

TESIS

**ANALISIS MUTASI DAN FILOGENETIK RNA VIRUS
SARS-CoV-2 STRAIN KOTA SEMARANG JAWA TENGAH**



Oleh
RISA TRI UMAMI
NIM G4C018010

**MAGISTER ILMU LABORATORIUM KLINIS
FAKULTAS ILMU KEPERAWATAN DAN KESEHATAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SEMARANG
2022**

SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Risa Tri Umami

NIM : G4C018010

Program studi : Magister Ilmu Laboratorium Klinis

Judul Tesis : Analisis Mutasi dan Filogenetik RNA Virus SARS-CoV-2 Strain

Kota Semarang Jawa Tengah

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa Tesis saya ini adalah asli (hasil karya sendiri) bukan merupakan hasil peniruan atau penjiplakan (Plagiarism) dari karya orang lain. Tesis ini belum pernah diajukan untuk mendapatkan gelar akademik.

Tesis ini tidak terdapat pendapat yang telah tertulis atau dipublikasikan orang lain, kecuali secara tertulis dengan jelas dicantumkan sebagai acuan dengan disebutkan nama pengarang dan dicantumkan di dalam daftar pustaka. Demikian, pernyataan ini dibuat tanpa adanya paksaan dari pihak manapun, apabila pernyataan ini tidak benar, maka saya bersedia menerima sanksi sesuai dengan norma dan peraturan yang berlaku di Universitas Muhammadiyah Semarang.

Semarang, Agustus 2022

Risa Tri Umami
NIM. G4C018010

Tesis

**ANALISIS MUTASI DAN FILOGENETIK RNA VIRUS
SARS-CoV-2 STRAIN KOTA SEMARANG JAWA TENGAH**

diajukan oleh:
Risa Tri Umami
NIM G4C018010

Telah disetujui oleh:
Pembimbing Pertama



Mudyawati Kamarudin, M.Si, P.hD
NIK CP.1026.113

Pembimbing Kedua



Dr. Stalis Norma Ethica, S.Si. M.Si
NIK 28.6.1026.343





Tesis

**ANALISIS MUTASI DAN FILOGENETIK RNA VIRUS
SARS-CoV-2 STRAIN KOTA SEMARANG JAWA TENGAH**

diajukan oleh:
Risa Tri Umami
NIM G4C018010

telah diuji dan dinilai oleh Panitia Penguji pada
Universitas Muhammadiyah Semarang pada Tanggal : 24 Agustus 2022

Susunan Dewan Penguji

Penguji	Nama	Tanda Tangan	Tanggal
Penguji 1	Dr. Sri Darmawati, M.Si		24 Agustus 2022
Penguji 2	Dr. rer. nat. Rahadian Pratama, S.Si., M.Si		24 Agustus 2022
Penguji 3	Mudyawati Kamarudin, M.Si, P.hD		24 Agustus 2022
Penguji 4	Dr. Stalis Norma Ethica, S.Si. M.Si		24 Agustus 2022

Mengetahui,
Ketua Program Studi Magister Sains Laboratorium Medis



Dr. Sri Darmawati, M.Si
NIK : 28.6.1026.040

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Warohmatullahi Wabarokaatuh

Alhamdulillahirabbil'alamin. Puji dan syukur kehadirat Allah SWT, karena berkat dan rahmatNya penulis dapat menyelesaikan proposal tesis yang berjudul “Analisis Mutasi dan Filogenetik RNA Virus SARS-CoV-2 Strain Kota Semarang, Jawa Tengah”. Proposal tesis ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat untuk memperoleh gelar Magister Kesehatan di Jurusan Ilmu Laboratorium Klinis Universitas Muhammadiyah Semarang.

Dalam penyusunan proposal tesis ini penulis telah mendapat masukan dan bimbingan dari berbagai pihak, untuk itu perkenankan penulis mengucapkan terima kasih kepada yang terhormat :

1. Dr. Sri Darmawati, M.Si., selaku ketua Prodi serta penguji I atas segala saran dan masukan dalam penyempurnaan tesis ini.
2. Mudyawati Kamarudin, M.Si, P.hD, selaku pembimbing I yang telah sabar dan teliti memberikan bimbingan, saran serta koreksi dalam penyelesaian tugas akhir ini.
3. Dr. Stalis Norma Ethica, S.Si. M.Si, selaku pembimbing II yang telah banyak meluangkan waktunya untuk bimbingan dan memberikan pengarahan dalam penyelesaian tugas akhir ini.
4. Dr. rer. nat. Rahadian Pratama, S.Si., M.Si, selaku penguji II atas segala saran dan masukan dalam penyempurnaan tesis ini.
5. Diklat Rumah Sakit Umum Daerah K.M.R.T Wongsonegoro dan Kepala Ruangan serta tim pengelola Laboratorium Mikrobiologi yang telah banyak membantu dalam proses penelitian.
6. Bapak Ibu Dosen S2 Ilmu Laboratorium Klinis Universitas Muhammadiyah Semarang, yang telah banyak memberikan tambahan ilmu dalam proses perkuliahan dan yang selalu sabar dalam mendidik putra putrinya.
7. Ayahanda Drs. Suswadi, M.Pd.I dan Ibunda Hanifah, S.Pd.I sebagai tanda bakti, hormat dan rasa terimakasih yang tiada terhingga. Kakak Mifta Kurnia Haswati, Amd. F, Praka Wawan Kurniawan, Ns. Anisa Fitriana Hanif, S. Kep

dan Aris Kurniawan, S.Pd, yang selalu menguatkanku dan memberikan do'a dalam memuliakanku di jalan tholabul ilmi.

8. Teman-teman se-almamater prodi S2 Ilmu Laboratorium Klinis Universitas Muhammadiyah Semarang yang selalu memberikan motivasi dalam menyelesaikan tugas akhir ini serta seluruh pihak yang telah membantu dalam menyelesaikan proposal tugas akhir ini.

Semoga bantuan dan bimbingan yang telah diberikan dicatat oleh Allah sebagai amal ibadah dan mendapatkan balasan pahala dari Allah SWT. Penulis mengharapkan tulisan yang sederhana ini dapat bermanfaat bagi pembaca.

Semarang, Agustus 2022

Risa Tri Umami
NIM. G4C018010

ANALISIS MUTASI DAN FILOGENETIK RNA VIRUS SARS-COV-2 STRAIN KOTA SEMARANG JAWA TENGAH

Risa Tri Umami
NIM G4C018010

RINGKASAN

Pada bulan Desember 2019 wabah dari sindrom pernafasan akut SARS-CoV-2 menyebabkan penyakit *Coronavirus 2019* (Covid-19) terdeteksi di Wuhan, China. Virus SARS-CoV-2 merupakan RNA virus untai tunggal yang tidak bersegmentasi dengan Panjang ≤ 32 kb. *Coronavirus* menyebar melalui manusia, mamalia, dan burung yang menyebabkan penyakit pernafasan, enterik hati dan neurologis [3]. Penyebaran virus yang sangat cepat, membuat *World Health Organization* (WHO) menetapkan masalah ini sebagai pandemi global, termasuk di Indonesia. Jawa Tengah merupakan Provinsi dengan kasus Covid-19 terbanyak di Indonesia. Peningkatan jumlah kasus yang cukup signifikan perlu dilakukan deteksi SARS-CoV-2 yang cepat dan akurat untuk penemuan awal, pengobatan dan memutus penularan virus SARS-CoV-2. Analisis *Whole Genome Sequencing* (WGS) dapat digunakan untuk mengidentifikasi jalur transmisi patogen dengan cepat dan akurat. MiSeq Illumina adalah salah satu instrumen yang *sequencing by synthesis* (SBS) dan dapat menghasilkan 90% sekuensing data. Keberadaan beberapa varian genetik SARS-CoV-2 dalam populasi yang sama dapat menjelaskan tingkat keparahan pasien Covid-19. Penelitian ilmiah tentang studi sekuensing genom dari SARS-CoV-2 yang menginfeksi di Kota Semarang masih sedikit diteliti, perbedaan karakteristik dan sifat virus yang berada di Kota Semarang berbeda dengan kota lainnya, karena adanya perbedaan demografi dan mobilitas. Hal ini mendorong peneliti melakukan penelitian tentang analisis mutasi pada RNA SARS-CoV-2 di Kota Semarang, Jawa Tengah. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pola mutasi sekuen genom SARS-CoV-2, menganalisis varian SARS-CoV-2 yang menginfeksi pasien Covid-19 di Kota Semarang serta menganalisis filogenetik dan mengetahui posisi kelompok SARS-CoV-2 yang berada di Kota Semarang.

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian eksplorasi pada SARS-CoV-2 untuk menganalisa varian dan mutasi. Sampel yang digunakan dalam penelitian berupa cairan alantois yang diambil dari pasien dengan gejala infeksi SARS-CoV-2. Penegakan diagnosis SARS-CoV-2 menggunakan metode *Real-Time Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR). Sampel virus dikumpulkan di RSUD K.M.R.T Wongsonegoro Kota Semarang selama kurun waktu Agustus 2021. Sampel positif lalu dilakukan analisis *Whole Genom Sequencing* dan dianalisis di Laboratorium CoViD-19 Fakultas Kedokteran, Kesehatan Masyarakat, dan Keperawatan, Universitas Gajah Mada Yogyakarta. Pada penelitian ini dari masing-masing sampel pada target gen RdRP dan gen E

memiliki *Ct value* dibawah ≤ 36 sehingga semua sampel dinyatakan terkonfirmasi CoViD-19 dan dilanjutkan analisis *whole genome sequencing*.

