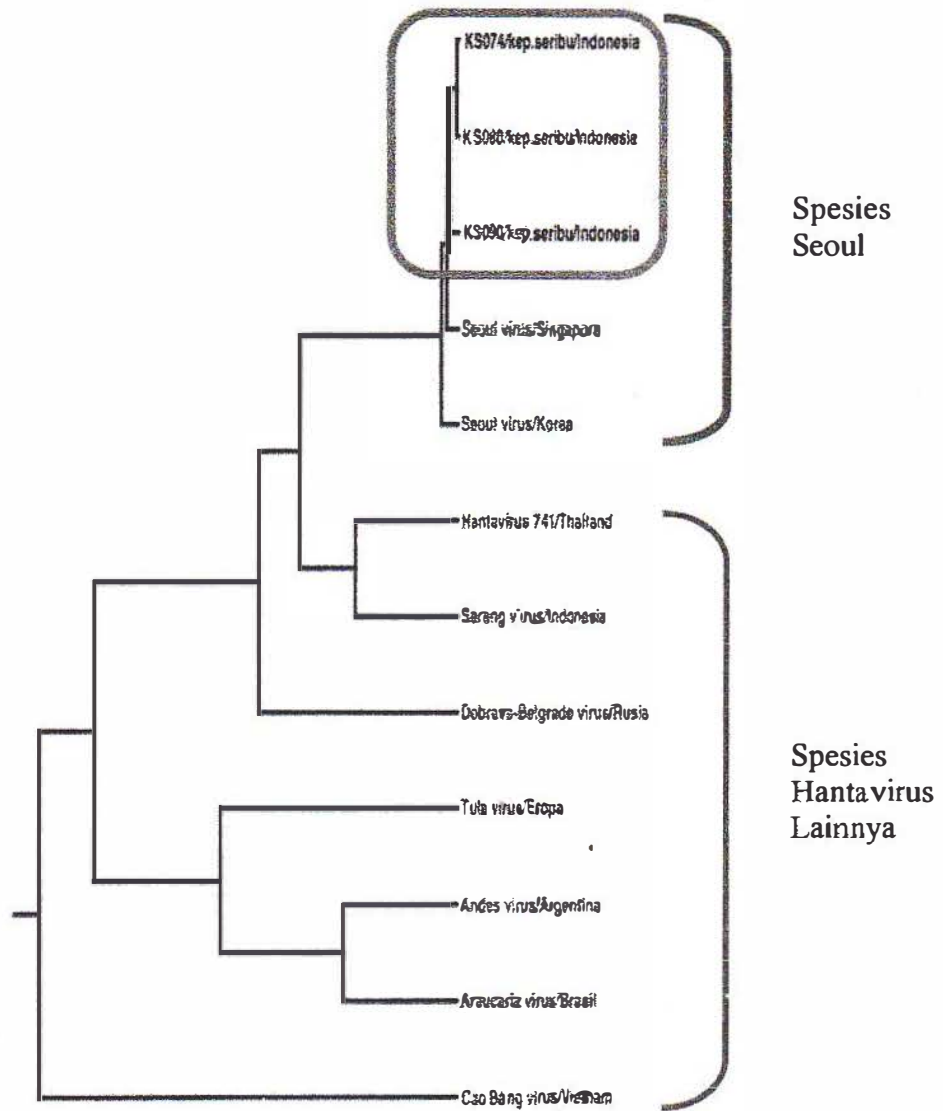
**Tabel. 4**

**Hasil Desain Primer gen L**

No	Nama Primer	Sekuen	Panjang produk	Panjang	TM
1	SEOL__1F	GCTCTCCGCTGGGCATCTGG	812	20	59.6
	SEOL__1R	CACCTCGTCTGGGCAGCAGC		20	60
2	SEOL__2F	TGCAGTTGAGCTGGCTGCCA	480	20	59
	SEOL__2R	CCAGATGCCAGCGGAGAGC		20	59.6
3	SEOL__3F	AGCTCTCCGCTGGGCATCTG	814	20	58.6
	SEOL__3R	GCACCTCGTCTGGGCAGCAG		20	60
4	SEOL__4F	GCTCTCCGCTGGGCATCTGGA	816	21	60.6
	SEOL__4R	GACGCACCTCGTCTGGGCAG		20	59.8
5	SEOL__5F	ATGTCCCGGCACCCGAGGAA	110	20	59.9
	SEOL__5R	TGAATGCAGGCCCTACGGCT		20	58.1
6	SEOL__6F	AGCTCTCCGCTGGGCATCTGG	818	21	60.6
	SEOL__6R	TGACGCACCTCGTCTGGGCA		20	60.5
7	SEOL__7F	CGCTGGGCATCTGGAGAGAGC	805	21	59.3
	SEOL__7R	ACCTCGTCTGGGCAGCAGCA		20	60.5
8	SEOL__8F	CAGGCGATTCACTGCTGCCCT	687	21	59.4
	SEOL__8R	TTGACGCACCTCGTCTGGGC		20	59.4
9	SEOL__9F	AATGTCCCGGCACCCGAGGA	106	20	59.9
	SEOL__9R	GCAGGCCCTACGGCTATCAAGC		22	59.7
10	SEOL__10F	CCAGGCGGCCCTTGAAAAAGC	829	21	59.1
	SEOL__10R	CCTCGTCTGGGCAGCAGCAA		20	59.3

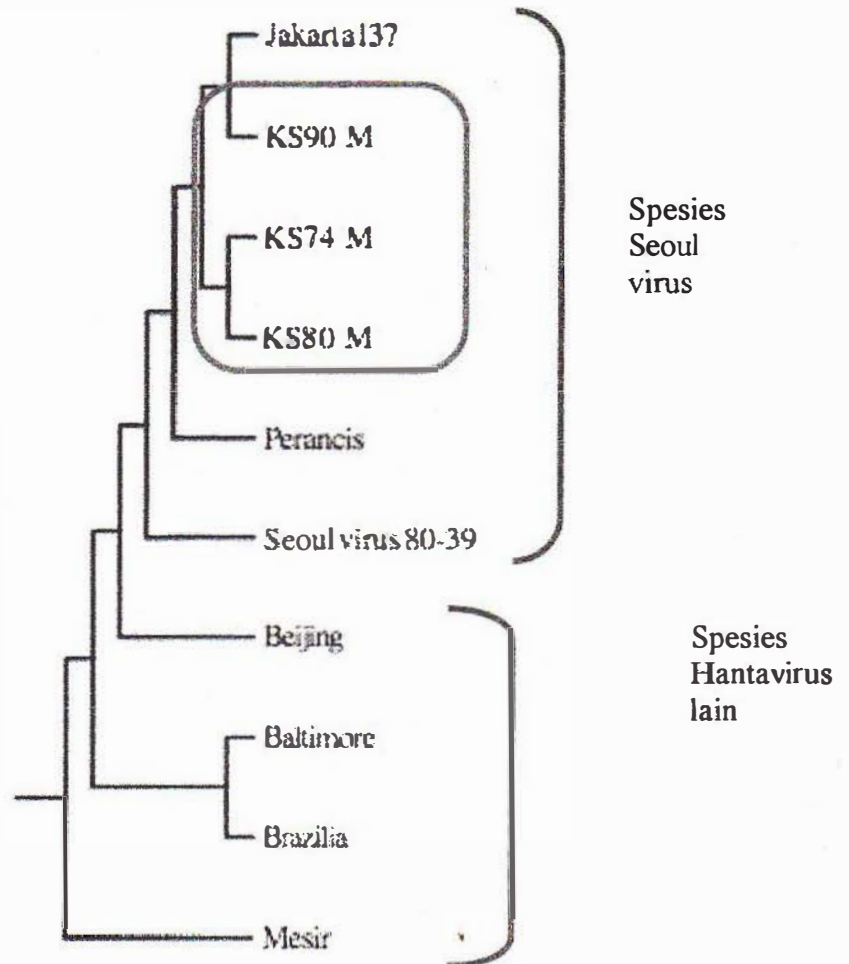
### 3.2 Pohon Filogenetik

Kekerabatan gen S strain Kepulauan Seribu berdekatan dengan strain Seoul virus dari Korea dan Seoul virus dari Singapore. (Gambar 7)



**Gambar 7.** Pohon Filogenetik gen S; Kaledogram hasil analisis UPGMA runutan nukleotida gen S Seoul virus dari 3 strain virus yang ditemukan di Kepulauan Seribu tahun 2009 dengan gen S spesies Hantaan virus dari Negara lain. (□) menunjukan strain yang diteliti (KS74, KS80 dan KS90).

Kekerabatan gen M strain Kepulauan Seribu berdekatan dengan spesies dari Perancis dan Seoul virus 80–39 (Gambar 6).



**Gambar 8.** Pohon Filogenetik gen M; Kalodogram hasil analisis UPGMA runutan nukleotida gen M Seoul virus dari 3 strain virus yang ditemukan di Kepulauan Seribu tahun 2009 dengan gen M spesies Hantaan virus dari egara lain. (  ) menunjukan strain yang diteliti (KS74, KS80 dan KS90)

### 3.3 Homologi Asam amino dan Nukleotida

Homologi nukleotida tertinggi pada Gen S antara strain Kepulauan Seribu dengan strain Seoul virus yang diambil dari *gen bank*, pada KS74 88.4% dan terendah pada KS90 yaitu sebesar 87.2%. Homologi asam amino tertinggi antara strain Kepulauan Seribu dengan Seoul virus tertinggi pada KS74 sebesar 90.4%, sedangkan homologi terendah pada KS90 sebesar 89.5%. (Tabel 5)

**Tabel 5.**  
**Homologi Asam amino dan Nukleotida Gen S**

	Seoul virus/Korea	Seoul virus strain 80-39/Korea	Seoul virus/Singapura	KS074/kepulauan seribu/Indonesia	KS080/kepulauan seribu/Indonesia	KS090/kepulauan seribu/Indonesia	Hantavirus 741/Thailand	Serang virus/Indonesia	Cao Bang virus/Vietnam	Andes virus/Argentina	Tula virus/Eropa	Araucaria virus/Brazil	Dobrava Belgrade virus/Rusia
Seoul virus/Korea	ID	96.5%	96.9%	88.4%	87.5%	87.2%	77.3%	48.5%	61.8%	62.6%	59.4%	62.4%	74.2%
Seoul virus strain 80-39/Korea	99.0%	ID	96.9%	88.3%	87.5%	87.0%	77.4%	49.3%	61.7%	63.0%	59.3%	62.7%	74.9%
Seoul virus/Singapura	98.8%	99.7%	ID	89.3%	88.6%	88.2%	77.2%	48.9%	61.5%	62.7%	59.4%	62.5%	74.0%
KS074/kepulauan seribu/Indonesia	90.4%	91.3%	91.1%	ID	98.5%	96.8%	70.4%	42.4%	56.9%	57.6%	62.3%	58.0%	67.8%
KS080/kepulauan seribu/Indonesia	89.9%	90.9%	90.6%	98.9%	ID	97.9%	69.5%	41.3%	56.3%	56.9%	61.6%	57.1%	66.8%
KS090/kepulauan seribu/Indonesia	89.5%	90.4%	90.2%	98.4%	99.4%	ID	69.6%	40.8%	56.3%	56.6%	61.4%	56.5%	66.6%
Hantavirus 741/Thailand	86.7%	87.1%	87.1%	79.4%	79.0%	78.5%	ID	53.2%	63.3%	64.0%	58.4%	64.2%	74.4%
Serang virus/Indonesia	54.3%	55.0%	55.0%	47.5%	46.8%	46.3%	61.5%	ID	36.0%	38.5%	34.4%	39.1%	46.9%
Cao Bang virus/Vietnam	62.2%	62.4%	62.4%	58.2%	58.0%	57.5%	62.9%	34.7%	ID	62.2%	55.8%	62.7%	63.3%
Andes virus/Argentina	64.5%	64.8%	64.8%	59.4%	58.9%	58.5%	66.2%	40.3%	61.4%	ID	64.7%	81.9%	63.3%
Tula virus/Eropa	10.9%	10.6%	10.6%	9.6%	9.6%	9.6%	10.2%	7.2%	10.6%	9.7%	ID	64.7%	57.8%
Araucaria virus/Brazil	63.4%	63.6%	63.6%	58.7%	58.2%	57.8%	64.8%	38.9%	62.1%	95.3%	9.5%	ID	61.3%
Dobrava Belgrade virus/Rusia	81.8%	82.2%	82.5%	75.0%	74.3%	73.8%	83.4%	51.7%	63.1%	63.8%	8.6%	63.1%	ID

Homologi nukleotida tertinggi pada Gen M antara strain Kepulauan Seribu yaitu pada KS90 dengan KS80 yaitu sebesar 95.5% dan terendah pada KS80 dengan KS74 yaitu sebesar 91.4%. Homologi asam amino tertinggi antara strain Kepulauan Seribu tertinggi pada KS90 dengan KS80 yaitu sebesar 89%, sedangkan homologi terendah pada KS80 dengan KS74 yaitu sebesar 83,2%. Homologi nukleotida gen M untuk semua strain yang berasal dari Kepulauan Seribu, jika dibandingkan dengan strain yang berasal dari Jakarta mempunyai homologi yang rendah antara 26.6% sampai dengan 30%. Untuk homologi asam amino dari semua strain Kepulauan Seribu yang dibandingkan dengan strain dari Jakarta mempunyai homologi yang sangat rendah antara 24.6% sampai dengan 29%. (Tabel 6)

**Tabel 6**  
**Homologi Asam amino dan Nukleotida Gen M**

Nukleotida Asam Amino	KS74	KS80	KS90	Jakarta 137	Seoul virus	Perancis	Baltimore	Beijing	Brasilia	Mesir	Huston
KS74	ID	0.914	0.924	0.262	0.23	0.259	0.293	0.284	0.296	0.293	0.295
KS80	0.832	ID	0.955	0.299	0.234	0.293	0.326	0.3	0.33	0.325	0.328
KS90	0.846	0.89	ID	0.3	0.236	0.295	0.327	0.303	0.33	0.328	0.33
Jakarta137	0.246	0.284	0.29	ID	0.074	0.982	0.801	0.823	0.81	0.801	0.81
Seoul virus	0.201	0.198	0.201	0.068	ID	0.074	0.086	0.077	0.087	0.087	0.087
Perancis	0.236	0.267	0.273	0.942	0.068	ID	0.798	0.82	0.807	0.798	0.807
Baltimore	0.25	0.281	0.283	0.705	0.075	0.696	ID	0.846	0.978	0.936	0.948
Beijing	0.243	0.25	0.259	0.726	0.066	0.715	0.722	ID	0.849	0.849	0.891
Brasilia	0.258	0.289	0.288	0.732	0.076	0.722	0.93	0.73	ID	0.945	0.951
Mesir	0.268	0.289	0.298	0.752	0.08	0.742	0.841	0.77	0.87	ID	0.951
Huston	0.255	0.278	0.288	0.732	0.077	0.722	0.831	0.87	0.84	0.89	ID

### 3.4 Mutasi Asam amino

Terdapat 41 perubahan posisi asam amino pada gen S antara strain Kepulauan Seribu yang diteliti dengan strain Seoul virus. (Tabel 7)

**Tabel 7.**  
**Perubahan susunan Asam Amino gen S pada ketiga sampel**  
**yang dibandingkan dengan Seoul virus**

No	Posisi	Asam amino			
		Seoul virus	KS74	KS80	KS90
1	48	E	G	G	G
2	56	L	S	S	S
3	72	P	Q	Q	-
4	92	L	R	R	R
5	97	R	K	K	K
6	109	T	I	I	-
7	135	S	L	L	L
8	160	E	G	G	G
9	162	G	-	-	E
10	164	D	G	G	G
11	174	L	S	S	S
12	177	L	S	S	S
13	191	N	-	S	S
14	195	K	R	R	R
15	206	R	L	L	L
16	208	Y	F	-	-
17	211	Y	C	C	C
18	217	S	R	R	K
19	247	A	-	-	V
20	255	S	N	N	N
21	273	L	S	S	S
22	282	E	G	G	G
23	285	Q	R	R	-
24	289	K	R	R	R
25	294	M	I	I	I
26	310	R	H	H	H
27	311	Q	R	R	R
28	314	C	-	F	-
29	326	A	V	V	V
30	329	S	L	L	L
31	331	V	G	G	G
32	340	L	P	P	P
33	341	S	Y	Y	Y
34	349	L	S	S	S
35	352	L	Q	Q	Q
36	353	R	K	K	K
37	367	H	R	R	-
38	380	G	E	E	E
39	389	L	-	S	-
40	401	T	I	I	I
41	426	R	K	K	-

### 3.5 Epitop Sel T *Cytotoxic*

- Tidak ditemukan adanya sekuen asam amino yang berfungsi sebagai epitope pada N-Terminal gen S sekuen Asam amino dari strain yang diteliti. (Gambar 9)

	10	20	30
Seoul virus/Korea	R E I S A H E G Q L V I A R Q K V K D A E K		
KS074/kep. seribu/Indonesia	- - - - -	- - - - -	- - - - -
KS080/kep. seribu/Indonesia	- - - - -	- - - - -	- - - - -
KS090/kep. seribu/Indonesia	- - - - -	- - - - -	- - - - -
Seoul virus strain 80-39	- - - - -	- - - - -	- - - - -
Hantavirus 741/Thailand	- - - R - - - - -	- - - V - - - - -	- - - - -
Seoul virus/Singapore	- - - - -	- - - - -	- - - - -
Serang virus/Indonesia	- - - N - - - - -	- - - V - - - - -	- - - R - - - - -
Cao Bang virus/Vietnam	K - - L A L Q - - -	- - - T - - - N - - -	- - - L R - - - Q Q
Andes virus/Argentina	E N - T - - - - -	- - - Q - - - T - - -	- - - L - - - - -
Tula virus/Eropa	- - - - -	- - - - -	- - - - - ? - - - - -
Araucaria virus/Brasil	D S - T V - - - - -	- - - Q - - - T - - -	- - - L - - - - -
Dobrava-Belgrade virus/Rusia	K - - - N N - - - - -	- - - - -	- - - - -

Gambar 9. Daerah pengenalan epitop N-terminal dari tiga strain yang diteliti

- o Ditemukan sekuen epitope pada C-terminal gen S Asam amino pada strain yang diteliti

	420	430	440
Seoul virus/Korea	* P G S D P D * P E S E	G N L K P G T Y E I	I ?
KS074/kep. seribu/Indonesia	- - - - -	- - - R - - -	- - - - - S
KS080/kep. seribu/Indonesia	- - - - -	- - - R - - -	- - - - - ?
KS090/kep. seribu/Indonesia	- - - - -	- - - F - - -	- - - - - S
Seoul virus strain 80-39	- - - - - L - - - - -	- - - - -	- - - E - - - A - - - ?
Hantavirus 741/Thailand	E S C A A I - - - - -	- - - Q - - - D F - - -	- - - R - - - I K T L ?
Seoul virus/Singapore	W - - - - - L - - - - -	- - - - -	- - - E - - - - - ?
Serang virus/Indonesia	- - - - -	- - - - -	- - - - - - - - - - ?
Cao Bang virus/Vietnam	N N S - T - N - - -	- - - K - - - K - - -	- - - D I Q & R - - - I - - - V ?
Andes virus/Argentina	A A S T I S - - - - -	- - - R Y * G - - -	- - - D - - - Q - - - R A T * V V ?
Tula virus/Eropa	N T C T K S H - - - - -	- - - S - - - G Q - - -	- - - R D F - - - - - A K N L I
Araucaria virus/Brasil	A A C - I S Y - - - - -	- - - H * - - - Q - - -	- - - D F Q - - - R A V K T V ?
Dobrava-Belgrade virus/Rusia	R - - - T G T - - - - -	- - - S K - - - - -	- - - D I * - - - A * A L ?

Gambar 10. Daerah pengenalan epitop C-terminal dari tiga strain yang diteliti

- o Ditemukan posisi conserved asam amino sebagai tempat pengenalan epitop sel T cytotoxic.

	100	110	120
Seoul virus/Korea	S A L S Y G N T L D L N S L D I D E P T G Q T A O W L		
KS074/kep. seribu/Indonesia	- - - - -	- - - - -	- - - - -
KS080/kep. seribu/Indonesia	- - - - -	- - - - -	- - - - -
KS090/kep. seribu/Indonesia	- - - - -	- - - - -	- - - - -
Seoul virus strain 80-39	- - - - -	- - - - -	- - - - -
Hantavirus 741/Thailand	M - - - - - V - - - - -	- - - N - - - E - - -	- - - - -
Seoul virus/Singapore	- - - - -	- - - - -	- - - - -
Serang virus/Indonesia	M - - - - - V - - - - -	- - - N - - - E - - -	- - - - -
Cao Bang virus/Vietnam	M - - - - - R - - - - -	- - - V - - - P I - - -	- - - L E - - - S - - - V
Andes virus/Argentina	S - - - - - R - - - - -	- - - V - - - V - - -	- - - P I - - - L E - - - S - - - K
Tula virus/Eropa	S - - - - - R - - - - -	- - - V - - - V - - -	- - - A I - - - - - S - - - F
Araucaria virus/Brasil	S - - - - - R - - - - -	- - - V - - - V - - -	- - - P I - - - L E - - - S - - - K
Dobrava-Belgrade virus/Rusia	M - - - - - - - - - -	- - - V - - - I - - -	- - - H - - - - - - - - -

Gambar 11. Daerah pengenalan epitop sel T cytotoxic dari Seoul virus

## BAB IV. PEMBAHASAN

### 4.1 Amplifikasi *genome*

- 4.1.1 Pasangan primers SEOS-28F dan SEOS-360R digunakan untuk mengamplifikasi fragmen DNA dengan panjang sekitar 332 bp. Hasil amplifikasi dianalisis pada gel agarose 1.5%. Hasil analisis menunjukkan bahwa terdapat pita DNA yang bermigrasi di antara marker DNA 100 dan 400 bp dan di antara 250 – 500 pada marker ukuran 1kb (Gambar 2). Ini menunjukkan bahwa pita DNA hasil amplifikasi sesuai dengan besar yang diharapkan yaitu 332 bp. Namun hasil PCR memperlihatkan adanya pita tidak spesifik, hal ini diduga karena suhu *annealing* yang digunakan tinggi. (66-56°C).
- 4.1.2 Fragmen kedua menggunakan pasangan primers MurS-110F dan MurS-1160R. Hampir semua strain Seoul virus dapat deteksi menggunakan pasangan primer ini, karena merupakan primer yang spesifik. Penelitian Ibrahim IN, dkk 2009 juga menggunakan primer ini untuk mengamplifikasi gen S Seoul virus. Perkiraan panjang fragmen dengan menggunakan primer ini sekitar 1050 bp. Hasil pemeriksaan PCR terhadap ketiga sampel menunjukkan pita yang spesifik dengan adanya migrasi pita berada pada 1000 bp bila dibandingkan dengan marker. Perkiraan panjang pita DNA untuk ketiga sampel berada pada marker DNA 1000 bp. (Gambar 3) Ini menunjukkan bahwa pita DNA hasil amplifikasi sesuai dengan besar yang diharapkan sekitar 1050 bp. Pada fragmen ini menggunakan suhu *annealing* antara 62 -- 54°C pada agarose gel 1.5%.
- 4.1.3 Potongan fragmen ketiga menggunakan pasangan primers VNS-800F dan VNS-1589R dengan perkiraan panjang sekitar 789 bp. Hasil analisa elektroforesis dengan menggunakan *agarose gel* 1.5% yang menampilkan migrasi pita spesifik sedikit di bawah marker DNA 1000 bp (Gambar 4). Hal ini menunjukkan bahwa potongan fragment tersebut merupakan pita yang spesifik sesuai dengan yang diharapkan. Hasil amplifikasi tersebut menggunakan suhu *annealing* tinggi yaitu antara 68 – 62°C (*touchdown*). Berbeda dari beberapa penelitian sebelumnya yang pernah dilakukan oleh Pyusin 2002 dan Shimizu 2010, suhu *annealing* pada pasangan primers ini

menggunakan suhu berkisar antara 54°C – 50°C. Meskipun demikian hasil pita yang didapatkan pada penelitian ini masih tergolong spesifik. (Gambar 4).

4.1.4 Potongan fragmen keempat menggunakan pasangan primers VNS1510F-CS8 dengan perkiraan panjang 250 bp. Pasangan primers ini sangat jarang digunakan untuk deteksi RT-PCR Seoul virus, karena pendek dan berada di paling ujung dengan sekuen DNA yang bervariasi. Tetapi sekuen yang dihasilkan dari pasangan primers ini sangat penting apabila digunakan untuk karakterisasi gen S. (Pyusnin A 2002) Hasil yang didapatkan dari elektroforesis menggunakan 1.5% agarose gel menunjukkan migrasi pita berada 100-300bp pita DNA marker. Hal ini menunjukkan bahwa didapatkan hasil pita DNA yang spesifik dengan prediksi panjang fragmen sekitar 250 bp sehingga fragment tersebut dapat dilanjutkan ke tahap purifikasi. (Gambar 5) Suhu *annealing* yang digunakan pada fragmen ini adalah 62-54°C.

4.1.5 Potongan fragmen dari gen M menggunakan pasangan primers M1936-M3010R prediksi panjang DNA 1074. Hasil amplifikasi dianalisis pada gel agarose 1.5%. Hasil analisis menunjukkan bahwa terdapat pita DNA yang bermigrasi di atas 1000 pada marker ukuran 100 bp (Gambar 6) merupakan pita spesifik. Ini menunjukkan bahwa pita DNA hasil amplifikasi sesuai dengan besar yang diharapkan yaitu 1074 bp.

## 4.2 Pohon Filogenetik

Dari hasil analisa pohon filogenetik menunjukkan ketiga strain yang diteliti berkorelasi dekat dengan strain yang berasal dari Seoul virus/Korea dan strain yang berasal dari Singapore. Pada percabangan pertama menunjukkan strain KS74 dan KS80 kemungkinan turunan dari strain KS90, sedangkan KS90 kemungkinan berasal dari Singapore. Percabangan tersebut masih berada pada satu cabang dengan strain yang berasal dari Seoul virus/Korea, sehingga strain yang ditemukan di Kepulauan Seribu masih berada dekat kekerabatannya dengan Seoul virus yang berasal dari Singapore dan Korea (Gambar 7). Selain itu, kaledogram ini menunjukkan kekerabatan gen S Seoul virus dengan spesies hantavirus lain yang berasal dari Vietnam, Thailand, Serang, Rusia, Eropa, Argentina dan Brasil. Dari analisis tersebut ditemukan pula kedekatan antara Serang virus dengan Hantavirus Thailand yang berada dalam satu cabang, namun tidak berkorelasi dekat dengan strain virus yang

diisolasi dari Kepulauan Seribu (KS74, KS80, dan KS90). Analisa gen M menunjukkan ketiga strain Kepulauan Seribu berdekatan dengan strain yang berasal dari Jakarta, Perancis dan Korea. Kaledogram ini juga menunjukkan kekerabatan gen M Seoul virus dengan spesies hantavirus yang berasal dari Beijing, Baltimore, Brasilia dan Mesir (Gambar 8). Analisis pohon pilogenetik dapat dimanfaatkan untuk mengetahui hubungan kekerabatan, epidemiologi dan distribusi geografi pada semua strain yang ditemukan.