Berdasarkan analisis mutasi pada sampel yang telah disejajarkan dengan genom virus referensi Wuhan (NC_045512), maka didapatkan mutasi pada daerah ORF1ab yaitu pada NSP2, NSP3, NSP4, NSP6, NSP8, NSP9, NSP11, NSP13, NSP14, NSP16, GEN S, ORF3a, GEN M, ORF7ab, GEN N dan ORF 10. Virus SARS-CoV-2 merupakan virus RNA yang memiliki laju mutasi yang tinggi. Mutasi yang telah ditemukan pada beberapa studi didapatkan pada NSP, protein *Spike*, gen M, N dan RdRP. Peranan NSP dalam patogenesis virus dan target yang dapat digunakan untuk penargetan obat antivirus dan sintesis vaksin [38]. Adanya mutasi pada virus SARS-CoV-2 menginisiasi terjadinya perubahan pada basa nitrogen. Perubahan basa nitrogen yang dominan terjadi pada sampel penelitian adalah perubahan basa nitrogen C ke T. Perubahan basa nitrogen ini mengakibatkan virus SARS-CoV-2 menjadi karakteristik penularan baru pada manusia. Adanya perubahan basa nukleotida akan berpengaruh pada perubahan asam amino. Perubahan asam amino yang mendominasi di wilayah protein NSP3. Hal ini menjadikan varian *Delta* memiliki penyebaran yang sangat luas [41]. Pola mutasi dianalisis menggunakan *Single Nucleotida Polymorphism* (SNP) dan didapatkan jenis mutasi terdiri dari *delesi*, *SNP*, *missense* dan *silent*. Mutasi diinisiasi oleh perubahan materi genetik dan bersifat mewarisi keturunannya. Varian virus SARS-CoV-2 dianalisis menggunakan Pangolin versi 3.3.14 didapatkan hasil bahwa seluruh sampel merupakan varian *Delta* (B.1.617.2). Analisis filogenetik dilakukan dengan menggunakan kumpulan data dari 28 genom virus SARS-CoV-2 di Indonesia dan dari negara lainnya bersumber dari GISAID (www.gisaid.org) dengan panjang nukleotida 29.903 serta referensi genom beracuan pada sekuen virus SARS-CoV-2 Wuhan (NC_045512.2). Berdasarkan analisis varian ke 8 sampel yang diperiksa merupakan varian *Delta* (B.1.617.2). Varian *Delta* terjadi penurunan netralisasi virus oleh serum [45]. Berdasarkan hasil penelitian diperoleh simpulan bahwa pola mutasi sekuen genom virus SARS-CoV-2 di Kota Semarang terjadi pada protein *Spike*, NSP3 dan NSP2, varian virus SARS-CoV-2 yang menginfeksi pasien Covid-19 di Kota Semarang adalah *Delta* (B.1.617.2) pada kurun waktu Agustus 2021 dan berdasarkan pohon filogenetik varian virus SARS-CoV-2 di Kota Semarang terdiri 3 *Clade* yaitu *clade* pertama merupakan varian virus dari India, *clade* kedua varian virus *Delta* dari Jogjakarta dan Jawa Tengah dan *clade* ketiga merupakan *daughter clades* dengan sampel Semarang atau berdekatan dengan varian virus *Delta* dari Jawa Tengah.

Penelitian ini dibatasi dengan jumlah sampel yang relatif sedikit. Terlepas dari keterbatasan, data yang diperoleh sangat berharga untuk memahami penyebaran dan fitur evolusi SARS-CoV-2. Diperlukan penelitian lebih lanjut yang bertujuan untuk memantau distribusi varian SARS-CoV-2 dan keragaman genetik di wilayah Jawa Tengah dan seluruh Indonesia. Saran yang dapat diberikan untuk penelitian selanjutnya adalah jumlah sampel dalam penelitian dapat ditambah sehingga identifikasi varian virus beragam dan penemuan *Clade* tertentu dengan interpretasi penyelidikan epidemiologi diperlukan untuk menemukan peningkatan dan penurunan frekuensi varian di Indonesia.

RNA MUTATION AND PHILOGENETIC ANALYSIS OF SARS-COV-2 STRAIN SEMARANG, CENTRAL JAVA

Risa Tri Umami

NIM G4C018010

SUMMARY

In December 2019 an outbreak of the SARS-CoV-2 acute respiratory syndrome causing Coronavirus disease 2019 (Covid-19) was detected in Wuhan, China. The SARS-CoV-2 virus is an unsegmented single-stranded RNA virus with a length of 32 kb. Coronaviruses spread through humans, mammals, and birds causing respiratory, enteric and neurological diseases [3]. The spread of the virus is very fast, making the World Health Organization (WHO) designate this problem as a global pandemic, including in Indonesia. Central Java is the province with the most Covid-19 cases in Indonesia. A significant increase in the number of cases requires rapid and accurate detection of SARS-CoV-2 for early detection, treatment and stopping the transmission of the SARS-CoV-2 virus. Whole Genome Sequencing (WGS) analysis can be used to identify pathogen transmission pathways quickly and accurately. MiSeq Illumina is an instrument that is sequenced by synthesis (SBS) and can produce 90% of data sequencing. The presence of multiple genetic variants of SARS-CoV-2 in the same population may explain the severity of COVID-19 patients. Scientific research on genome sequencing studies of SARS-CoV-2 that infects in the city of Semarang is still little researched, the differences in the characteristics and nature of the virus in the city of Semarang are different from other cities, due to differences in demographics and mobility. This prompted researchers to conduct research on mutation analysis in SARS-CoV-2 RNA in Semarang City, Central Java. The purpose of this study was to determine the pattern of mutations in the SARS-CoV-2 genome sequence, analyze the SARS-CoV-2 variant that infects Covid-19 patients in Semarang City and analyze phylogenetic analysis and determine the position of the SARS-CoV-2 group in Semarang City.

The type of research conducted is exploratory research on SARS-CoV-2 to analyze variants and mutations. The sample used in the study was allantoic fluid taken from patients with symptoms of SARS-CoV-2 infection. The diagnosis of SARS-CoV-2 uses the Real-Time Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) method. Virus samples were collected at the K.M.R.T Wongsonegoro Hospital, Semarang City during the period of August 2021. The positive samples were then analyzed for Whole Genome Sequencing and analyzed at the CoViD-19 Laboratory, Faculty of Medicine, Public Health, and Nursing, Gajah Mada University, Yogyakarta. In this study, each sample on the target gene RdRP and gene E had a Ct value below 36 so that all samples were confirmed to be CoViD-19 and continued with whole genome sequencing analysis.

Based on mutation analysis in samples that have been aligned with the Wuhan reference virus genome (NC_045512), mutations were found in the

ORF1ab region, namely NSP2, NSP3, NSP4, NSP6, NSP8, NSP9, NSP11, NSP13, NSP14, NSP16, GEN S, ORF3a, GEN M, ORF7ab, GEN N and ORF 10. The SARS-CoV-2 virus is an RNA virus that has a high mutation rate. Mutations that have been found in several studies are found in NSP, Spike protein, M, N and RdRP genes. The role of NSPs in viral pathogenesis and targets that can be used for antiviral drug targeting and vaccine synthesis [38]. The presence of mutations in the SARS-CoV-2 virus initiates changes in nitrogen bases. The dominant change in nitrogen base that occurred in the research sample was the change in nitrogen base from C to T. This change in nitrogen base caused the SARS-CoV-2 virus to become a new transmission characteristic in humans. A change in the nucleotide base will affect the change in the amino acid. Changes in the predominant amino acid in the NSP3 protein region. This makes the Delta variant has a very wide distribution [41]. Mutation patterns were analyzed using Single Nucleotide Polymorphism (SNP) and found that the types of mutations consisted of deletion, SNP, missense and silent. Mutations are initiated by changes in the genetic material and are hereditary in nature. The SARS-CoV-2 virus variant was analyzed using Pangolin version 3.3.14. The results showed that all samples were Delta variants (B.1.617.2). Phylogenetic analysis was carried out using a data set from 28 genomes of the SARS-CoV-2 virus in Indonesia and from other countries sourced from GISAID (www.gisaid.org) with a nucleotide length of 29,903 and a reference genome based on the sequence of the Wuhan SARS-CoV-2 virus (NC_045512.2). Based on the analysis of variance, the 8 samples examined were the Delta variant (B.1.617.2). The Delta variant has decreased viral neutralization by serum [45]. Based on the results of the study, it was concluded that the pattern of mutations in the genome sequence of the SARS-CoV-2 virus in Semarang City occurred in Spike, NSP3 and NSP2 proteins, the variant of the SARS-CoV-2 virus that infects Covid-19 patients in Semarang City was Delta (B.1.617). 2) in the period of August 2021 and based on the phylogenetic tree of the SARS-CoV-2 virus variant in Semarang City consisting of 3 clades, namely the first clade is a virus variant from India, the second clade is the Delta virus variant from Jogjakarta and Central Java and the third clade is a daughter clade. with samples from Semarang or close to the Delta virus variant from Central Java.

This study is limited by a relatively small number of samples. Despite the limitations, the data obtained are invaluable for understanding the spread and evolutionary features of SARS-CoV-2. Further research is needed that aims to monitor the distribution of SARS-CoV-2 variants and genetic diversity in the Central Java region and throughout Indonesia. Suggestions that can be given for further research is that the number of samples in the study can be increased so that the identification of various viral variants and the discovery of certain clades with the interpretation of epidemiological investigations are needed to find an increase and decrease in the frequency of variants in Indonesia.

ANALISIS MUTASI DAN FILOGENETIK RNA VIRUS SARS-COV-2 STRAIN KOTA SEMARANG JAWA TENGAH

Risa Tri Umami
NIM G4C018010

ABSTRAK

Coronavirus Disease (Covid-19) yang disebabkan oleh *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2* (SARS-CoV-2) pertama kali dilaporkan di Wuhan, China pada bulan Desember 2019. Virus SARS-CoV-2 merupakan RNA virus untai tunggal yang tidak bersegmentasi dengan panjang ≤ 32 kb. Peningkatan jumlah kasus yang cukup signifikan perlu dilakukan deteksi SARS-CoV-2 yang cepat dan akurat untuk penemuan awal, pengobatan dan memutus penularan virus SARS-CoV-2. Analisis *Whole Genome Sequencing* (WGS) dapat digunakan untuk mengidentifikasi jalur transmisi patogen dengan cepat dan akurat. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pola mutasi sekuen genom SARS-CoV-2, menganalisis varian SARS-CoV-2 serta menganalisis filogenetik dan mengetahui posisi kelompok SARS-CoV-2 yang berada di Kota Semarang. Jenis penelitian adalah penelitian eksplorasi pada SARS-CoV-2 untuk menganalisa varian dan mutasi. Sampel penelitian berupa cairan alantois yang diambil dari pasien dengan gejala infeksi SARS-CoV-2, yang dikumpulkan di RSUD K.M.R.T Wongsonegoro Kota Semarang (selama kurun waktu Agustus 2021). Penegakan diagnosis SARS-CoV-2 menggunakan metode *Real-Time Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR). Sampel positif lalu dianalisis menggunakan *Whole Genom Sequencing* di Universitas Gajah Mada Yogyakarta. Hasil penelitian diperoleh pola mutasi sekuen genom virus SARS-CoV-2 di Kota Semarang terjadi pada protein *Spike*, NSP3 dan NSP2, dengan varian virus SARS-CoV-2 kebanyakan dari varian *Delta* (B.1.617.2). Berdasarkan pohon filogenetik varian virus terdiri dari 3 *Clade* yaitu *clade* pertama merupakan varian virus dari India, *clade* kedua varian virus *Delta* dari Jogjakarta dan Jawa Tengah dan ketiga adalah *daughter clades* dari *clade* kedua (Jogjakarta dan Jawa Tengah) berupa sampel Semarang.