#### 4.3 Homologi Asam amino dan nukleotida

Sekuen nukleotida dari gen S yang diteliti dibandingkan dengan sekuen lengkap gen S yang diambil dari GeneBank dengan *ascension number* AY006465.1, yang mempunyai panjang sebesar 1776 bp. Perbandingan sekuen nukleotida gen S strain virus yang diisolasi dari Kepulauan Seribu menunjukkan perbedaan sekuen DNA dengan spesies Hantavirus lainnya, sedangkan antara spesies Seoul virus menunjukkan homologi sekuen yang tinggi. Hasil homologi nukleotida antar spesies Seoul virus menunjukkan homologi tertinggi pada strain KS74 sebesar 88.4%, sedangkan homologi terendah ditunjukkan oleh strain KS90 sebesar 87.2 %. Hasil homologi antar strain Kepulauan Seribu didapatkan homologi tertinggi antara strain KS74 dengan KS80 yaitu sebesar 98.5%. Perbandingan homologi nukleotida terendah antar strain Kepulauan Seribu didapat antara strain KS74 dengan KS90 yaitu sebesar 96.8%. Homologi perbandingan sekuen nukleotida yang didapatkan dari gen S strain virus Kepulauan Seribu menunjukkan tiga strain yang berbeda dengan virus lainnya. Strain tersebut dapat dikatakan sebagai 3 strain yang baru yang berasal dari Kepulauan Seribu yaitu strain KS74 berasal dari Pulau Tidung, sedangkan KS80 dan KS90 berasal dari satu pulau yang sama yaitu Pulau Panggang. Perubahan nukleotida yang terjadi di beberapa tempat memberikan informasi bahwa perubahan tersebut karena adanya mutasi substitusi dan tidak ditemukan mutasi, delesi atau insersi. Ini artinya bahwa pola mutasi yang terjadi tidak menyebabkan perubahan kerangka baca (*frame shift*) pada open reading frame gen S yang menyebabkan protein menjadi terpotong (*truncated*) atau perubahan susunan asam amino.

Hasil perbandingan homologi asam amino tertinggi dari strain Kepulauan Seribu dengan strain Korea dan Singapore ditunjukkan oleh strain KS74 yaitu sebesar 91.3%, sedangkan homologi terendah ditunjukkan oleh strain KS90 sebesar 90.2%.

Untuk perbandingan antar strain Kepulauan Seribu didapatkan hasil homologi tertinggi antara strain KS80 dengan KS90 yaitu sebesar 99.4%, sedangkan hasil homologi terendah didapatkan antara strain KS74 dengan KS90 yaitu sebesar 98.4%. (Tabel 5) Homologi asam amino tersebut menandakan bahwa virus yang ditemukan di Kepulauan Seribu tidak terdapat perbedaan yang mencolok, sehingga virus tersebut masih digolongkan ke dalam spesies Seoul virus yang ditemukan di Negara Singapore dan Korea.

Sekuen nukleotida dari gen M hanya didapatkan sebagian, yaitu sepanjang 1050bp. Perbandingan sekuen nukleotida gen M strain virus yang diisolasi dari Kepulauan Seribu menunjukkan perbedaan sekuen DNA dengan spesies Hantavirus lainnya, sedangkan antara spesies Seoul virus menunjukkan homologi yang rendah yaitu antara 23% - 23.6%, tetapi homologi antar strain Kepulauan Seribu menunjukkan homologi yang sangat tinggi yaitu antara 91.4% - 95.5% (Tabel 6).

Hasil perbandingan homologi asam amino dari gen M tertinggi dari strain Kepulauan Seribu dengan strain Jakarta dan Korea ditunjukkan oleh strain KS90 yaitu sebesar 29%, sedangkan homologi terendah ditunjukkan oleh strain KS74 sebesar 24.6%. Homologi asam amino tertinggi antara strain Kepulauan Seribu tertinggi pada KS90 dengan KS80 yaitu sebesar 89%, sedangkan homologi terendah pada KS80 dengan KS74 yaitu sebesar 83,2% (Tabel 6). Homologi asam amino gen M yang ditemukan di Kepulauan Seribu bila dibandingkan dengan strain Jakarta, Perancis dan spesies Seoul virus masih belum dapat digolongkan ke dalam Seoul virus, karena hasil yang diperoleh masih rendah antara 19.8% - 29%. Tetapi hasil tersebut masih menandakan bahwa gen M strain Kepulauan Seribu termasuk dalam golongan Seoul virus bila dilihat dari perbandingan daerah lestari antar strain. Hasil lain diperoleh strain Jakarta dengan Perancis mempunyai homologi yang tinggi yaitu 94.2%.

#### **4.4 Mutasi Asam amino pada gen S**

Mutasi atau perubahan susunan asam amino sangat penting untuk virus dalam bereplikasi serta mempertahankan struktur dan fungsi untuk kelangsungan hidupnya. Terdapat 41 perubahan asam amino pada gen S bila dibandingkan dengan Seoul virus/Korea.(Tabel 7). Semua strain Kepulauan Seribu mengalami mutasi pada posisi 31 dibandingkan dengan strain Seoul virus, diduga mutasi tersebut menjadi

karakteristik strain Kepulauan Seribu. Untuk strain KS74 dengan KS80 terjadi 4 perbedaan asam amino pada posisi  $N_{191} \rightarrow S$ ,  $F_{208} \rightarrow Y$ ,  $C_{314} \rightarrow F$  dan  $L_{389} \rightarrow S$ . (Tabel 6) Perbedaan antara strain KS74 dengan KS90 terjadi pada posisi  $Q_{72} \rightarrow P$ ,  $I_{109} \rightarrow T$ ,  $G_{162} \rightarrow E$ ,  $F_{208} \rightarrow Y$ ,  $A_{247} \rightarrow V$ ,  $R_{285} \rightarrow Q$  dan  $R_{367} \rightarrow H$ . Perbedaan antara KS80 dengan KS90 terjadi pada posisi  $Q_{72} \rightarrow P$ ,  $I_{109} \rightarrow T$ ,  $G_{162} \rightarrow E$ ,  $F_{208} \rightarrow Y$ ,  $A_{247} \rightarrow V$ ,  $R_{285} \rightarrow Q$ ,  $F_{314} \rightarrow C$ ,  $S_{389} \rightarrow$  dan  $K_{426} \rightarrow R$ . (Tabel 6) Perubahan asam amino yang paling banyak adalah dari Leusine (L) menjadi serin (S). (Tabel 6) Leusin dan serin sama-sama asam amino yang bersifat polar, diduga perubahan leusin menjadi serin tidak mempengaruhi struktur dan fungsi protein N (nukleokapsid protein). Perubahan terbanyak lainnya terjadi pada asam amino E (Asam Glutamat) menjadi glisin (G), namun karena kedua asam amino tersebut sama-sama bersifat polar diduga tidak mempengaruhi struktur dan fungsi protein N. Meskipun demikian, efek mutasi ini terhadap fungsi protein N dan patogenitas virus perlu dilakukan di masa akan datang.<sup>19,20</sup> Posisi penting dalam runutan asam amino lainnya adalah adanya perubahan tyrosin (Y) menjadi senyawa cystein (C). Cystein berisikan thiol yang sangat mudah teroksidasi. Thiol merupakan senyawa kimia yang mempunyai ikatan carbon dan SH (-C-SH or R-SH) yang berperan penting pada saat folding dan stabilisasi protein. Perubahan asam amino dari tyrosin menjadi cystein terjadi pada posisi 211 di semua strain yang diteliti. Demikian pula pada posisi asam amino 314, cystein berubah menjadi fenilalanin (F) hanya pada strain KS80. Mutasi dari tyrosin menjadi cystein atau cystein menjadi fenilalanin pada strain Kepulauan Seribu, kemungkinan dapat menyebabkan perubahan struktur fungsional umum protein N sehingga mempengaruhi pathogenesis virus. Berdasarkan mutasi tersebut diduga bahwa protein N dari strain virus Kepulauan Seribu mengalami perubahan struktur umum protein yang dapat mengakibatkan perubahan virulensi virus. Perlu dilakukan studi untuk mengetahui efek mutasi asam amino cystein terhadap virulensi virus di masa akan datang.

#### 4.5 Epitope sel T *cytotoxic*

Respon imun seluler sel T *cytotoxic* CD8+ pada infeksi hantavirus memegang peran penting dalam patogenitas HFRS/HPS. Peningkatan jumlah CTL ditemukan pada jaringan paru-paru pasien yang meninggal akibat HPS dan pada jaringan ginjal pasien HFRS. Epitope CTL diidentifikasi pada protein hantavirus, termasuk protein

S.<sup>21</sup> Diketahui pada infeksi Sinombre hantavirus bahwa CTL CD8+ mengenali satu epitope C dari protein S yang berlokasi di N-terminal pada posisi 12-20.<sup>21,22</sup> Dikenali juga epitope A yang berada pada protein C-terminal pada posisi 421-429.<sup>23</sup> (Gambar 10) Contoh lain ditemukan adanya 2 bagian reaktif sel T posisi terminal aa 6-27 dan 96-117 pada protein S pumala hantavirus yang diidentifikasi menggunakan limposit tikus, bersifat *highly immunogenic*.<sup>21</sup> Respon CTL bervariasi pada setiap strain, tergantung imunitas individu respon hantavirus spesifik sel T dan respon cross-reaktif.<sup>20</sup> Analisa menggunakan Program Mega 5 untuk strain yang diteliti, tidak ditemukannya N terminal pada posisi awal runutan asam amino (Gambar 9). Pengenalan epitop sel T pada posisi aa 6 sampai dengan 27 pada puumalavirus, tidak ditemukan adanya epitope pada semua strain yang diteliti, sedangkan pada posisi aa 96 sampai dengan 117 ditemukan posisi lestari pada semua strain yang diteliti dan strain yang berasal dari Singapore dan Korea. (Gambar 11) Penemuan posisi epitop dan posisi *conserved* pada protein S sangat diperlukan untuk pengembangan uji diagnostik.

#### 4.6 Potensi Protein S sebagai Uji Immunodiagnostik

Beberapa penelitian menyebutkan kandidat protein N sebagai uji diagnostik, dikaitkan dengan daerah yang lestari di daerah C-terminal dan N-terminal protein S.<sup>7,20,21,22,24,25</sup> Sekitar 85% daerah identik antar strain spesies hantavirus terletak di daerah C-terminal.<sup>20</sup> Selain itu, protein N tinggi diekspresi di dalam sel terinfeksi sehingga protein N sebagai target protein yang ideal untuk mendeteksi infeksi Hantavirus.<sup>26</sup> Selain itu, protein N juga bersifat imunogenik, artinya bahwa hospes yang terinfeksi akan memproduksi antibodi anti protein N dengan titer yang tinggi, sehingga antibody tersebut sebagai target yang tepat dibandingkan antibody yang lainnya. Oleh karena itu, protein N merupakan antigen yang ideal sebagai antigen untuk mendeteksi antibody anti protein N atau untuk memproduksi antibody yang akan digunakan sebagai antibody standar untuk mendeteksi antigen N pada pasien terinfeksi. Hasil analisis menunjukkan bahwa sekuen asam amino antar strain Seoul virus menunjukkan homologi yang tinggi. Berdasarkan hal tersebut, protein N dari strain Kepulauan Seribu dapat digunakan sebagai antigen dasar untuk pengembangan uji diagnostik untuk mendeteksi Hantavirus Seoul virus selanjutnya.

## BAB V. KESIMPULAN

Karakterisasi genome Hantavirus telah berhasil mengamplifikasi fragmen DNA yang mengkode protein S Hantavirus strain Kepulauan Seribu, sedangkan untuk gen M hanya berhasil mengamplifikasi sebagian fragmen DNA. Untuk gen L telah berhasil membuat desain primer yang dapat digunakan untuk amplifikasi pada penelitian selanjutnya. Pohon filogenetik dari gen S menunjukkan bahwa strain yang ditemukan di Kepulauan Seribu, berdekatan kekerabatannya dengan Seoul virus yang berasal dari Singapore dan Korea. Homologi nukleotida antara strain Kepulauan seribu dengan Seoul virus Korea berkisar antara 87.2 – 88.4%. sedangkan Homologi asam amino antara strain Kep seribu dengan strain Korea berkisar antara 89.5 – 90.4%. Perubahan asam amino yang terjadi pada senyawa leusin menjadi serin dan perubahan asam glutamat menjadi glisin diduga tidak mempengaruhi struktur dan fungsi protein N karena asam amino tersebut memiliki sifat yang sama, namun uji *in vivo* efek tersebut perlu dibuktikan pada penelitian berikutnya. Terdapat mutasi asam cystein (asam amino yang membentuk ikatan disulfide dengan cystein lainnya dari struktur globuler protein) yang diduga mempengaruhi struktur protein S Hantavirus strain Kepulauan Seribu. Pada strain yang diteliti tidak ditemukan daerah pengenalan CTL epitop pada N-terminal karena belum berhasil diamplifikasi. Untuk epitop pada posisi 421-429 dan 96-117 tidak ditemukan adanya mutasi asam amino antar spesies Seoul virus. Homologi sekuen nukleotida dan asam amino strain virus dari Kepulauan Seribu dengan Seoul virus/Korea dan Singapore memiliki tingkat homologi yang tinggi; mengindikasikan bahwa gen S dari strain virus Kepulauan Seribu berpotensi digunakan untuk pengembangan uji imunodiagnostik dan molekuler.