Kata Kunci : Genom, SARS-CoV-2, *Whole Genome Sequencing*,

RNA MUTATION AND PHILOGENETIC ANALYSIS OF SARS-COV-2 STRAIN SEMARANG, CENTRAL JAVA

Risa Tri Umami

NIM G4C018010

ABSTRACT

Coronavirus Disease (Covid-19) caused by Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) was first reported in Wuhan, China in December 2019. The SARS-CoV-2 virus is a single-stranded RNA virus, it has not segmented by length 32 kb. A significant increase in the number of cases requires rapid and accurate detection of SARS-CoV-2 for early detection, treatment and stopping the transmission of the SARS-CoV-2 virus. Whole Genome Sequencing (WGS) analysis can be used to identify pathogen transmission pathways quickly and accurately. The purpose of this study was to determine the SARS-CoV-2 variant that infected Covid-19 patients, analyze phylogenetic tree for determining position of the SARS-CoV-2 clade in Semarang City. The type of research conducted is exploratory research on SARS-CoV-2. This study used allantoic fluid as sample that taken from patients with symptoms of SARS-CoV-2 infection, collected from K.M.R.T Wongsonegoro Hospital, Semarang City (during the period of August 2021). The sample continued run to Real-Time Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) method. The positive samples were then analyzed for Whole Genome Sequencing at Gajah Mada University, Yogyakarta. The results of the study, pattern of mutations in the SARS-CoV-2 virus genome sequence in Semarang City were Spike, NSP3 and NSP2 proteins. Commonly the SARS-CoV-2 virus variant that infected Covid-19 patients in Semarang City was Delta (B.1.617. 2). Based on the phylogenetic analyze found that were consisted of 3 clades: the first clade from India, the second is Delta from Jogjakarta and Central Java and the third clade is a daughter clade with samples from Semarang.

Keywords: *Genome, SARS-CoV-2, Whole Genome Sequencing*

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL DEPAN	i
HALAMAN SAMPUL DALAM	ii
HALAMAN PERNYATAAN	iii
HALAMAN PERSETUJUAN	iv
HALAMAN PENGESAHAN	v
HALAMAN KATA PENGANTAR	vi
HALAMAN RINGKASAN	viii
HALAMAN SUMMARY	x
HALAMAN ABSTRAK	xii
HALAMAN ABSTRACT	xiii
DAFTAR ISI	xiv
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR GAMBAR	xvii
DAFTAR ISTILAH	xviii
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Permasalahan	5
C. Tujuan Penelitian	6
D. Manfaat Penelitia	6
E. Keaslian penelitian	7
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	9
A. Virus SARS-CoV-2	9
B. <i>Whole Genome Sequencing</i>	16
C. Filogenetik Virus SARS-CoV-2	17
D. Mutasi dan Varian virus SARS-CoV-2	26
BAB III LANDASAN TEORI	31
BAB IV METODE PENELITIAN	34
A. Jenis Penelitian	34
B. Tempat dan Waktu Penelitian	34
C. Definisi Operasional	34
D. Obyek Penelitian	34
E. Alat dan Bahan	35
1. Alat	35
2. Bahan	35
F. Prosedur Kerja	36
1. Pengambilan Swab Nasofaring dan Orofaring	36
2. Preparasi Sampel	36
3. Ekstraksi RNA virus	36
4. Amplifikasi Gen E dan Orf1ab	37
5. Analisis Produk Hasil PCR	37

6. Analisis <i>Whole Genome Sequencing</i>	38
7. Analisis Filogenetik	38
G. Alur Penelitian	39
H. Teknik Pengumpulan Data	39
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN	40
A. Hasil Penelitian	40
1. Gambaran Umum Sampel	40
2. Analisis <i>Whole Genome Sequencing</i>	40
3. Pola Mutasi Sekuen Virus	52
4. Varian Virus SARS-CoV-2	52
5. Filogenetik	53
B. Pembahasan	57
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN	64
A. Kesimpulan	64
B. Saran	64

DAFTAR PUSTAKA

LAMPIRAN

DAFTAR TABEL

Tabel 1.	Keaslian penelitian	7
Tabel 2.	Klasifikasi <i>Coronaviridae</i> menurut <i>International Committee of Taxonomy of Viruses (ICTV)</i>	10
Tabel 3.	<i>Varian of Interest</i> yang ditetapkan oleh WHO	19
Tabel 4.	<i>Varian of Concern</i> yang ditetapkan oleh WHO	20
Tabel 5.	Varian yang sebelumnya terpantau WHO	24
Tabel 6.	Varian yang sebelumnya terpantau CDC	24
Tabel 7.	Definisi operasional	34
Tabel 8.	Distribusi sampel menurut jenis kelamin, usia, gejala, jenis vaksin, komorbid dan status pasien	40
Tabel 9.	Hasil pemeriksaan <i>Real-Time Polymerase Chain Reaction</i>	41
Tabel 10.	<i>Mapping</i> NSP2 NSP3, NSP4, NSP6, NSP8, NSP 9, NSP11 dan NSP13 pada virus SARS-CoV-2 sampel Kota Semarang	43
Tabel 11.	<i>Mapping</i> NSP14, NSP16, GEN S, ORF3a, GEN M, ORF7ab, GEN N dan ORF10 pada virus SARS-CoV-2 sampel Kota Semarang	46
Tabel 12.	Perubahan basa nitrogen pada virus SARS-CoV-2 pada sampel penelitian Kota Semarang	48
Tabel 13.	Perubahan asam amino pada NSP2, NSP3, NSP4, NSP6, NSP8, NSP12, NSP13, NSP14 dan NSP16 pada sampel penelitian Kota Semarang	49
Tabel 14.	Perubahan asam amino pada gen Spike, GEN M, GEN N, ORF3 dan NS7ab pada sampel penelitian Kota Semarang	51
Tabel 15.	<i>Single Nucleotida Polymorphism (SNP)</i> pada virus SARS-CoV-2 pada sampel penelitian Kota Semarang	52
Tabel 16.	Varian Virus	53

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Struktur virus SARS-CoV-2	12
Gambar 2. Komposisi genom SARS-CoV-2	12
Gambar 3. Genom virus SARS-CoV-2 dan ukuran	13
Gambar 4. Mekanisme infeksi SARS-CoV-2	15
Gambar 5. Posisi <i>spike</i> protein asam amino	22
Gambar 6. Pohon kekerabatan dan polarisasi karakter dalam analisis filogenetik	28
Gambar 7. Analisis filogenetik dan penyesuaian urutan <i>Coronavirus</i> dari spesies yang berbeda	30
Gambar 8. Alur Penelitian	39
Gambar 9. Pohon Filogenetik Virus SARS-CoV-2 Strain Semarang	55

DAFTAR ISTILAH

BLAST	: (<i>Basic Local Alignment Search Tool</i>) platform bioinformatika untuk mencari sekuens asam nuklear atau protein dan memeriksa keabsahannya yang dimiliki oleh peneliti
Contig	: Sekuens yang diurutkan dalam satu fragmen berdasarkan <i>string matching</i> dan <i>sequence alignment</i>
DNA	: <i>Deoxyribose Nucleic Acid</i> , asam nukleotida, biasanya dalam bentuk heliks ganda yang mengandung instruksi genetik yang menentukan perkembangan biologis dari seluruh bentuk kehidupan sel
Filogenetik	: klasifikasi secara taksonomi dari suatu organisme berdasarkan pada sejarah evolusi
Gen	: materi genetik yang terdiri atas sepenggal DNA yang menentukan sifat individu.
Genom	: keseluruhan informasi genetik yang dimiliki suatu sel atau organisme, atau khususnya keseluruhan asam nukleat yang memuat informasi tersebut.
Kodon	: deret nukleotida pada mRNA yang terdiri atas kombinasi tiga nukleotida berurutan yang menyandi suatu asam amino tertentu
Kromosom	: molekul seperti benang yang membawa informasi herediter
MiSeq Illumina	: instrumen yang digunakan untuk menentukan karakterisasi gen DNA mikroorganisme.
Mutasi	: perubahan yang terjadi pada urutan nukleotida.
Mutasi <i>Missense</i>	: Perubahan susunan basa nitrogen yang menyebabkan perubahan asam amino
Mutasi <i>Silent</i>	: Perubahan susunan basa nitrogen yang tidak menyebabkan perubahan asam amino
<i>Nonsense</i> mutasi	: Perubahan susunan basa nitrogen yang menjadi kodon stop sehingga sintesis protein berhenti dan menghasilkan rantai polipeptida yang lebih pendek
RNA	: <i>Ribonukleat acid</i> , materi genetik yang terdiri dari nukleotida
RT-PCR	: <i>Real time polymerase chain reaction</i> , Deteksi amplifikasi gen target
SARS-CoV-2	: virus yang mengakibatkan infeksi pernapasan COVID-19
<i>Sequence alignment</i>	: cara mengatur urutan DNA, RNA atau protein untuk mengidentifikasi daerah kesamaan
<i>Whole genome sequencing</i>	: metode yang digunakan untuk mengurutkan genom pada organisme

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Coronavirus Disease (Covid-19) yang disebabkan oleh *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2* (SARS-CoV-2) pertama kali dilaporkan di Wuhan, China pada bulan Desember 2019. Kasus ini berawal dari sekelompok pasien dengan pneumonia yang tidak diketahui penyebabnya, dan dikaitkan dengan *seafood wholesale market* atau pasar grosir makanan laut di Wuhan, China [1]. Virus SARS-CoV-2 merupakan RNA virus untai tunggal yang tidak bersegmentasi dengan panjang mulai dari 26 hingga 32 kb. Secara taksonomi, virus SARS-CoV-2 merupakan famili dari *Nidoviral*, termasuk genus *Beta coronavirus*. Kemampuan virus SARS-CoV-2 menginfeksi manusia melalui pengikatan protein *Spike* virus oleh *Angiotensin-Converting-Enzyme II* (ACE2) pada sel manusia [2].