## BAB VI SARAN

- 6.1 Terdapat mutasi asam amino terutama perubahan asam amino cystein (asam amino yang membentuk ikatan disulfide dengan cystein lainnya dari struktur globuler protein) yang diduga mempengaruhi struktur protein S Hantavirus strain Kepulauan Seribu, mengakibatkan perubahan virulensi dan patogenisitas virus. Perlu dilakukan studi efek mutasi tersebut terhadap virulensi dan patogenisitas virus.
- 6.2 Berdasarkan studi homologi sekuen nukleotida dan asam amino, perlu dikembangkan sistem uji diagnosis imunodiagnostik dan/atau molekuler yang dapat mendeteksi Hantavirus strain Indonesia.
- 6.3 Perlu dilakukan studi lebih lanjut untuk mengkarakterisasi gen lain yaitu gen M dan L sehingga diperoleh informasi genetik secara keseluruhan yang lebih komprehensif.

## VII. UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kepada Kepala Badan Penelitian dan Pengembang Kesehatan, Kemenkes RI melalui RISBINKES 2011 yang telah memberikan kesempatan pada pelaksanaan dan finansial sehingga penelitian ini dapat terlaksana. Terima kasih pada anggota tim yang telah banyak membantu. Semoga penelitian ini dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan dan masyarakat.

## VIII. DAFTAR KEPUSTAKAAN

1. Plyusnina A, Ibrahim I N and Plyusnin A, A newly recognized hantavirus in the Asian house rat (*Rattus tanezumi*) in Indonesia, *J Gen Virol* 2009; 90: 205-209.
2. Ibrahim I N, Idram NSI, Erlina S, Kursino E, Sumarno, Penelitian Hantavirus di Beberapa Pelabuhan Laut di Indonesia (Lanjutan tahap II: Survei Serologi Infeksi Hantavirus) pada Manusia dan Hewan Reservoir; Laporan Akhir Penelitian; 2002: 1-17.
3. The Medical news, <http://www.news-medical.net/health/What-is-Hantavirus-Indonesian.aspx>, diakses 15 Desember 2010
4. Plyusnina A, Ibrahim I N, Winoto I, Porter K R, Gotama I B I, et al, Identification of Seoul hantavirus in *Rattus norvegicus* in Indonesia. *Scandinavian journal of infectious diseases* 2004; 36(5):356-9
5. Groen J, Gerding M, Jordans JG, Clement JP, Osterhaus AD: Kelas dan subclass distribusi hantavirus spesifik antibodi serum pada waktu yang berbeda setelah onset nephropathia epidemica. *J Med Virol* 1994; 43: 39-43.
6. Pepini T, Gorbunova E E, Irina N. Gavrilovskaya, Mackow J E, Erich R. Mackow, Andes Virus Regulation of Cellular MicroRNAs Contributes to Hantavirus Induced Endothelial Cell Permeability Molecular and Cellular Biology Graduate Program; Department of Molecular Genetics and Microbiology, Stony Brook University, Stony Brook; NY 11794-5122.
7. Cheryl T. Walter and John N. Barr. Recent advances in the molecular and cellular biology of bunyaviruses; *Journal of General Virology*, 2011; 92: 2467-84
8. Kilpatrick ED, Terajima M, Koster FT, et al. Role of specific CD8+ T cells in the severity of a fulminant zoonotic viral hemorrhagic fever, hantavirus pulmonary syndrome. *J Immunol.* Mar 1 2004;172(5):3297-304.
9. Shimizu K, Ibrahim IN, Yoshimatsu K, Yasuda SP, Endo R, et al, Epidemiology of Hantavirus infection in Indonesia, Proceeding The 1<sup>st</sup> International young researcher seminar in zoonosis control 2009; 1:38.

10. Xiao SY, Leduc JW, Chu YK and Schmaljohn CS, Phylogenetic analyses of virus isolate in the genus *Hantavirus*, family bunyavirida, *Journal virology* 1994; 198: 205-17.
11. Handke W, Oelschlegel R, Franke R, Wiedemann L, Detlev H. Kruger and Rang A, Generation and characterization of genetic reassortants between Puumala and Prospect Hill hantavirus in vitro; Institute of Virology, Helmut-Ruska-Haus, University Hospital Charite, D-10098 Berlin; Germany *Journal of General Virology*. 2010; 91: 2351-59.
12. Schmaljohn C and Hjelle B, Hantavirus: A Global Diseases Problem, 1997; 3 (2): 95 – 104.
13. Xiao SY, Leduc JW, Chu YK and Schmaljohn CS, Phylogenetic analyses of virus isolate in the genus *Hantavirus*, family bunyavirida, *Journal virology* 198; 1994: 205-17.
14. Kariwa H, Yoshimatsu K and Arikawa J, Hantavirus infection in East Asia, ScienceDirect, *Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases* 2007;30: 341-56.
15. Nakamura I, Yoshimatsu K, Lee B H, Okumura M and Taruishi M, et. al, Development of a serotyping ELISA system for Thailand virus infection, *Archives of virology* 2008;153(8):1537-42.
16. Truong TT, Yoshimatsu K, Araki K, Lee BH and Nakamura I, et. al, Molecular Epidemiological and Serological Studies of Hantavirus Infection in Northern Vietnam, *J. Vet. Med. Sci.* 2009;71(10): 1357-63.
17. Huong VTQ, Yoshimatsu K, Luan V D, Arikawa J and Nguyen T M N, Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome in Vietnam; Description of Disease and Implication of Virus and Potential Rodentia Host, *Emerging Infectious Diseases*, October 2009: 1 – 16.
18. Reynes JM, Soares JL, Hue T, Bouloy M, and Sun S, et.all, Evidence of the presence of Seoul virus in Cambodia, ScienceDirect, *Microbes and Infection Microbes and Infection* 2003; 5: 769-73.
19. R.H.A. Plimmer and F.G. Hopkins. ed. The chemical composition of the proteins. Monographs on biochemistry. London: Longmans, Green and Co, January 18, 2010; 82.
20. The primary structure of proteins is the amino acid sequence". University of Wisconsin-Madison Bacteriology Department. *The Microbial World*. 15 August 2011.
21. Nicole D. Tischler, Fernandez J, Muller I, Martinez R, Galeno H, et. all, Complete sequence of the genome of the human isolate of Andes virus CHI-7913: comparative sequence and protein structure analysis; *Biol Res* 2003; 36: 201-10.
22. Heather L, Van EPPS, Connie S, Scmaljohn and Francis A Ennis, Human Memory Cytotoxic T-Lymphocyte (CTL) Responses to Hantaan Virus Infection: Identification of Virus-Specific and Cross-Reactive CD8 CTL Epitopes on Nucleocapsid Protein. *Journal of Virology*, July 1999; 73 (7): 5301-08.

23. Cristina de Carvalho Nicacio, Matti Sa6 Ilberg, Catharina Hultgren and AG ke Lundkvist, T-helper and humoral responses to Puumala hantavirus nucleocapsid protein: identification of T-helper epitopes in a mouse model; *Journal of General Virology* 2001; 82: 129–138.
24. Ennis, FA, J. Cruz, CF Spiropoulou, D. Waite, CJ Peters, ST Nichol, H. Kariwa, FT Koster. Hantavirus pulmonary syndrome: CD8<sup>+</sup> and CD4<sup>+</sup> cytotoxic T lymphocytes to epitopes on Sin Nombre virus nucleocapsid protein isolated during acute illness. *Virology*.1997; 238-380 .
25. Muranyi W; Bahr U; Zeier M and van der Woude F J, Hantavirus Infection, *Journal of the American Society of Nephrology* 2005; 16: 3669–79.
26. Lee BH, Yoshimatsu K, Maeda A, Ochiai K, Morimatsu M, Araki K, Ogino M, Morikawa S, Arikawa J: Asosiasi protein nukleokapsid dari hantaviruses Seoul dan Hantaan dengan kecil ubiquitin seperti pengubah-1-molekul terkait. *Virus Res* 2003; 98: 83-91.

## IX. BIODATA KETUA PELAKSANA

### JUDUL PENELITIAN:

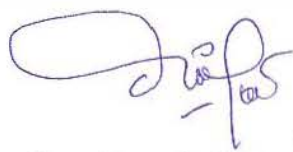
**Karakterisasi *genome* hantavirus spesies Seoul virus (SEOV) *strain* Kepulauan Seribu yang diisolasi dari *Rattus norvegicus* tahun 2009**

- a. Nama : Dian Perwitasari, SKM.
- b. Institusi/Unit Kerja : Pusat Teknologi Intervensi Kesehatan Masyarakat
- c. Alamat Kantor/Unit kerja : Jl. Percetakan Negara No.29, Jakarta  
Telepon/Fax : 021-42872393, fax. 021-42872392  
E-mail : [dian@litbang.depkes.go.id](mailto:dian@litbang.depkes.go.id)
- e. Bidang Penelitian : Biologi Lingkungan
- f. Fokus Bidang lima tahun terakhir: Biologi Molekuler

**LEMBARAN PERSETUJUAN  
LAPORAN AKHIR RISBINKES 2011**

**Jakarta, 20 Januari 2012**

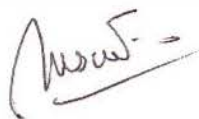
**Ketua Pelaksana,**



**Dian Perwitasari, SKM, M.Biomed**  
**NIP. 19750730200112005**

**Mengetahui/Menyetujui:**

**Panitia Pembina Ilmiah  
Pusat Teknologi Intervensi Kesehatan  
Mayarakat  
Ketua,**



**DR. Ir. Inswiasri, M.Kes**  
**NIP. 195410071983112001**

**Pusat Teknologi Intervensi Kesehatan  
Mayarakat  
Kepala,**



**D Anwar Musadad, SKM, M.Sc**  
**NIP. 195709151980121002**

# Lampiran 1: Daerah Nukleotida Lestari gen S

	1	10	20	30
RefSeq Seoul virus S	T	-	-	-
KS74	T	-	-	-
KS80	T	-	-	-
KS90	T	-	-	-
Andes virus	T	-	-	-
Arucaria virus	T	-	-	-
Tulavir	T	-	-	-
Seoul virus strain 80-39	T	-	-	-
Dobrava-Belgrade	T	-	-	-
Serang virus	T	-	-	-
Singapore	T	-	-	-
Thailand 741	T	-	-	-
Cao Bang virus	T	-	-	-

	40	50	60	70
RefSeq Seoul virus S	43	A	G	A
KS74	43	A	G	A
KS80	43	A	G	A
KS90	43	A	G	A
Andes virus	43	A	G	A
Arucaria virus	43	A	G	A
Tulavir	43	A	G	A
Seoul virus strain 80-39	43	A	G	A
Dobrava-Belgrade	43	A	G	A
Serang virus	43	A	G	A
Singapore	43	A	G	A
Thailand 741	43	A	G	A
Cao Bang virus	43	A	G	A

	80	90	100	110
RefSeq Seoul virus S	70	A	G	T
KS74	70	A	G	T
KS80	70	A	G	T
KS90	70	A	G	T
Andes virus	70	A	G	T
Arucaria virus	70	A	G	T
Tulavir	70	A	G	T
Seoul virus strain 80-39	70	A	G	T
Dobrava-Belgrade	70	A	G	T
Serang virus	70	A	G	T
Singapore	70	A	G	T
Thailand 741	70	A	G	T
Cao Bang virus	70	A	G	T

	120	130	140	150
RefSeq Seoul virus S	117	G	T	A
KS74	117	G	T	A
KS80	117	G	T	A
KS90	117	G	T	A
Andes virus	117	G	T	A
Arucaria virus	117	G	T	A
Tulavir	117	G	T	A
Seoul virus strain 80-39	117	G	T	A
Dobrava-Belgrade	117	G	T	A
Serang virus	117	G	T	A
Singapore	117	G	T	A
Thailand 741	117	G	T	A
Cao Bang virus	117	G	T	A

	160	170	180	190
RefSeq Seoul virus S	158	D	A	C
KS74	158	D	A	C
KS80	158	D	A	C
KS90	158	D	A	C
Andes virus	158	D	A	C
Arucaria virus	158	D	A	C
Tulavir	158	D	A	C
Seoul virus strain 80-39	158	D	A	C
Dobrava-Belgrade	158	D	A	C
Serang virus	158	D	A	C
Singapore	158	D	A	C
Thailand 741	158	D	A	C
Cao Bang virus	158	D	A	C

	200	210	220	230
RefSeq Seoul virus S	234	G	C	A
KS74	234	G	C	A
KS80	234	G	C	A
KS90	234	G	C	A
Andes virus	234	G	C	A
Arucaria virus	234	G	C	A
Tulavir	234	G	C	A
Seoul virus strain 80-39	234	G	C	A
Dobrava-Belgrade	234	G	C	A
Serang virus	234	G	C	A
Singapore	234	G	C	A
Thailand 741	234	G	C	A
Cao Bang virus	234	G	C	A