Coronavirus menyebar melalui manusia, mamalia, dan burung yang menyebabkan penyakit pernafasan, enterik hati dan neurologis [3]. Penyebaran virus yang sangat cepat, membuat *World Health Organization* (WHO) menetapkan masalah ini sebagai pandemi global, termasuk di Indonesia. Di Indonesia kasus pertama dilaporkan pada 2 Maret 2020. Peningkatan jumlah kasus terus terjadi hingga 17 November 2021 menunjukkan kasus konfirmasi di dunia berjumlah 255.103.209 sedangkan kasus kematian berjumlah 5.126.415. Jumlah kasus terkonfirmasi sampai tanggal 17 November 2021 sebanyak 4.251.945 orang dan kasus kematian sebanyak 143.698 orang [3]. Jawa Tengah merupakan

Provinsi dengan kasus Covid-19 terbanyak di Indonesia. Pada 17 November 2021, di Jawa Tengah telah dilaporkan sebanyak 485.757 kasus terkonfirmasi dan 32.408 kasus kematian [4] dan di Kota Semarang mencatat sebanyak 88.323 kasus terkonfirmasi dan 4.465 kasus kematian [5].

Peningkatan jumlah kasus yang cukup signifikan perlu dilakukan deteksi SARS-CoV-2 yang cepat dan akurat untuk penemuan awal, pengobatan dan memutus penularan virus SARS-CoV-2. Penelitian molekuler berbasis genom menjadi metode yang cocok untuk mengidentifikasi sumber infeksi. Pengujian sifat genotip dan fenotip dapat mengetahui ciri molekuler dari virus [6]. Analisis *Whole Genome Sequencing* (WGS) dapat digunakan untuk mengidentifikasi jalur transmisi patogen dengan cepat dan akurat. Data WGS merupakan sumber data untuk memahami evolusi virus dan membantu pelacakan jalur infeksi, sehingga dapat membantu pengembangan strategi diagnostik, terapeutik dan pencegahan [2].

Saat ini virus SARS-CoV-2 mengalami mutasi yang sudah menyebar ke berbagai negara. Varian baru menular lebih cepat dibandingkan sebelumnya. Penularan yang cepat akibat mutasi virus yang terjadi mendorong dilakukannya penelitian untuk menemukan penyebab dan pola penyebaran SARS-CoV-2 melalui sifat molekuler virus. *Next Generation Sequencing* (NGS) menyediakan cara yang efektif dan minim bias untuk mengidentifikasi varian virus baru. Metode ini secara luas dapat menentukan rute penularan virus, mendeteksi mutasi virus untuk mencegah penyebaran varian strain baru, mengidentifikasi mutasi

virus yang tidak dapat terdeteksi dengan diagnostik molekuler, serta dapat mengidentifikasi mutasi virus yang dapat mempengaruhi respon vaksin [2].

MiSeq Illumina adalah salah satu instrumen yang telah mendapatkan persetujuan penggunaan secara klinis atau *diagnostic in-vitro* (IVD) oleh *Food Drug Administration*. Sistem yang digunakan pada instrumen MiSeq memanfaatkan Illumina *sequencing by synthesis* (SBS) yang dapat menghasilkan 90% sekuensing data. Penggunaan sistem MiSeq dapat mengakses data yang berfokus pada *targeted resequencing*, metagenomik. Kelebihan menggunakan MiSeq adalah dalam pembacaan data yang dapat mencapai 25 juta data sekuensing. Selain itu MiSeq merupakan *platform* ideal dengan waktu pengerjaan yang cepat sehingga dapat menghemat biaya dalam analisis sekuensing [7]. Identifikasi urutan genom dalam melacak jalur infeksi dalam suatu populasi berpotensi pada peningkatan respon kesehatan masyarakat.

Urutan genom lengkap dari SARS-CoV-2 telah diteliti setelah manifestasi penyakit di Wuhan China, pada Desember 2019. Urutan genom virus telah dilakukan dari pasien yang terinfeksi dengan membandingkan urutan genom referensi [8]. Urutan genom referensi Wuhan, China telah dirilis sebagai dukungan kesehatan masyarakat. Pada 12 Januari 2020, empat urutan genom virus telah disimpan dalam *database* yang dikelola oleh *Global Initiative on Sharing All Influenza Data* (GISAID) [9]. Update WGS per 20 Juni 2021 menurut *Genomic Surveillance* Indonesia berjumlah 2.242 *sequences*. Jumlah tersebut mengalami peningkatan per 14 November 2021 sebanyak 5.396.402 *sequences*. Data sebaran kasus dengan *Variant of Concern* (VoC) di Jawa Tengah mengalami peningkatan.

VoC menyebabkan salah satu atau dua atau ketiga kondisi berikut: peningkatan kemampuan penularan atau perubahan signifikan pada epidemiologi, peningkatan virulensi atau perubahan gambaran klinis dan penurunan efektivitas pada intervensi kesehatan masyarakat/sosial, diagnosis, vaksin/terapeutik.

Di Jawa Tengah terdapat sebanyak 309 kasus *Delta* (B.1.617.2) dan 1 kasus *Alpha* (B.1.1.7) [10]. Mutasi virus SARS-CoV-2 tidak berhenti pada varian *Delta*, varian baru juga mengalami peningkatan salah satunya varian *Omicron* (B.1.1.5.29). GISAID mencatat perkembangan kasus CoViD-19 varian *Omicron* di Indonesia telah mencapai 15.663 kasus per tanggal 22 Juli 2022. Varian ini memiliki tingkat penyebaran yang lebih cepat dari varian lainnya, tetapi memiliki tingkat kesembuhan yang relatif cepat serta pasien tidak mengalami gejala berat. Varian *Omicron* pertama kali menyebar di Benua Afrika yaitu negara Afrika Selatan. WHO menetapkan varian ini sebagai *Varian of Concern* [9].

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa urutan genom SARS-CoV-2 yang menginfeksi memiliki faktor mutasi yang ditetapkan pada referensi Wuhan, China [8]. Pada tanggal 18 Agustus 2020 sebanyak 18 genom SARS-CoV-2 asal pasien Indonesia dibandingkan dengan genom referensi Wuhan (NC_045512.2) diperoleh total 43 mutasi asam amino. Sebanyak 16 (37,21%) mutasi berada pada protein struktural seperti *Spike* dan *Nucleocapsid*. Protein struktural yang bertugas membentuk fisik virus seperti virus baru terdiri dari 4 protein yaitu *Spike* (S), *Nucleocapsid* (N), *Envelope* (E), *Membrane Protein* (M), *RNA-dependent RNAPolymerase* (RdRp) dan *Open Reading Frame 1ab* (Orf1ab). Sebanyak 27 (62,79%) mutasi terjadi pada protein non-struktural (Orf1a atau Orf1b). Protein

nonstruktural yang bertugas melakukan replikasi materi genetik virus terdiri dari 16 *Non-Structural Proteins* (NSP). Dari semua mutasi yang diketahui, hanya *Spike* D614G yang saat ini disinyalir menjadi mutasi yang berpotensi meningkatkan penularan SARS-CoV-2 [2].

Keberadaan beberapa varian genetik SARS-CoV-2 dalam populasi yang sama dapat menjelaskan tingkat keparahan pasien Covid-19. Analisis data sekuensing genom SARS-CoV-2 menunjukkan mutasi pada awal penyebaran virus di dunia. Urutan genom serta struktur fungsi protein dari SARS-CoV-2 yang telah diketahui dapat membantu dalam membedakan protein virus secara struktural, sehingga pengobatan dapat ditemukan dengan cepat. Penelitian ilmiah tentang prevalensi dan distribusi SARS-CoV-2 di Indonesia sudah banyak dilakukan, namun penelitian untuk melakukan studi sekuensing genom dari SARS-CoV-2 yang menginfeksi di Kota Semarang masih sedikit diteliti. Selain itu, perbedaan karakteristik dan sifat virus yang berada di Kota Semarang berbeda dengan kota lainnya, karena adanya perbedaan demografi dan mobilitas. Berdasarkan peningkatan kasus Covid-19, kurangnya identifikasi urutan genom serta perbedaan demografis Kota Semarang, maka peneliti melakukan penelitian tentang analisis mutasi pada RNA SARS-CoV-2 di Kota Semarang, Jawa Tengah.

B. Rumusan Permasalahan

Berdasarkan uraian pada latar belakang maka rumusan masalah pada penelitian ini adalah:

1. Bagaimana pola mutasi sekuen genom SARS-CoV-2 di Kota Semarang?

2. Varian SARS-CoV-2 apa saja yang menginfeksi pasien Covid-19 di Kota Semarang?
3. Bagaimana gambaran filogenetik SARS-CoV-2 di Kota Semarang?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah:

1. Mengetahui pola mutasi sekuen genom SARS-CoV-2 di Kota Semarang.
2. Menganalisis varian SARS-CoV-2 yang menginfeksi pasien Covid-19 di Kota Semarang.
3. Menganalisis filogenetik dan mengetahui posisi kelompok SARS-CoV-2 yang berada di Kota Semarang.

D. Manfaat Penelitian

1. Manfaat teoritis

Manfaat teoritis penelitian ini adalah sebagai sarana untuk meningkatkan pengetahuan dan menambah informasi mengenai SARS-CoV-2 beserta mutasi dan penyebaran SARS-CoV-2.

2. Manfaat produktif

Manfaat produktif penelitian adalah:

- a) Peneliti: menerapkan ilmu kesehatan yang diperoleh dalam penelitian dan meningkatkan kemampuan dalam penelitian.
- b) Bidang Laboratorium: mendapatkan keahlian dalam mengidentifikasi SARS-CoV-2 dalam pengendalian penyebaran virus, pengobatan dan pengembangan vaksin.

- c) Masyarakat: sebagai bahan informasi tentang penyebaran penyakit dan SARS-CoV-2.

3. Manfaat praktis

Manfaat praktis penelitian ini adalah sebagai sarana mendapatkan informasi tentang varian virus baru untuk pengendalian, pencegahan dan pengobatan.