		240	250	260	270
Refseq Seoul virus S	734	C A A C T T	G C C G A C A G D A	T T D C A B C A G G	B A A G A A C A T C G G G
KS74	734		A		
KS80	734		A		
KS90	734				
Andes virus	734	A	T T T	Q	D T C A A A T T G G C T A C A
Araucaria virus	734	G	A	T T T	Q T C A A A C T G G C T A C A
Tula virus	734	G	A	T C T	G G T A G T C A A A T T G G B T A A
Seoul virus strain 80-39	734				
Dobrava-Belgrade	734	G	T	C T G	G C A A A T T T A
Serang virus	734	B	T	C G	A C T T A
Singapore	734				A C T T A
Thailand 741	734		T	T	A C T T A
Cao Bang virus	734	T G A	G	T	G A A G A A G T T C A E A T C A A T

		290	300	310	
Refseq Seoul virus S	812	A A D A C C G G	G A T C C T A C A	B D D B T A G A G	C C T G G T G A T C A T
KS74	812				
KS80	812				
KS90	812				
Andes virus	812	A	C C A G T T	A	C T G A A T C A T
Araucaria virus	812	A	C C A G T T	A	C T G A A T C A T
Tula virus	812	A	G C C T D T T	C	G T C A A T C A T
Seoul virus strain 80-39	812				
Dobrava-Belgrade	812	A	A A	A	T A C C A A T C A T
Serang virus	812		A	C	A A A S A A T C A T
Singapore	812				A A A A T C A T
Thailand 741	812		T	C	A A A A T C A T
Cao Bang virus	812	G C	C A A A	C	A A A G A A A A T C A T

		320	330	340	350
Refseq Seoul virus S	812	T C A A C G A A	A G A T C A G C A C	T A A G C T A T	G G G A A T A C A C T G
KS74	812				
KS80	812				
KS90	812				
Andes virus	812	T	O		
Araucaria virus	812	T	O		
Tula virus	812				
Seoul virus strain 80-39	812				
Dobrava-Belgrade	812				
Serang virus	812				
Singapore	812				
Thailand 741	812				

		360	370	380	
Refseq Seoul virus S	851	G A C C T G A A	T A B T C T T	G A C A T T G A T D A A	C C T A C A G G A C A
KS74	851				
KS80	851				
KS90	851				
Andes virus	851				
Araucaria virus	851				
Tula virus	851				
Seoul virus strain 80-39	851				
Dobrava-Belgrade	851				
Serang virus	851				
Singapore	851				
Thailand 741	851				
Cao Bang virus	851				

		390	400	410	420
Refseq Seoul virus S	890	G A C A G C T G	G G T T G A C C	A T A A A T T G T C	T A T C T G A C A T C
KS74	890				
KS80	890				
KS90	890				
Andes virus	890				
Araucaria virus	890				
Tula virus	890				
Seoul virus strain 80-39	890				
Dobrava-Belgrade	890				
Serang virus	890				
Singapore	890				
Thailand 741	890				
Cao Bang virus	890				

		430	440	450	460
Refseq Seoul virus S	428	T T C G T G G T C C	C G A T C A T C T T	G A A D G C A C T G	T A C A T G T T
KS74	428				
KS80	428				
KS90	428				
Andes virus	428				
Araucaria virus	428				
Tula virus	428				
Seoul virus strain 80-39	428				
Dobrava-Belgrade	428				
Serang virus	428				
Singapore	428				
Thailand 741	428				
Cao Bang virus	428				







RefSeq Seoul virus S	1173	1180	1190	1200	
KS74	A C A A C T G O A C	C A G A G G A T A A T T G T Y A T G T T T A T E S T T S E C			
KS80					
KS90					
Andes virus					
Araucaria virus					
Tula virus					
Seoul virus strain 80-39					
Dobrava-Belgrade					
Serang virus					
Singapore					
Thailand 741					
Cao Bang virus					

RefSeq Seoul virus S	1210	1220	1230	1240
KS74	T G B G G A A A G G A G B C A G T G G A C A A C T T T C A T C T C G G T B A			
KS80				
KS90				
Andes virus				
Araucaria virus				
Tula virus				
Seoul virus strain 80-39				
Dobrava-Belgrade				
Serang virus				
Singapore				
Thailand 741				
Cao Bang virus				

RefSeq Seoul virus S	1250	1260	1270	1280
KS74	T B A C A T D G A T C C A O A G C T T C O T A G C C T B G C T C A O A T E C T			
KS80				
KS90				
Andes virus				
Araucaria virus				
Tula virus				
Seoul virus strain 80-39				
Dobrava-Belgrade				
Serang virus				
Singapore				
Thailand 741				
Cao Bang virus				

RefSeq Seoul virus S	1290	1300	1310	1320
KS74	A T T B A C D A G A A A G T B A A G B A A A T C T C A A A C C A B G A A C C			
KS80				
KS90				
Andes virus				
Araucaria virus				
Tula virus				
Seoul virus strain 80-39				
Dobrava-Belgrade				
Serang virus				
Singapore				
Thailand 741				
Cao Bang virus				

RefSeq Seoul virus S	1330	1340	1350	1360
KS74	A T G A A A T T A T A A G T A C A T A A A T T A T A T A A T C A A T A C			
KS80				
KS90				
Andes virus				
Araucaria virus				
Tula virus				
Seoul virus strain 80-39				
Dobrava-Belgrade				
Serang virus				
Singapore				
Thailand 741				
Cao Bang virus				

RefSeq Seoul virus S	1370	1380	1390	1400
KS74	A C T A T A G G T T A G S A A A T A C T A A T C A T T A B T T A A T C A A G			
KS80				
KS90				
Andes virus				
Araucaria virus				
Tula virus				
Seoul virus strain 80-39				
Dobrava-Belgrade				
Serang virus				
Singapore				
Thailand 741				
Cao Bang virus				

RefSeq Seoul virus S	1410	1420	1430	1440
KS74	T A C A T A G A G A C T T A T A T A G B A A G T A A T G C T A A G T			
KS80				
KS90				
Andes virus				
Araucaria virus				
Tula virus				
Seoul virus strain 80-39				
Dobrava-Belgrade				
Serang virus				
Singapore				
Thailand 741				
Cao Bang virus				

	1418	1420	1430	1440
RefSeq Seoul virus S	1408 A A T A C A G A T T T A T T G A A T A A T C A T A T			
KS74	1408			
KS80	1408			
KS90	1408			
Andes virus	1404 G G C T E C T A A T O G T A T A G S G T T T T T			
Acucaria virus	1404 G G T C T T E C T A A T S C C T C T A A G S G T T T T			
Toko virus	1404 G G G T T O G G C C A A T T C A C C A A G C T T G C T			
Seoul virus strain 80-39	1404			
Dobrava-Belgrade	1404			
Serang virus	1404			
Singapore	1404			
Thailand 741	1404 A G T A A G A O T T A T A C G A T T A A C A			
Cao Bang virus	1401 T A G T T G A G T A A T G T G A C A T A G T T G C			

	1450	1460	1470	1480
RefSeq Seoul virus S	1443 D T A A G T T A A C T A T			
KS74	1443			
KS80	1443			
KS90	1443			
Andes virus	1448 A A O O C A G T T A D O O O T T G G T T C A C T A T O O G			
Acucaria virus	1448 A A O O G G T A G T A B G O G T O T T T A C A C T C G G G			
Toko virus	1448 A T C C A C A C C G T T B O G T			
Seoul virus strain 80-39	1448			
Dobrava-Belgrade	1448			
Serang virus	1448			
Singapore	1448			
Thailand 741	1443 C A T G A T A G T A C C T A G G			
Cao Bang virus	1443 T G G G T A G G T G T A A T A G G C A T G G			

	1493	1500	1510	1520
RefSeq Seoul virus S	1487 T A G C T A A T T G A T T T A T A T G A T T A T C A C A A T T B A A T G T A A			
KS74	1487			
KS80	1487			
KS90	1487			
Andes virus	1487 A G O G T C A T A C C A T T T O C A G S T			
Acucaria virus	1487 T A T O G C C C A C A C T G T E T A T T O C A A A G B T			
Toko virus	1487 O T G G G C A A C A C A C A A T A E T G			
Seoul virus strain 80-39	1487			
Dobrava-Belgrade	1487			
Serang virus	1487			
Singapore	1487			
Thailand 741	1482 A G A A A T C T A T O A T G T A T A C C			
Cao Bang virus	1482 A G T A A G A A G T T A T G T A T A B			

	1530	1541	1550
RefSeq Seoul virus S	1521 T C A T A G T A C A A T C A E T O C C A T G T A T A A T E A C		
KS74	1521		
KS80	1521		
KS90	1521		
Andes virus	1521 A G O G T C A T A C C A T T T O T A T T B C A C A G O G A A		
Acucaria virus	1521 A G O G G G G A G T		
Toko virus	1521 O G G G A G T T A A T C G A G G A B		
Seoul virus strain 80-39	1521		
Dobrava-Belgrade	1521		
Serang virus	1521		
Singapore	1521		
Thailand 741	1521 G C A S T A A T T B O T T A A T A G T O A C T A A T T		
Cao Bang virus	1521 A C G T A G T T A O A A A T A A T T T		

	1570	1586	1590
RefSeq Seoul virus S	1566 O G T A T A C S G S T G G T T T T C A T A T G B G B A A C A G G T G S O C		
KS74	1566		
KS80	1566		
KS90	1566		
Andes virus	1560 T O O O T T A G O T T A T T O T T A A A T T T		
Acucaria virus	1560 T A T G T T A A A G A O G T A A T T G C C A T A A T T A		
Toko virus	1563 T A C A G T T A T A B C A C C A C T T S O T C A T A C		
Seoul virus strain 80-39	1563		
Dobrava-Belgrade	1563		
Serang virus	1560		
Singapore	1560		
Thailand 741	1560 A T A T T A A T A A S A O T A A C C T G T T A A A T T		
Cao Bang virus	1560 T A T A O A C A A C G C A C T G A T A T A A T		

	1600	1610	1620	1630
RefSeq Seoul virus S	1599 T A G O G C C G G S T C A C C T T A A G T G A C C T T T T T T T G T A C A			
KS74	1599			
KS80	1599			
KS90	1599			
Andes virus	1600 T A T A A T C A T A T B T A T A O A A A G C A T T G			
Acucaria virus	1600 G T A A A T C A C A C A T B G C T A A G A A A T G			
Toko virus	1600 A C T C A G T A A T C T G G C T C T A T G A A T A G			
Seoul virus strain 80-39	1600			
Dobrava-Belgrade	1600			
Serang virus	1600			
Singapore	1600			
Thailand 741	1600 O A T T A T A A A T G A A A T S T A T T A C G A A A T A T			
Cao Bang virus	1600 A O T A A G T T T B A T G B A O T T A T A A A G C A T B			



		1848	1880	1890	1890																																	
<b>ReSeq Seoul virus S</b>	1872	-	-	-	-																																	
KS74	1872	-	-	-	-																																	
KS80	1872	-	-	-	-																																	
KS90	1872	-	-	-	-																																	
<b>Ardes virus</b>	1872	C	T	C	A	C	A	T	T	T	G	A	T	T	T	T	C	T	T	D	A	T	T	G	C	T	T	T	C	A	A	G	G	A	G	C	A	
<b>Arucaria virus</b>	1872	C	C	T	C	A	A	T	A	A	T	G	C	T	T	T	T	C	T	T	D	A	T	T	G	C	T	T	T	C	A	A	G	G	A	G	C	A
<b>Tala virus</b>	1872	C	C	T	C	A	G	A	C	A	G	T	T	G	T	T	T	C	T	T	G	A	T	T	G	C	T	T	T	C	A	A	G	G	A	G	T	C
<b>Seoul virus strain 80-39</b>	1872	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
<b>Dobra va-Belgrade</b>	1872	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
<b>Serang virus</b>	1870	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
<b>Singapore</b>	1870	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
<b>Thailand741</b>	1872	A	C	C	T	C	A	T	G	A	T	G	T	T	B	T	T	G	C	C	T	T	T	G	T	C	T	T	T	T	A	G	D	D	A	G	C	C
<b>Cao Bang virus</b>	1872	C	T	A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

<b>ReSeq Seoul virus S</b>	1811	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
KS74	1811	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
KS80	1811	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
KS90	1811	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Ardes virus</b>	1811	T	A	G	T	A	C	T	A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Arucaria virus</b>	1811	T	A	G	T	A	C	T	A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Tala virus</b>	1811	T	A	G	T	A	C	T	A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Seoul virus strain 80-39</b>	1811	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Dobra va-Belgrade</b>	1811	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Serang virus</b>	1811	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Singapore</b>	1811	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Thailand741</b>	1811	T	A	G	T	A	C	T	A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Cao Bang virus</b>	1811	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

## Lampiran 2: Daerah Asam Amino Lestari gen S

	10	20	30	40
Refseq Seoul virus S	1	T P R A T T L T R K M A T M E E I Q R E I S A H E G Q L V I A R O K V		
KS74	1			
KS80	1			
KS90	1			
Andes virus	1	E A A K A G S L O L E N T Q T L		
Araucaria virus	1	E A K A O S N L O D D S T V Q Q T L		
Tula virus	1	K K A G S O L K E T R Q I L		
Seoul virus strain 80-39	1	P E		
Dobrava-Belgrade	1		L L K N N	
Serang virus	1	? T N	L N	V
Singapore	1			
Thailand 741	1	T P R A T I T K	L N	V
Cao Bang virus	1	D E ?	S A D L K L A L O S	T N

	50	60	70	80
Refseq Seoul virus S	51	K D A E K Q Y E K D P D D L N K R A L H D R E S V A A S V Q S K I D E L K R O L		
KS74	51			
KS80	51			
KS90	51			
Andes virus	51	A V V V	S T O S R A A V S T L E T L G	
Araucaria virus	51	A V V V	S T O S R A A V S T L E T L G	
Tula virus	51	T V A V	S T O S R A A V S A L E D L A D F	
Seoul virus strain 80-39	51			
Dobrava-Belgrade	51		S O I G	R
Serang virus	51	R		
Singapore	51			
Thailand 741	51		F	
Cao Bang virus	51	R O O F D	E V G S M I Q O A Q V K N D	A O O L M

	90	100	110	120
Refseq Seoul virus S	91	A D R I A A G K N I G Q D R D P T G V E P G D H L K E R S A L S Y G N T L ? P E		
KS74	91			D ?
KS80	91			F
KS90	91			? ? ? ?
Andes virus	91	L V L A T K P V	L D K S R	V ? C
Araucaria virus	91	L V Q L A T K P V	L D K S R	V ? C Q
Tula virus	91	L V S S O M G E K P V	L D S R	V ? C
Seoul virus strain 80-39	91			
Dobrava-Belgrade	91	V K E	L D K M	V ? S
Serang virus	91	V T	M	V ? O
Singapore	91			
Thailand 741	91	S T	R M	V ? S O
Cao Bang virus	91	E K V R E S Q S M A A K	M D M S O K M R	? C K

	130	140	150	160
Refseq Seoul virus S	121	S T H T Y R T D S L V D H N C L S D I R G P D H L E G T V H V N N K R		
KS74	121			
KS80	121			
KS90	121			
Andes virus	121	F N F G R E W C	E G Y R S I H L R V C H S P K L I A V P W	
Araucaria virus	121	P N S G R O W P C R	E S N W Y L R F C N T N N T S Y A F P	
Tula virus	121	C Y R A K W R	F Y R P V H Y R L C T C H N I Y A V	
Seoul virus strain 80-39	121		A Y N	
Dobrava-Belgrade	121	S L G N A N C	A E Y S G Y C S N T S S L	O
Serang virus	121	R G N C R	A Y H P C Y N P Q S A Y D	
Singapore	121			
Thailand 741	121	O F R Y G A N C	N N H P L C N T Y Y S O Y A Y	
Cao Bang virus	121	P N R L R A K W	G C S H I C N R C S Y T S R P L I D T G	

	170	180	190	200
Refseq Seoul virus S	181	A D F K G Q D G N E D O I O G O L I G C R N K A O T S V C V N A K R P		
KS74	181			
KS80	181			
KS90	181			
Andes virus	181	E T N C E R R P O K V	F F L R S Q W D T T K P L R L N C T	
Araucaria virus	181	K T S R D V V	R L I L R R G O W P E T K A L F D C T	
Tula virus	181	E N N Q K D K N P V	R N Q W H T P E Y N S	
Seoul virus strain 80-39	181			
Dobrava-Belgrade	181	E T N Y R R D S	F F E D S K A P S O C T	
Serang virus	181	E N T L	F L R R O W D E K A P L H F H E C T	
Singapore	181			
Thailand 741	181	K T N N R O N	F H K W D E K A P L Y F C S	
Cao Bang virus	181	T N R R D K N T T	R H I V Y G E W Y P E A L Y L E C	

Refseq Seoul virus S  
 KS74  
 KS80  
 KS90  
 Andes virus  
 Araucaria virus  
 Tula virus  
 Seoul virus strain 80-39  
 Dobrava-Belgrade  
 Serang virus  
 Singapore  
 Thailand 741  
 Cao Bang virus

	210	220	230	240
2011	O H E S R	D N T W K I P H G S M W A I S	C T D K A K E H G K P C H K C S W V	
2011	G	C L V	G	E
201 V	G	V	G	E
201 V	G	V	S	E
201 V	H Y G	N H A R T	D M C L P F S	G O O S P K Y N S N G S N I
201	N N G	A V S N N C L S F P S P S E O	Y K S N G S H I	
201 V	Y	R I D R V T N N C L T L	S N Y O K H S G D I	
201	Y G	R	C	G Y E
201	Y	R H R S O D C L T	S S G S F S N E D	
201	Y G	R V D C C L R S L P S	G G G E D E D	
201 V	G	C	G	E
201	R G	R Q D C L V	S S G E S Q K Y	Y E Y R L
201 V	I A C	T D R T L Y S Q L L V S	G E S R D S N G Y L	

Refseq Seoul virus S  
 KS74  
 KS80  
 KS90  
 Andes virus  
 Araucaria virus  
 Tula virus  
 Seoul virus strain 80-39  
 Dobrava-Belgrade  
 Serang virus  
 Singapore  
 Thailand 741  
 Cao Bang virus

	250	260	270	280
241 F	G T G K R L D I	N R M A W R T L O V H G G V S H C R E F I W E S	?	?
241	S			?
241	S			?
241		C	S	?
241 W	L L C G	G S D R V S G C R V S I L ? L	O R S P ? R S L H V Y Q	D
241 D	L L C G	G K D K L L G C M P S ? O	N R R L H ? G I H G N K	G
241	F F R	A K D G V P Y	P I P E	K W S G R R F C E C
241	S		R	Y W ? ?
241 C	I P C K	R A G G S P M A T I A I S Y	V D R P H	
241 L	S	D P L R L	S S ? C Q H ?	S A C K P S N K C R
241				?
241 C	C	D S L G M	S T ? C Q P ?	K A C T N K C R
241 S	I	G	G R E D K L F R T G	S S D S C R I C L S N N K K P V

Refseq Seoul virus S  
 KS74  
 KS80  
 KS90  
 Andes virus  
 Araucaria virus  
 Tula virus  
 Seoul virus strain 80-39  
 Dobrava-Belgrade  
 Serang virus  
 Singapore  
 Thailand 741  
 Cao Bang virus

	290	300	310	320
281 L	Y T E T R C T C R N G A K G I S S P Q A T C K G C W A Y T G T Y T V T I V			
281	Q	D E G	F	I
281	Q	D E G	F	I
281	O	D	F	I
281 V	F S E O E T S Q I	G S R Y Y R F D R P	D R V C L V Y R D C N P F	
281 I	F F K P A A P S Q L Q G P H C G Y P	R N I C N I I Y H C N T F		
281	P F R T K G I K G V T P C D R L D P	S F R R P N T R L K T S		
281	Q K	Q	F	S
281	L E S K G G A K N	S G C K E A H R	L P C P H F I	
281	C S K A G A ?			
281	Q	D	F	I
281	C	A G P S D N	V K R Y K R P	L P C S S F S F
281 V	L Y G K I S S	D E N C S N G T R R S G E R Y I	F C E H R K S C	

Refseq Seoul virus S  
 KS74  
 KS80  
 KS90  
 Andes virus  
 Araucaria virus  
 Tula virus  
 Seoul virus strain 80-39  
 Dobrava-Belgrade  
 Serang virus  
 Singapore  
 Thailand 741  
 Cao Bang virus

	330	340	350	360
321 N	M G V C W G P	V S T N M L V C R R Y G V R C L L F Y P S G Y E E H N Y G		
321 D		F W D	H T	H
321 D		F W D	H T	H
321 D		F W D	H T	H
321 S	L M C T P P S C I	C G T G T W I F	H A Y H H	
321 C	I M C T P D S I	S S S R A I F C T	H A Q H H	
321 T	L S T R Q P S Y H L Y S D R	G S I F H S A H D		
321		W D	T	M
321	L L R S T M P P Y L I	C H R A I F C C	R H H	
321				
321		F D	H T	H
321	L L R C T S L Y P L R	D T G F N A R	H	
321 C	I R T R O	S W T L C W T C R T G I	C A A	H H C

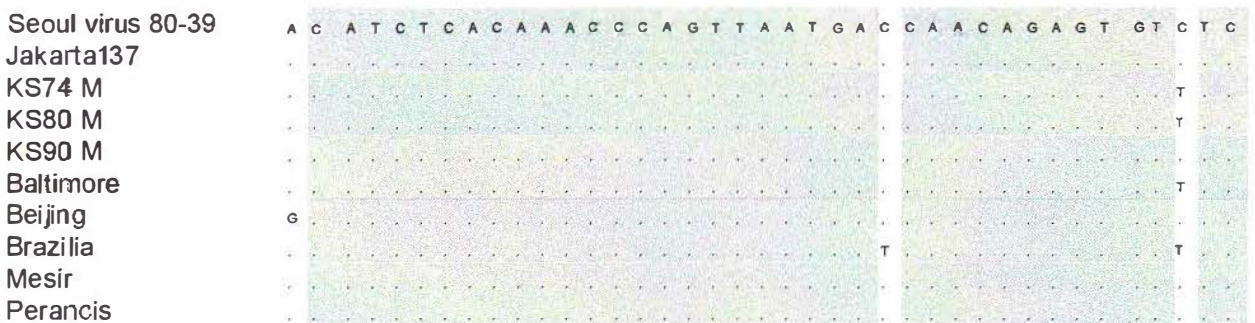
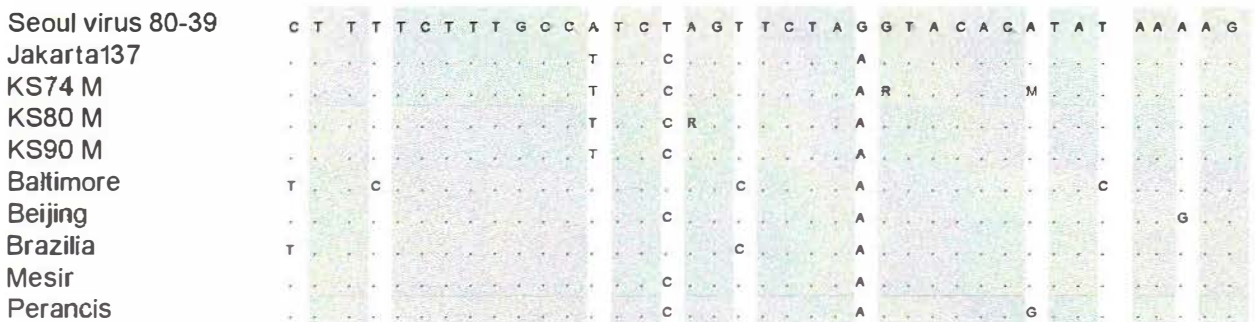
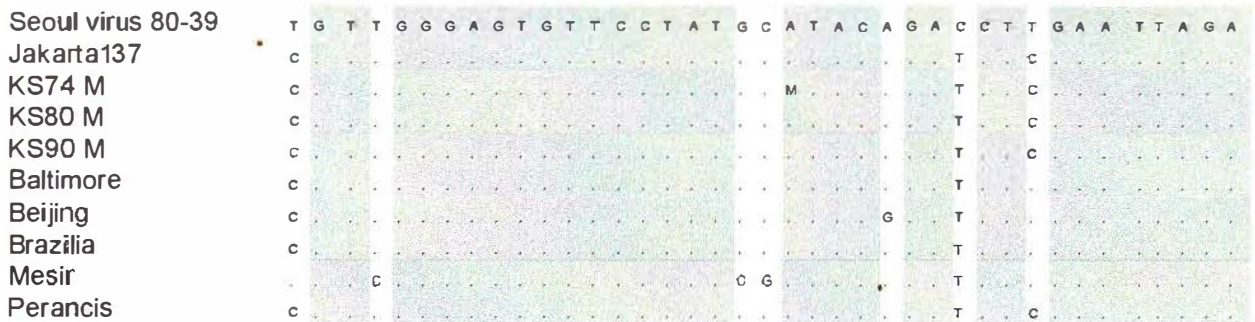
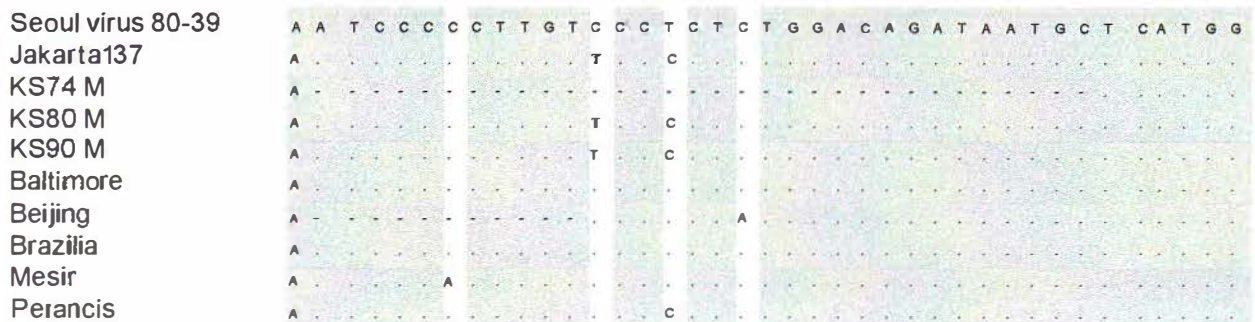
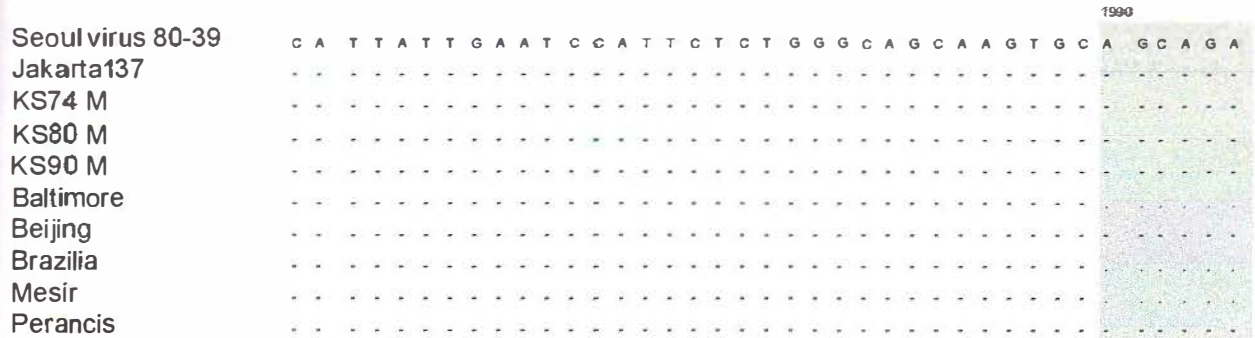
Refseq Seoul virus S  
 KS74  
 KS80  
 KS90  
 Andes virus  
 Araucaria virus  
 Tula virus  
 Seoul virus strain 80-39  
 Dobrava-Belgrade  
 Serang virus  
 Singapore  
 Thailand 741  
 Cao Bang virus