E. Keaslian penelitian

Tabel 1 Keaslian Penelitian

No	Peneliti, Tahun	Judul	Hasil Penelitian
1.	Paraskevis <i>et al</i> , 2020	<i>Full-Genome Evolutionary Analysis of The Novel Coronavirus [2019nCoV] berbeda dari SARS-CoV dan MERS- Reject The Hypothesis ofCoV. Emergence as a Result of a Recent Recombination Event</i>	Analisis urutan genom 2019-nCoV termasuk <i>BetaCoronavirus</i> , tetapi berbeda dari SARS-CoV dan MERS- <i>Reject The Hypothesis ofCoV. Emergence as a Result of a Recent Recombination Event</i>
2	Fabiola <i>et al</i> , 2020	<i>Full Genome Sequence of the First SARS-CoV-2 /CDMS/ Detected in Mexico</i>	Analisis filogenetik <i>hCoV/Mexico InDRE_01/2020</i> termasuk kelompok G dengan garis Eropa, terutama Belgia, Swis dan Inggris, menunjukkan strain berkorelasi dengan transmisi yang dilaporkan GISAID.
3	Alireza <i>et al</i> , 2020	<i>SARS-CoV-2 Molecular and Phylogenetic Analysis in COVID-19 Patients : A Preliminary Report from Iran</i>	Analisis filogenetik menunjukkan tidak ada perbedaan antara isolat Iran dan negara lain.
4	Gunadi <i>et al</i> , 2020	<i>Full-length Characterization and Phylogenetic Analysis of SARS-CoV-2 Virus Strain from Yogyakarta and Central Java Indonesia</i>	Analisis filogenetik mengungkapkan bahwa satu sampel merupakan <i>Clade L</i> dan tiga sampel merupakan <i>Clade GH</i> . <i>Clade L</i> adalah EPI_ISL_5168 06 merupakan genom virus dari Asia, sedangkan <i>Clade GH</i> adalah EPI_ISI_525492, EPI_ISI_516800 dan EPI_ISI_516829 merupakan genom virus Asia dan Eropa.

No	Peneliti, Tahun	Judul	Hasil Penelitian
5	Radhakrishna <i>et al</i> , 2021	<i>Clinical And Whole Genome Characterization of SARS-CoV-2 in India</i>	Analisis genom dari tujuh pasien SARS CoV-2 di India menunjukkan mereka berada di bawah dua klade I/A3i dan A2a [empat menurut GISAID : O,L,GR,GH]. Analisis protein <i>Spike</i> : referensi wuhan, D614G dan Y28H menunjukkan bahwa tiga varian dengan interaksi ACE2 yang diprediksi berbeda. Tingkat ekspresi ACE2 bervariasi di antara pasien.

Perbedaan penelitian yang akan dilakukan dengan penelitian sebelumnya oleh Paraskevis (2020), Fabiola (2020), Alireza (2020), Gunadi (2020), Radhakrisna (2021) terletak pada lokasi pengambilan sampel secara demografis wilayah yaitu Amerika, Mexico, Iran, Yogyakarta, dan India. Sedangkan sampel penelitian yang digunakan menggunakan sampel yang diambil di Kota Semarang, Jawa Tengah. Perbedaan lain terdapat pada penggunaan alat dalam sekuensing yaitu Fabiola menggunakan *Ion Xpress™ Plus Fragment Library Kit*, Radhakrishna *Illumina HiSeq X instrumen*, sedangkan penelitian ini menggunakan *NGS Illumina MiSeq v.3 instrument*.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Gambaran SARS-CoV-2

Wuhan merupakan ibu kota provinsi Hubei di China tengah yang menjadi provinsi terbesar ketujuh di negara tersebut, dengan populasi 11 juta orang. Pada awal Desember 2019, seorang pasien didiagnosis menderita pneumonia tidak biasa. Pada 31 Desember, kantor regional *World Health Organization* (WHO) di Beijing menerima pemberitahuan bahwa sekelompok pasien pneumonia yang penyebabnya tidak diketahui dari kota yang sama. Para peneliti dari *Institute of Virology* di Wuhan telah melakukan analisis metagenomik untuk mengidentifikasi *Coronavirus* baru sebagai etiologi potensial dengan menyebut virus tersebut *novel Coronavirus* 2019 (nCoV2019) [11].

Pusat Pengendalian dan Pencegahan Penyakit/*Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) Amerika Serikat menyebut SARS-CoV-2 sebagai 2019 *novel Coronavirus* (2019-nCoV) atau disebut dengan istilah *Coronavirus disease-19*. Virus SARSCoV-2 termasuk superdomain biota, kingdom virus. SARS-CoV-2 adalah kelompok virus terbesar dalam ordo Nidovirales. Semua virus dalam ordo Nidovirales adalah *nonsegmented positive-sense RNA viruses*. SARSCoV-2 termasuk dalam familia *Coronaviridae*, sub familia *Coronavirinae*, genus *BetaCoronavirus*, subgenus *Sarbecovirus*. Virus ini awalnya diklasifikasikan ke dalam kelompok berdasarkan serologi tetapi sekarang pengelompokan berdasarkan filogenetik. Subgenus *Sarbecovirus* meliputi *Bat-SL-CoV*, *SARS-CoV*

dan 2019-nCoV. BatSL-CoV awalnya ditemukan di Zhejiang, Yunan, Guizhou, Guangxi, Shaanxi dan Hubei, China [12].

Penelitian lain menunjukkan bahwa SARS-CoV2 grup Beta meliputi *Bat Coronavirus* (BcoV), *Porcine hemagglutinating encephalomyelitis virus* (HEV), *Murine hepatitis virus* (MHV), *Human Coronavirus 4408* (HCoV4408), *Human Coronavirus OC43* (HCoV-OC43), *Human Coronavirus HKU1* (HCoV-HKU1), *Severe acute respiratory syndrome Coronavirus* (SARS-Co-V) dan *Middle Eastern respiratory syndrome Coronavirus* (MERS-CoV) [12].

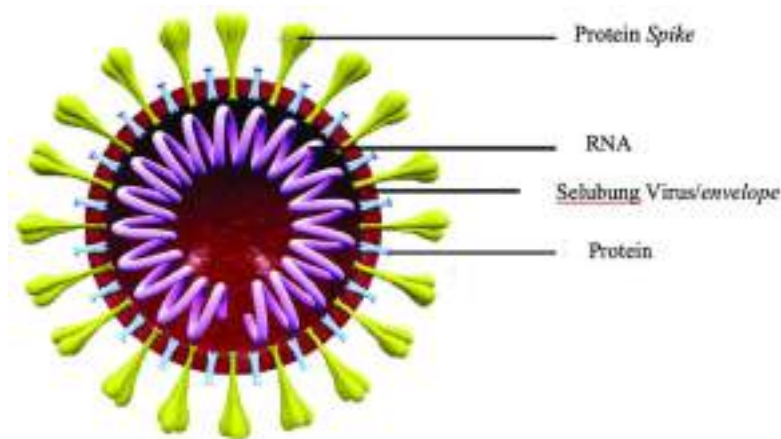
Tabel 2 Klasifikasi *Coronaviridae* menurut *International Committee of Taxonomy of Viruses (ICTV)* [13]

Spesies	Singkatan	Penularan			China	WHO	
		Manusia	Kelelawar	Hewan lainnya			
<i>Bat coronavirus HKU10</i>	BtCoV-HKU10		√		√	α-CoV	
<i>Bat coronavirus CDPHE15</i>	BtCoV- CDPHE15		√		√	α-CoV	
<i>Rhinolophus ferrumequinum alpha coronavirus Hub-2013</i>	BtRfCoV-Hub13		√		√	α-CoV	
<i>Human coronavirus 229E</i>	HCoV-229E	√			√	α-CoV	
<i>Lucheng Rn rat coronavirus</i>	LRNV				Tikus	√	α-CoV
<i>Ferret coronavirus</i>	FRCoV				Musang	√	α-CoV
<i>Mink coronavirus</i>	MCoV				Cerpelai	√	α-CoV
<i>Miniopterus coronavirus 1</i>	bat BtMiCoV-1		√			√	α-CoV
<i>Miniopterus coronavirus HKUB</i>	bat BtMiCoV-HKU8		√			√	α-CoV
<i>Myotis ricketti Alpha coronavirus Sax-2011</i>	BtMy-Sax11		√			√	α-CoV
<i>Nyctalus velutinus alpha coronavirus SC-2013</i>	BtNy-Sc13		√			√	α-CoV
<i>Porcine epidemic diarrhea virus</i>	PEDV		√		Babi	√	α-CoV
<i>Scotophilus bat coronavirus 512</i>	BtScCoV-512		√			√	α-CoV
<i>Rhinolophus coronavirus HKU2 (SADS)</i>	bat BtRHCoV-HKU2		√		√	√	α-CoV
<i>Human coronavirus NL63</i>	HCoV-NL63	√	√			√	α-CoV
<i>NL63 related coronavirus BtKYNL63-9b</i>	bat BtKYNL63 strain		√			√	α-CoV

Spesies	Singkatan	Penularan		China	WHO
		Manusia	Kelelawar		
<i>Alpha coronavirus 1 (transmissible gastroenteritis virus)</i>	TGEV			✓	α-CoV
<i>China rattus coronavirus HKU24</i>	RtCoV-HKU24			✓	β-CoV
<i>Human coronavirus HKU1</i>	HCoV-HKU1	✓		✓	β-CoV
<i>Murine coronavirus (murine hepatitis coronavirus)</i>	MHV			X	β-CoV
<i>Bat Hp-Beta coronavirus Zhejiang 2013</i>	BtGpCoV-ZJ13		✓	✓	β-CoV
<i>Hedgehog Coronavirus 1</i>	EriCoV-1			✓	β-CoV
<i>Middle East Respiratory Syndrome-related coronavirus</i>	MERSr-CoV	✓	✓	✓	β-CoV
<i>Pipistrellus bat coronavirus HKU5</i>	BtPiCoV-HKU5		✓	✓	β-CoV
<i>Tylosycteris bat coronavirus HKU4</i>	BtTyCoV-HKU4		✓	✓	β-CoV
<i>Rousettus bat coronavirus GCCDC1</i>	BtEoCoV-GCCDC1		✓	✓	β-CoV
<i>Rousettus bat coronavirus HKU9</i>	BtRoCoV-HKU9		✓	✓	β-CoV
<i>Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus</i>	SARSr-CoV	✓	✓	✓	β-CoV
<i>Beta Coronavirus 1 (human coronavirus OC43)</i>	HCoV-OC43	✓		✓	β-CoV
<i>Wigeon coronavirus HKU20</i>	WiCoV-HKU20			✓	δ-CoV
<i>Bulbul coronavirus HKU11</i>	BuCoV-HKU11			✓	δ-CoV
<i>Coronavirus HKU15</i>	PoCoV-HKU15			✓	δ-CoV
<i>Munia coronavirus HKU13</i>	MuCoV-HKU13			✓	δ-CoV
<i>White-eye coronavirus HKU16</i>	WeCoV-HKU16			✓	δ-CoV
<i>Night heron coronavirus HKU19</i>	NHCoV-HKU19			✓	δ-CoV
<i>Common moorhen coronavirus HKU21</i>	CMCoV-HKU21			✓	δ-CoV
<i>Beluga whale coronavirus SW1</i>	BWCoV-SW21			X	γ-CoV
<i>Avian infectious bronchitis virus</i>	IBV			✓	γ-CoV

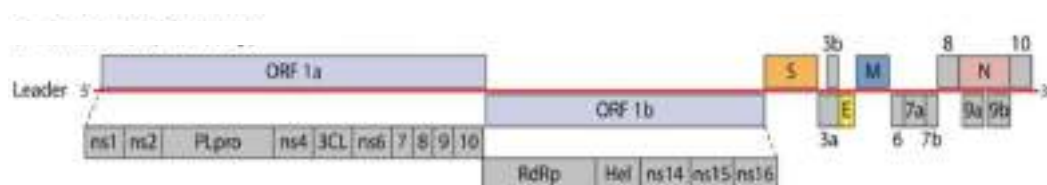
Coronavirus berbentuk bulat dengan diameter sekitar 125 nm seperti yang dijelaskan dalam penelitian menggunakan mikroskop *cryo-electron* [11]. Partikel SARS-CoV-2 mengandung empat protein struktural utama, yaitu protein S yang

berbentuk seperti paku, protein M, protein E dan protein N. Protein S (~150 kDa) protein M (~25– 30 kDa), protein E (~8–12 kDa), sedangkan protein N terdapat di dalam nukleokapsid [14].