	370	380	390	400
361 F	D C G H S	K A S K E	I I L S I I P O T H T I N G	D T T G P E D N C Y V
361	K N		V	N
361	K N		V	N
361	K N	A		N
361 I	I R D C R R E K E K	C L P K K D Y	N P	H N P L
361	K V S W C	G E T E E K C	L L E K N S Y	S Y N
361 I	D N	R G I E E K	L V S E S Y	N S K N Y L A I
361	K N			N
361 I	E Y W D F R G E V A E	L F P V S K N L H	H P	S A Y Y A F
361				
361	K N R N		P	N S
361	E S R N I	R E	L V L E K N Y	N S A A H H
361 I	Q S N	G E T K E K	F P F K E N S	C P I A K S N

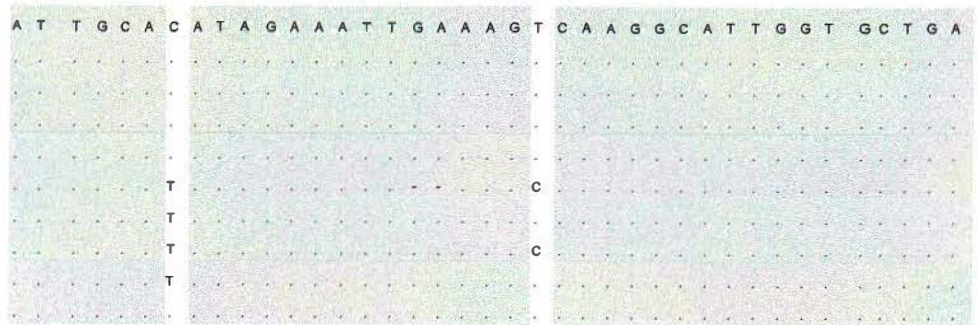


		610	620	630			
Refseq	Seoul virus S	601G	S L L L				
	KS74	601-					
	KS80	601-					
	KS90	601-					
	Andes virus	601?	A . . T ? Q Q O Y L T H Y P S P I L P Q H I L P H I * F F F L I A F Q G A Y Y				
	Araucaria virus	601I	A V . T S Q Q H Y L I H N P S P * L P Q ? I L P Q * C F F L I A F Q G A Y Y				
	Tula virus	601?	T F . P P ? H L Y ? M H V A Y I * V Y D ? ? L P Q T V V F L I A F Q G V Y Y				
	Seoul virus strain 80-39	601T	T ?				
	Dobrava-Belgrade	601-					
	Serang virus	601-					
	Singapore	601T	T T ?				
	Thailand 741	601F	L F P C L L T T T H Y L T * T H K L P L I * T T S * C C C L L S F * G A Y Y				
	Cao Bang virus	601R	H T P . T Q H H Y L I V I S L I C F S R S L L L				

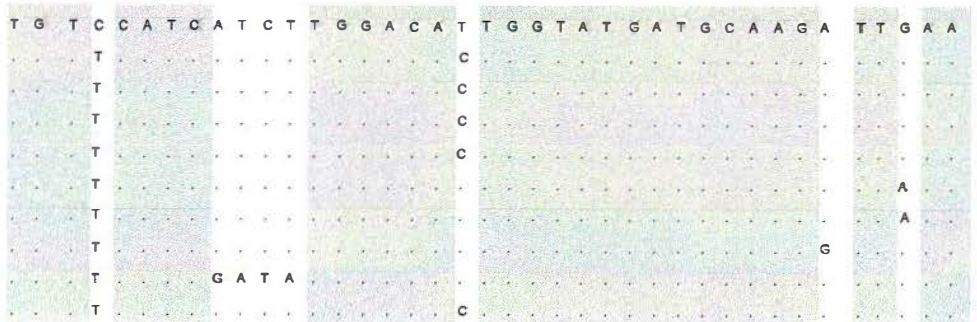
### Lampiran 3: Daerah Nukleotida Lestari gen M



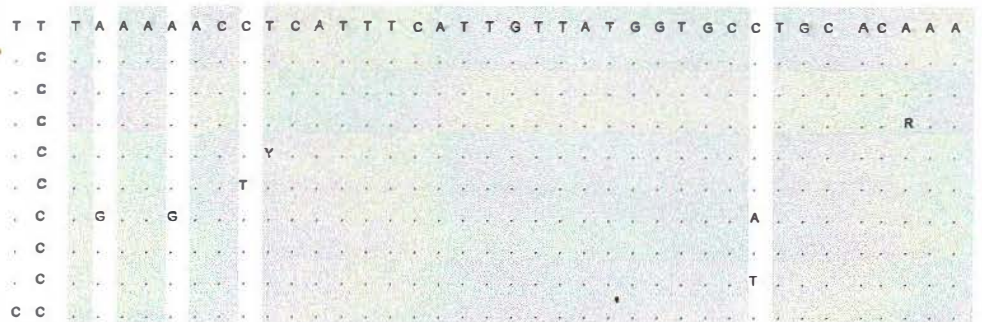
Seoul virus 80-39  
 Jakarta137  
 KS74 M  
 KS80 M  
 KS90 M  
 Baltimore  
 Beijing  
 Brazilia  
 Mesir  
 Perancis



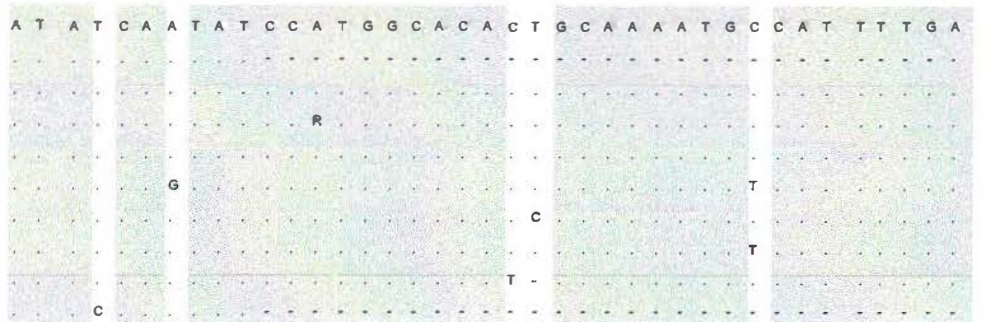
Seoul virus 80-39  
 Jakarta137  
 KS74 M  
 KS80 M  
 KS90 M  
 Baltimore  
 Beijing  
 Brazilia  
 Mesir  
 Perancis



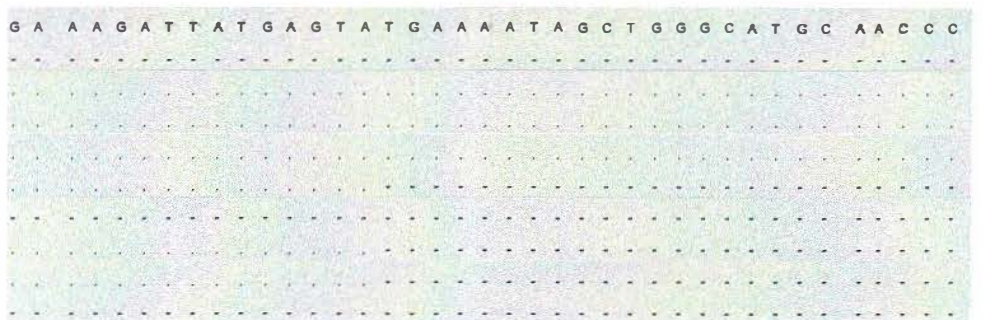
Seoul virus 80-39  
 Jakarta137  
 KS74 M  
 KS80 M  
 KS90 M  
 Baltimore  
 Beijing  
 Brazilia  
 Mesir  
 Perancis



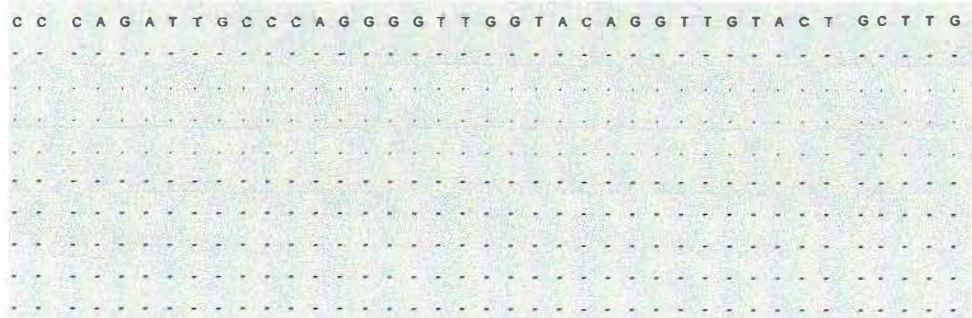
Seoul virus 80-39  
 Jakarta137  
 KS74 M  
 KS80 M  
 KS90 M  
 Baltimore  
 Beijing  
 Brazilia  
 Mesir  
 Perancis



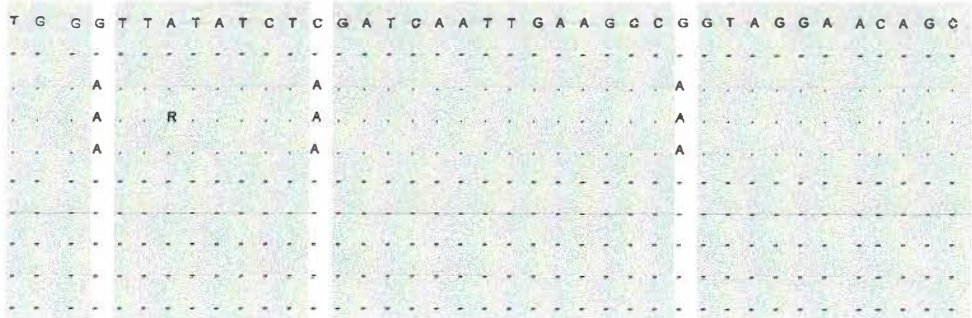
Seoul virus 80-39  
 Jakarta137  
 KS74 M  
 KS80 M  
 KS90 M  
 Baltimore  
 Beijing  
 Brazilia  
 Mesir  
 Perancis



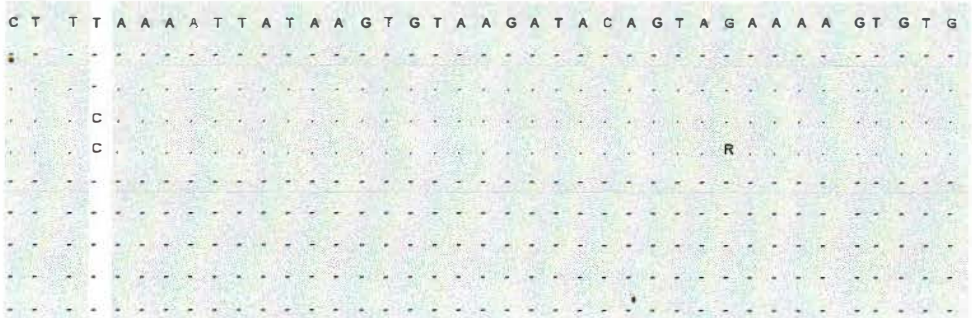
Seoul virus 80-39  
 Jakarta137  
 KS74 M  
 KS80 M  
 KS90 M  
 Baltimore  
 Beijing  
 Brazilia  
 Mesir  
 Perancis



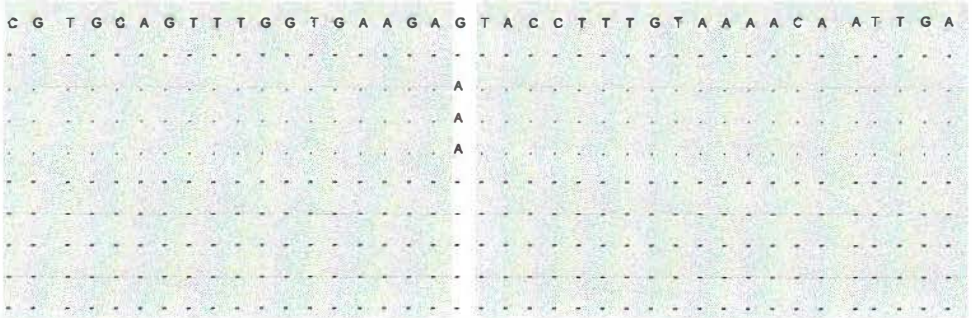
Seoul virus 80-39  
 Jakarta137  
 KS74 M  
 KS80 M  
 KS90 M  
 Baltimore  
 Beijing  
 Brazilia  
 Mesir  
 Perancis



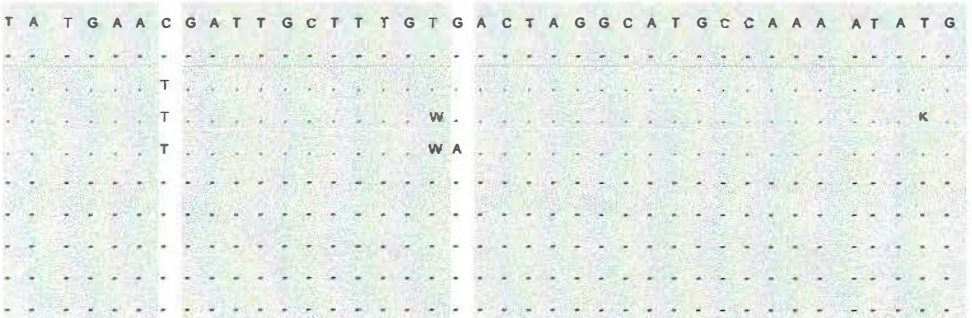
Seoul virus 80-39  
 Jakarta137  
 KS74 M  
 KS80 M  
 KS90 M  
 Baltimore  
 Beijing  
 Brazilia  
 Mesir  
 Perancis



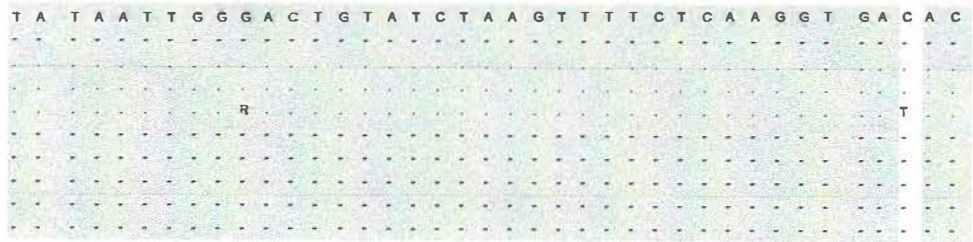
Seoul virus 80-39  
 Jakarta137  
 KS74 M  
 KS80 M  
 KS90 M  
 Baltimore  
 Beijing  
 Brazilia  
 Mesir  
 Perancis



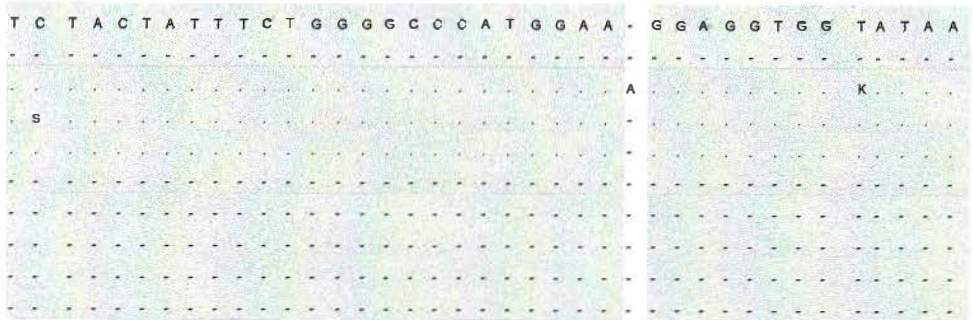
Seoul virus 80-39  
 Jakarta137  
 KS74 M  
 KS80 M  
 KS90 M  
 Baltimore  
 Beijing  
 Brazilia  
 Mesir  
 Perancis



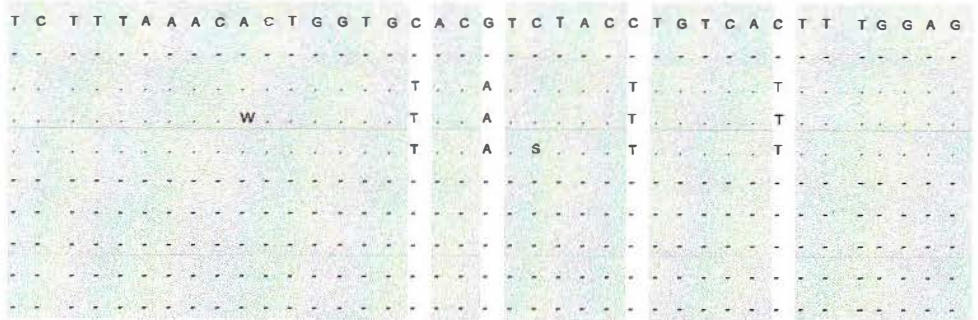
Seoul virus 80-39  
 Jakarta137  
 KS74 M  
 KS80 M  
 KS90 M  
 Baltimore  
 Beijing  
 Brazilia  
 Mesir  
 Perancis



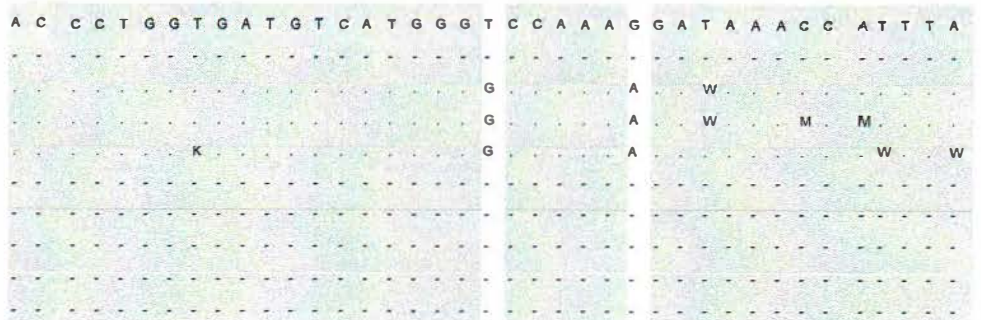
Seoul virus 80-39  
 Jakarta137  
 KS74 M  
 KS80 M  
 KS90 M  
 Baltimore  
 Beijing  
 Brazilia  
 Mesir  
 Perancis



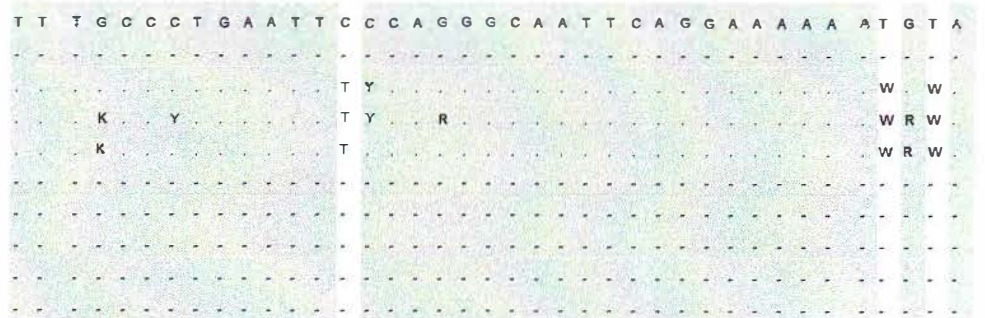
Seoul virus 80-39  
 Jakarta137  
 KS74 M  
 KS80 M  
 KS90 M  
 Baltimore  
 Beijing  
 Brazilia  
 Mesir  
 Perancis



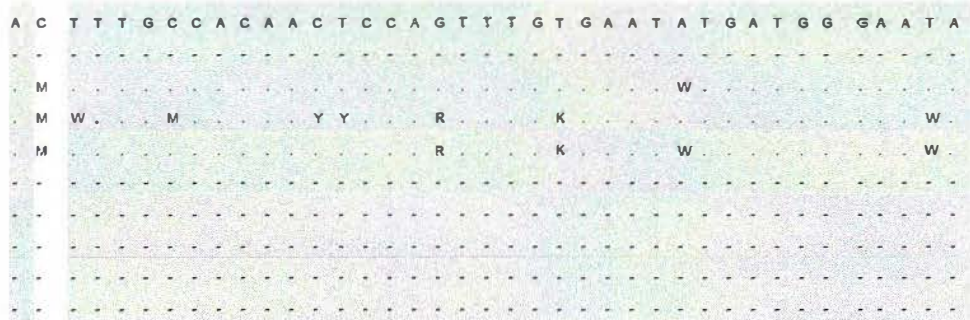
Seoul virus 80-39  
 Jakarta137  
 KS74 M  
 KS80 M  
 KS90 M  
 Baltimore  
 Beijing  
 Brazilia  
 Mesir  
 Perancis



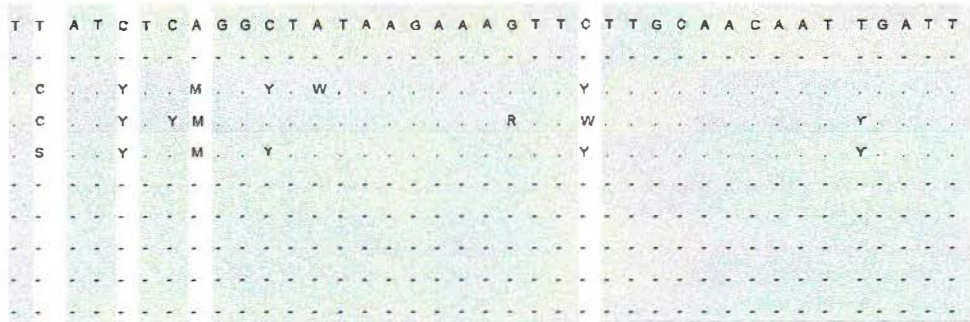
Seoul virus 80-39  
 Jakarta137  
 KS74 M  
 KS80 M  
 KS90 M  
 Baltimore  
 Beijing  
 Brazilia  
 Mesir  
 Perancis



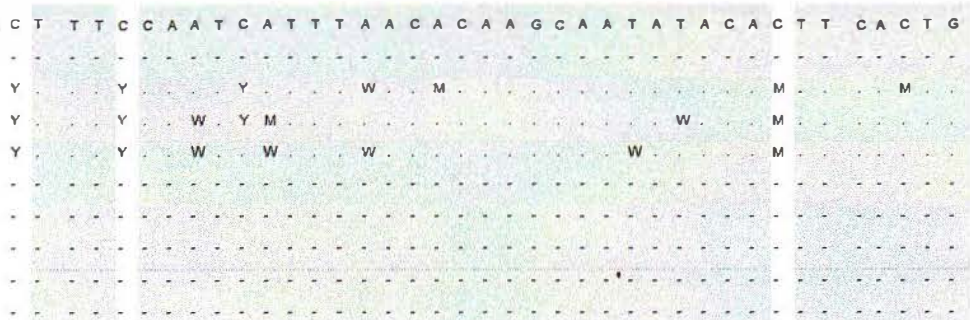
Seoul virus 80-39  
 Jakarta137  
 KS74 M  
 KS80 M  
 KS90 M  
 Baltimore  
 Beijing  
 Brazilia  
 Mesir  
 Perancis



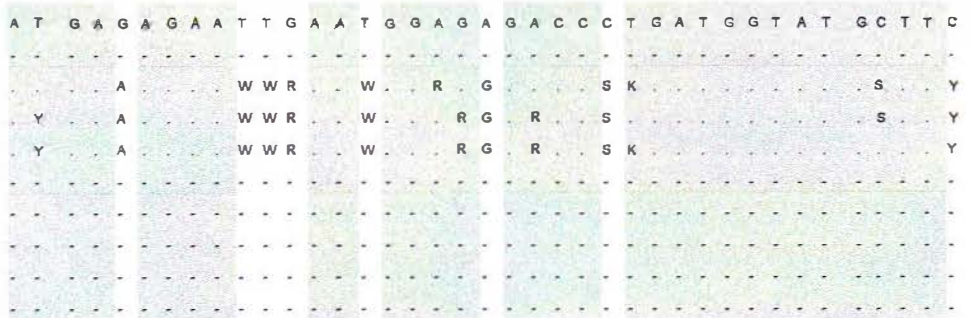
Seoul virus 80-39  
 Jakarta137  
 KS74 M  
 KS80 M  
 KS90 M  
 Baltimore  
 Beijing  
 Brazilia  
 Mesir  
 Perancis



Seoul virus 80-39  
 Jakarta137  
 KS74 M  
 KS80 M  
 KS90 M  
 Baltimore  
 Beijing  
 Brazilia  
 Mesir  
 Perancis



Seoul virus 80-39  
 Jakarta137  
 KS74 M  
 KS80 M  
 KS90 M  
 Baltimore  
 Beijing  
 Brazilia  
 Mesir  
 Perancis



Seoul virus 80-39  
 Jakarta137  
 KS74 M  
 KS80 M  
 KS90 M  
 Baltimore  
 Beijing  
 Brazilia  
 Mesir  
 Perancis