Gambar 1 Struktur SARS-CoV-2 [15]

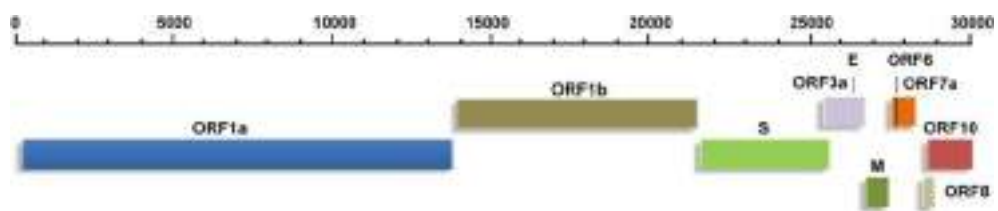
Susunan genetik SARS-CoV-2 terdiri dari 13-15 ORF yang mengandung ~30.000 nukleotida. Genom tersebut mengandung 38% pasangan nukleotida GC dan 11 gen penyandi protein yang diekspresikan. Produk gen tersebut memiliki kontribusi dalam mekanisme infeksi SARS-CoV-2 dan kelangsungan hidup sel di dalam sel. Kandungan nukleotida genom virus didominasi oleh dua protein non-struktural ORF1a dan ORF1ab diikuti oleh *non-structural protein* (NSP) [14].



Gambar 2 Komposisi genom SARS-CoV-2 [49]

Ukuran genom SARS-CoV-2 berkisar antara 26 hingga 32 kb dan terdiri dari 6-11 *Open Reading Frames* (ORF) yang mengkode 9680 asam amino poliprotein.

ORF pertama terdiri dari sekitar 67% genom yang mengkodekan 16 protein nonstruktural (nsps), sedangkan ORF yang tersisa mengkode untuk protein aksesori dan protein struktural mencakup dua *protease* sistein virus, termasuk *protease like papain* pada NSP3, *chymotrypsin*, *protease* utama pada NSP5, RNA-dependent RNA *polimerase* pada NSP12, enzim *helicase* pada NSP13, dan protein lain yang terlibat dalam transkripsi dan replikasi SARS-CoV-2. Genom virus SARS-CoV-2 mengkode empat protein struktural utama termasuk glikoprotein permukaan *Spike* (S), *Membrane* (M), protein nukleokapsid (N), amplop (E) dan protein aksesori seperti ORF [13].



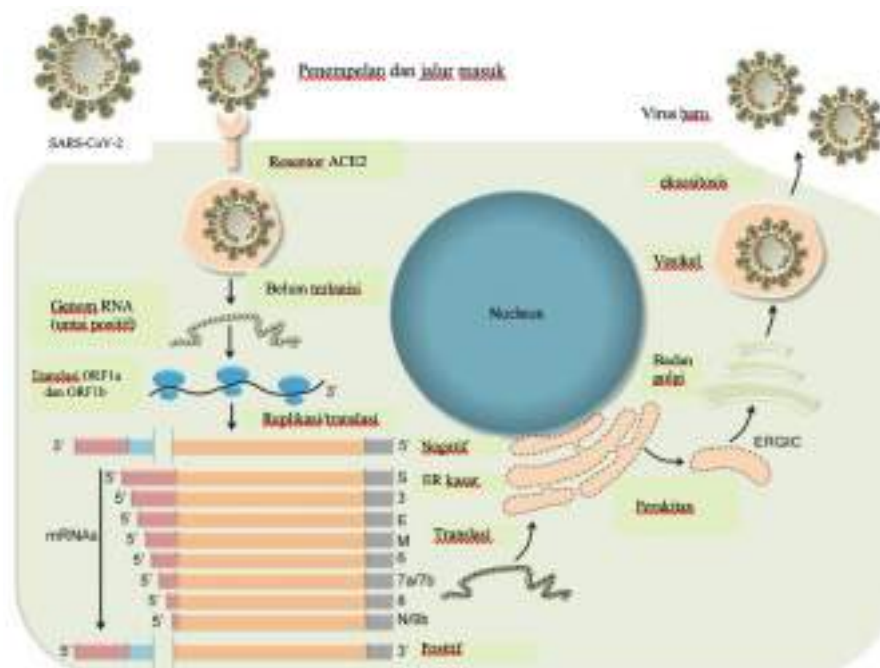
Gambar 3 Ukuran bagian-bagian genom SARS-CoV-2 [13]

SARS-CoV-2 merupakan virus yang menyerang saluran pernapasan. Virus ini berhubungan dengan infeksi pada saluran pernapasan menggunakan sel epitel dan mukosa saluran napas sebagai target awal dan menyebabkan infeksi pada saluran pernapasan atau kerusakan organ [15]. Dinding SARS-CoV-2 dilapisi oleh protein S sebagai protein antigenik utama yang dapat berikatan dengan reseptor yang ada di tubuh hostnya. Protein S adalah antigen utama berada di permukaan SARS-CoV-2 [14].

Protein S membentuk homotrimer *transmembrane* yang menonjol dari permukaan virus untuk menempel pada reseptor inang ACE2 melalui reseptor binding domain (RDB) di S1 subunit diikuti dengan fusi subunit 2 ke membran

sel. Subunit S1 bertanggung jawab untuk mengikat ke reseptor permukaan sel ACE2 dan subunit S2 virus yang bertanggung jawab fusi ke membran sel [14]. *Envelope Glycoprotein Spike* membentuk lapisan glikoprotein yang menonjol dari *envelope*. Di dalam *envelope* virus berada pada *nukleokapsid heliks*, terdiri dari virus positif *sense* genom RNA yang lapsi oleh protein nukleokapsid. Protein M menentukan bentuk selubung virus dan membentuk pengatur pusat n-Cov. Protein E berinteraksi dengan protein M untuk membentuk selubung virus. Tonjolan besar protein S dari selubung virus membentuk seperti mahkota. Protein S adalah penentu infeksi pada inang virus, tropisme jaringan dan penginduksi utama respon imun *host* [16].

Protein struktural yang dikodekan adalah protein S yang terdiri dari tiga subunit 1, subunit 2 bersifat heterodimer yang berikatan dengan reseptor ACE2 pada tipe II *pneumocyte*. Masuknya SARS-CoV-2 ke dalam *pneumocyte* melalui endositosis dan berkembangbiak di host. Subunit 2 mengandung peptide fusi yang merupakan kunci masuknya virus ke dalam sel [17].



Gambar 4 Mekanisme infeksi SARS-CoV-2 [19]

Studi menunjukkan bahwa infeksi SARS-CoV-2 merupakan interaksi protein S dan ACE2 [18]. Pengikatan *Spike* glikoprotein ke reseptor seluler ACE2 bertujuan internalisasi. Internalisasi menghasilkan uncoating RNA virus ke dalam sitoplasma yang mengalami translasi dan menghasilkan poliprotein replikasi pp1a dan pp1b. Selanjutnya akan dipecah oleh proteinase yang dikodekan virus menjadi protein kecil. Replikasi SARS-CoV-2 melibatkan ribosom selama proses translasi yang menghasilkan salinan genomik dan varian RNA subgenomik dengan transkripsi. Perakitan virion terjadi melalui interaksi RNA virus dan protein pada retikulum endoplasma (RE) dan kompleks Golgi. Virion ini kemudian dilepaskan dari sel melalui vesikel melalui eksositosis [13].

Mekanisme virulensi *Coronavirus* berhubungan dengan protein struktural dan protein non struktural. *Coronavirus* memiliki RNA yang dapat membantu proses translasi dari proses replikasi/transkripsi yaitu messenger RNA (mRNA). Gen yang berperan dalam proses replikasi/transkripsi ini mencakup 2/3 dari rangkaian RNA 5'-end dan dua *Open Reading Frame* (ORF) yang tumpang tindih, yaitu ORF1a dan ORF1b. Dalam tubuh inang, SARS-CoV-2 melakukan sintesis poliprotein 1a/1ab (pp1a/pp1ab). Proses transkripsi pada sintesis pp1a/pp1ab berlangsung melalui kompleks replikasi dan transkripsi di vesikel membran ganda dan juga berlangsung melalui sintesis rangkaian RNA subgenomik [20].

SARS-CoV-2 sensitif terhadap panas, dengan suhu 56 derajat celsius selama 30 menit yang dapat menghancurkan dinding lipid. Penggunaan Alkohol 75%, klorin mengandung desinfektan, asam peroksiasetat dan klorform juga dapat

melarutkan lipid dari *Coronavirus 2* [21]. Menurut Van Doremalen dkk, 2020 menyebutkan bahwa *Coronavirus* lebih stabil pada plastik dan stainless steel >72 jam dibandingkan tembaga (4 jam) dan kardus [22].

B. *Whole Genome Sequencing*

Whole Genome Sequencing (WGS) adalah suatu metode untuk menentukan urutan nukleotida yang tepat dari genom tertentu. Dengan metode ini dapat diperoleh sensitivitas yang tinggi, latar belakang genetik, data epidemiologi, dan indikasi risiko kontaminasi silang. Metode ini juga memiliki kelebihan dalam membedakan timbulnya reinfeksi [23], serta membantu identifikasi mutasi genetik yang berkaitan dengan resistensi antibiotik [22]. WGS dapat memberikan informasi lebih lanjut mengenai SARS-CoV-2. WGS meningkatkan pemahaman pada patogenesis, imunologi, evolusi, dan transmisi [23]. WGS membutuhkan sebuah genom sebagai referensi untuk dapat menunjukkan berbagai mutasi/variasi genetik pada sampel.

Kelayakan WGS *real-time* membutuhkan akses ke platform yang menyediakan urutan dapat dipercaya, akses ke metadata untuk interpretasi, dan analisis data dengan kecepatan tinggi dengan biaya rendah. Oleh karena itu, WGS memungkinkan dapat digunakan saat wabah penyakit seperti Covid-19 [23].

WGS merupakan metode yang dapat mengurutkan basa nitrogen dari keseluruhan genom. MiSeq merupakan instrumen yang dapat terintegrasi dengan *Illumina sequencing* memanfaatkan terminator reversible sekuensing yang dapat membaca pengurutan sintesis sebuah oligonukleotida dari ujung 5'-3'. Instrumen MiSeq adalah salah satu sekuenser teknologi yang dapat melakukan amplifikasi,

sekuensi DNA genom, analisis data besar. Prinsip pembacaan berdasarkan *single and paired-ends running*, yaitu melakukan pembacaan dengan running dari tunggal menjadi berpasangan. Oligonucleotida yang dapat terbaca pada MiSeq disesuaikan berdasarkan pada panjang pasangan basa yaitu 1x36 bp hingga 2x300 bp. Pembacaan dalam satu kali proses dapat menghasilkan data hingga 15gb dalam waktu 4 jam dan menghasilkan 25M pembacaan tunggal dan 50M pembacaan berpasangan. Instrumen Miseq memberikan *platform* yang ideal untuk waktu pengerjaan yang cepat, hemat biaya untuk analisis yang berfokus pada sekuensing gen, metagenomik dan studi ekspresi gen [7].

C. Mutasi dan Varian SARS-CoV-2

SARS-CoV-2 berevolusi seiring berjalannya waktu, sehingga memungkinkan untuk virus terus bereplikasi dan terjadi mutasi. Peningkatan mutasi disebabkan karena virus terus menyebar luas dalam sebuah populasi. SARS-CoV-2 memiliki tingkat mutasi substitusi per nukleotida. Penentuan pola mutasi dapat memberikan informasi tingkat virulensi, infektivitas, keparahan infeksi, pertimbangan pengembangan vaksin dan obat. Pola mutasi yang telah banyak terbentuk adalah perubahan pada protein S, ORF8 dan N dari SARS-CoV-2. Perubahan protein ORF8 dalam replikasi virus berpotensi dalam penghindaran kekebalan virus [28].

Perubahan protein S sejalan dengan perubahan dalam domain pada pengenalan epitope dari antibodi penetral. Hal ini dapat berpengaruh efektifitas antibodi monoklonal terhadap SARS-CoV-2. Protein S mengalami mutasi pada situs glikosilasi. Mutasi yang terjadi pada epitope protein S dan reseptor ACE2 mempengaruhi kinerja vaksin dan obat. Mutasi yang terjadi pada protein

struktural cenderung meningkatkan stabilitas struktural protein dan meningkatkan afinitas pengikatan antara protein *Spike* dan reseptor ACE2. Sementara itu, mutasi pada protein non-struktural sebagian besar menurunkan stabilitas protein virus. Virus SARS-CoV-2 yang memiliki satu atau lebih mutasi baru disebut varian virus. Mutasi yang diikuti oleh prevalensi tinggi menggambarkan keragaman varian dalam populasi tertentu dalam waktu tertentu. Peningkatan frekuensi mutasi dapat mengindikasikan munculnya varian baru dengan karakteristik yang berbeda, sehingga mengubah pola keragaman varian di daerah tersebut. Perubahan pada asam amino berperan penting dalam pemunculan varian baru dari SARS-CoV-2 [28].

Munculnya berbagai varian menurut CDC dan WHO membentuk klasifikasi untuk membedakan varian dari SARS-CoV-2. WHO membagi varian virus menurut karakteristik fenotip yaitu tingkat penularan, keparahan penyakit, resiko infeksi ulang, dampak diagnostik dan kinerja vaksin. Sistem nomenklatur digunakan untuk memberi nama varian, seperti *Global Initiative on Sharing All Influenza Data* (GISAID), *Nextstrain* dan *Pango*. Namun sistem penamaan tersebut memiliki beberapa kekurangan sehingga WHO merumuskan penamaan SARS-CoV-2 yang dikenal dengan *Variant of Interest* (VOI), *Variant of Concern* (VOC) dan *Variant Under Monitoring* (VUM).

VOI adalah varian SARS-CoV-2 ditandai dengan mutasi asam amino yang menyebabkan perubahan fenotip virus yang dapat mengubah karakteristik virus dan virulensi virus. Varian ini diidentifikasi sebagai penyebab penularan komunitas yang signifikan di berbagai negara dengan prevalensi jumlah kasus

meningkat. Kondisi epidemiologi menunjukkan resiko yang muncul terhadap kesehatan masyarakat. Varian ini menyebabkan kemampuan untuk menghindari deteksi dan penurunan efektifitas terapi/vaksinasi [3].

Tabel 3 *Varian of Interest* yang ditetapkan oleh WHO

WHO label	Pango lineage	GISAID Clade	Nextstrain Clade	Earliest documented sampels	Date of designation
<i>Lamda</i>	c.37	GR/452Q.V1	21G	Peru, 2020	Desember 14 Juni 2021
<i>Mu</i>	B.1621	GH	21H	Colombia, 2021	Januari 30 Agustus 2021

Berdasarkan kondisi epidemiologi, varian VOC memiliki peningkatan penularan dan perubahan yang merugikan dalam epidemiologi infeksi SARS-CoV-2, peningkatan virulensi atau perubahan penyakit klinis, penurunan efektivitas kesehatan masyarakat, termasuk vaksin dan terapi.

Tabel 4 *Varian of Concern* yang ditetapkan oleh WHO

WHO label	Pango lineage	GISAID Clade	Nextstrain Clade	Additional amino acid changes monitored	Earliest documented sampels	Date of designation
<i>Alpha</i>	B.1.1.7	GRY	20I (V1)	+S:484K	United Kingdom, September 2020	18 Desember 2020
<i>Delta</i>	B.1.351	GH/501Y.V2	20H (V2)	+S: L18F	Afrika Selatan, Mei 2020	18 Desember 2020
<i>Gamma</i>	P.1	GR/501Y.V3	20J (V3)	+S:681H	Brazil, November 2020	11 Jan 2021

<i>Delta</i>	B.1.617.2	G/478K.V1	21A, 21I, 21J	+S:417N	India, Oktober 2020	VOI: 4 April 2021 VOC: 11 Mei 2021
--------------	-----------	-----------	------------------	---------	---------------------------	---

Pada akhir Desember 2020, varian baru SARS-CoV-2 yang menjadi perhatian adalah garis keturunan B.1.1.7 yang juga disebut sebagai varian Alpha atau GRY (sebelumnya GR/501Y.V) dan dilaporkan di Inggris. Selain dideteksi dengan sekuensing genom, varian B.1.1.7 diidentifikasi dalam uji komersial yang sering digunakan yang ditandai dengan tidak adanya sampel PCR gen S (*S-gene Target Failure* atau SGTF). Varian B.1.1.7 mencakup 17 mutasi pada genom virus. Dari jumlah tersebut, delapan mutasi (penghapusan asam amino 69-70, penghapusan 144, N501Y, A570D, P681H, T716I, S982A, D1118H) ada dalam protein *Spike*. N501Y menunjukkan peningkatan afinitas protein *Spike* ke reseptor ACE 2, meningkatkan perlekatan virus dan selanjutnya masuk ke sel inang [31].

Varian lain dari SARS-CoV-2, B.1.351 juga disebut sebagai varian Beta atau GH501Y.V2 dengan beberapa mutasi *Spike*. Varian B.1.351 mencakup sembilan mutasi (L18F, D80A, D215G, R246I, K417N, E484K, N501Y, D614G, dan A701V) pada protein *Spike*, di mana tiga mutasi (K417N, E484K, dan N501Y) terletak di *Receptor Binding Domain* (RBD) dan meningkatkan afinitas pengikatan reseptor ACE2. Varian ini dilaporkan memiliki peningkatan resiko penularan, pengurangan netralisasi terapi antibodi monoklonal, serum plasma, maupun vaksinasi [30]. Varian ketiga yang menjadi perhatian adalah varian P.1 atau Gamma (GR/501Y.V3), diidentifikasi pada Desember 2020 di Brasil dan pertama kali terdeteksi di AS pada Januari 2021. Varian B.1.1.28 menyimpan sepuluh mutasi pada protein *Spike* (L18F, T20N, P26S, D138Y, R190S, H655Y,

T1027I V1176, K417T, E484K, dan N501Y). Tiga mutasi (L18F, K417N, E484K) terletak di RBD yang mirip dengan varian B.1.351 [31]. Varian keempat yang menjadi perhatian adalah Delta atau B.1.617.2. Diidentifikasi pada Desember 2020 di India dan menyebabkan gelombang kedua infeksi Covid-19 yang mematikan pada April 2021 di India. Varian Delta awalnya dianggap sebagai VOI. Namun, varian ini dengan cepat menyebar ke seluruh dunia mendorong WHO untuk mengklasifikasikannya sebagai VOC pada Mei 2021. Varian B.1.617.2 menyimpan sepuluh mutasi (T19R, G142D, 156del, 157del, R158G, L452R, T478K, D614G, P681R, D950N) pada protein *Spike*.

Varian SARS-CoV-2 selanjutnya adalah *Variant Under Monitoring* (VUM) atau sebelumnya dikenal sebagai *alerts for further monitoring*. Varian ini memiliki perubahan fenotip yang diperkirakan dapat merugikan tetapi belum didukung oleh temuan epidemiologi yang signifikan. Berdasarkan data aktif WHO per 22 September 2021 terdapat 4 varian yang termasuk dalam VUM, diantaranya B.1.266.2 yang ditemukan di Indonesia pada November 2020 dan R.1 yang telah menyebar ke beberapa negara sejak Januari 2021. Klasifikasi varian dalam VOI bersifat dinamis, dengan beberapa varian dapat mengalami reklasifikasi, yang disebabkan temuan epidemiologi dan potensi resiko yang ditimbulkan. Reklasifikasi peralihan *alerts for further monitoring* atau menjadi VOC. Per 22 September 2021, rekalsifikasi VOI menjadi VUM adalah *Kappa* (B.1.167.1), *Iota* (B.1.526), *Eta* (B.1.525) dan *Epsilon* (B. 1.427/B.1.429). Varian lain yang termasuk VOI beralih menjadi VUM dan VOC adalah *Zeta* (P2) dan *Theta* (P.3). Varian VUM tidak memiliki label dari WHO karena masih dalam pemantauan dan bersifat sementara atau dapat ditambahkan atau dihapuskan.

Varian *Eta* dan *Iota* menyimpan mutasi *Key Spike* (B.1.525: A67V, 69/70, 144, E484K, D614G, Q677H, F888L; B.1.526: L5F, T95I, D253G, S477N, E484K, D614G, A701V). Varian ini diklasifikasikan sebagai *variant of interest* oleh CDC dan WHO karena potensi pengurangan netralisasi oleh antibodi perawatan dan serum vaksin. Varian *Kappa* menyimpan mutasi *Key Spike* (T95I, G142D, E154K, L452R, E484Q, D614G, P681R, dan Q1071H) dan pertama kali terdeteksi di India pada Desember 2021 dan diklasifikasikan sebagai varian yang diminati oleh WHO dan CDC.

Tabel 5 Varian yang sebelumnya terpantau WHO

<i>Pango lineage</i>	<i>GISAID Clade</i>	<i>Nextstrain Clade</i>	<i>Earliest documented samples</i>	<i>Date of designation</i>
AZ.5	GR	-	Multiple countries, Januari 2021	2 Juni 2021
C.1.2	GR	-	Afrika Selatan, Mei 2021	1 September 2021
B.1.617.1 ^a	G/452R.V3	21B	India, Oct2020	VOI: 4 April 2021 VUM: 20 September 2021
B.1.526 ^b	GH/253G.V1	21F	Amerika Serikat, November 2020	VOI: 24 Maret 2021 VUM: 20 September 2021
B.1.525 ^c	G/484K.V3	21D	Beberapa negara, Desember 2020	VOI: 17 Maret 2021 VUM: 20 September 2021
B.1.630	GH	-	Republik Dominika, Maret 2021	12 Oktober 2020

Keterangan : a: semua lineage, b: sebelumnya dilacak dibawah parent lineage c: sebelumnya masuk dalam VOI : *Kappa* (B.1.617.1), *Iota* (B.1.526) dan *Eta* (B.1.525)

Semua varian (VOC, VOI, VUM) yang berbeda telah dikaji oleh WHO dan diklasifikasi ulang berdasarkan kriteria. Kriteria tersebut memenuhi setidaknya satu dari kriteria berikut yaitu varian tidak menyebar pada tingkat kesehatan masyarakat global, varian yang telah lama beredar tetapi tidak menimbulkan dampak yang berarti pada situasi epidemiologi dan varian yang memiliki bukti ilmiah yang tidak menunjukkan sifat mutasi sebelumnya. Varian tersebut dijelaskan pada tabel 6:

Tabel 6 Varian yang sebelumnya terpantau CDC

<i>Pango lineage</i>	<i>GISAID Clade</i>	<i>Nextstrain Clade</i>	<i>Earliest documented samples</i>	<i>Date of designation</i>
AV.1	GR	-	Amerika Serikat, Maret 2021	VUM: 26 Mei 2021 Direklasifikasi : 21 Juli 2021
AT.1	GR	-	Rusia, Januari 2021	VUM: 09 Juni 2021 Direklasifikasi : 21 Juli 2021

<i>Pango lineage</i>	<i>GISAID Clade</i>	<i>Nextstrain Clade</i>	<i>Earliest documented samples</i>	<i>Date of designation</i>
P.2*	GR/484 K.V2	20B/S.484 K	Brazil, April 2020	VOI: 17 Maret 2021 VUM: 6 Juli 2021 Direklasifikasi : 17 Agustus 2021
P.3*	GR/1092 K.V1	21E	Philippines, Jan-2021	VOI: 24 Mar 2021 VUM: 6 Jul 2021 Direklasifikasi : 17 Agustus 2021
R.1	GR	-	Beberapa negara, Januari 2021	VUM: 7 April 2021 Direklasifikasi : 9 November 2021
B.1.466.2	GH	-	Indonesia, November 2020	VUM: 28 April 2021 Direklasifikasi : 9 November 2021
B.1.1.519	GR	20B/S.732 A	Beberapa negara, Januari 2021	VUM: 02-Jun-2021 direklasifikasi : 9 November 2021
C.36.3	GR	-	Beberapa negara, Januari 2021	VUM: 16 Juni 2021 Direklasifikasi : 9 November 2021
B.1.214.2	G	-	Beberapa negara, Januari 2020	VUM: 30 Juni 2021 Direklasifikasi : 9 November 2021
B.1.427 B.1.429*	GH/452 R.V1	21C	United States of America, Mar-2020	VOI: 5 Maret 2021 VUM: 6 Juli 2021 Direklasifikasi : 9 November 2021
B.1.1.523	GR	-	Beberapa negara, Mei 2020	VUM:14 Juli 2021 Direklasifikasi : 9 November 2021
B.1.619	G	20A/S.126 A	Beberapa negara, Mei 2020	VUM:14 Juli 2021 Direklasifikasi : 9 November 2021
B.1.620	G	-	Beberapa negara, Mei 2020	VUM:14 Juli 2021 Direklasifikasi : 9 November 2021

*Former VOIs: *Epsilon*: B.1.427/B.1.429 ; *Zeta*: P.2; *Theta*: P.3

Varian *Epsilon* (B.1.427 dan B.1.429), juga disebut CAL.20C/L452R, muncul di Amerika Serikat pada Juni 2020 dan meningkat dari 0% menjadi >50% kasus dari 1 September 2020 hingga 29 Januari 2021 dan menunjukkan peningkatan 18,6-24% dalam transmisibilitas relatif. Varian ini memiliki mutasi spesifik (B.1.427: L452R, D614G; B.1.429: S13I, W152C, L452R, D614G). *Zeta*

memiliki mutasi *Key Spike* (L18F; T20N; P26S; F157L; E484K; D614G; S929I; dan V1176F) dan pertama kali terdeteksi di Brasil pada April 2020 [30]. Varian ini diklasifikasikan sebagai VOI oleh WHO dan CDC karena potensi penurunan netralisasi oleh perawatan antibodi dan serum vaksin.

Varian *Theta* (P.3) atau GR/1092K.V1 membawa mutasi *Key Spike* (*deletion* 141-143 E484K; N501Y; dan P681H) dan pertama kali terdeteksi di Filipina dan Jepang pada Februari 2021 dan diklasifikasikan sebagai VOI oleh WHO. CDC menetapkan VOC yaitu varian EpIsilon (B.1.427 dan B.1.429) dan VOI yaitu *Eta* (B.1.525), *Iota* (B.1.526), *Kappa* (B.1.617.1), *Zeta* (P.2), B.1.526.1, B.1.617 dan B.1.617 [30].

D. Filogenetik SARS-CoV-2

Istilah filogenetik berasal dari istilah Yunani yaitu *phyle* dan *phylon* yang berarti suku/ras, dan genetikos yang berarti kelahiran. Filogenetik adalah studi tentang hubungan evolusi diantara kelompok biologis. Filogenetik merupakan komponen penting dalam menentukan evolusi, epidemiologi, dan ekologi dari suatu populasi. Analisis filogenetik secara khusus didefinisikan sebagai ilmu yang digunakan untuk menentukan hubungan organisme baru dengan organisme yang terdahulu dan organisme yang diturunkan selama evolusi [24].

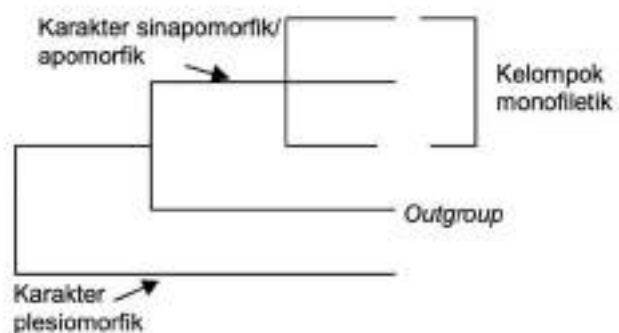
Proses evolusi melibatkan mutasi genetik dan proses rekombinasi pada spesies untuk membentuk spesies baru dan merubah sifat mereka yang akan menjadi dasar untuk menganalisis hubungan satu spesies satu dengan yang lain. Dalam mempelajari variasi dan diferensiasi genetik antara populasi, jarak genetik dapat dihitung berdasarkan jumlah perbedaan basa polimorfik lokus gen dari populasi pada urutan DNA.

Analisis filogenetik dipresentasikan sebagai sistem percabangan seperti diagram pohon atau pohon filogenetik [24]. Tujuan penyusunan filogenetik adalah untuk mengkonstruksi dengan tepat hubungan antara organisme dan mengestimasi perbedaan yang terjadi dari suatu spesies dengan keturunannya. Dalam studi evolusi konstruksi pohon filogenetik merupakan hal yang penting. Terdapat beberapa metode untuk mengkonstruksi pohon filogenetik dari data molekuler (nukleotida atau asam amino). Analisis filogenetik dari sekuen nukleotida merupakan analisis untuk menentukan hubungan kekerabatan yang diturunkan. Hubungan evolusi diantara sekuen digambarkan dengan menempatkan sekuen sebagai cabang luar dari sebuah pohon. Hubungan dari cabang pada bagian dalam pohon merefleksikan tingkat sekuen yang berbeda saling berhubungan. Dua sekuen yang sangat mirip akan terletak sebagai *neighboring outside* dari cabang-cabang dan berhubungan dalam cabang umum (*common branch*) [24].

Analisis filogenetik molekuler merupakan proses bertahap untuk mengolah data sekuen DNA atau protein sehingga diperoleh suatu hasil yang menggambarkan mengenai hubungan evolusi suatu kelompok organisme. Ada tiga tahapan penting dalam analisis filogenetik molekuler yaitu *sequence alignment*, rekonstruksi dan evaluasi pohon filogenetik menggunakan uji statistik [24].

Analisis filogenetik sekuen asam amino dan protein biasanya akan menjadi wilayah yang penting dalam analisis sekuen. Berdasarkan analisis, sekuen yang mempunyai kedekatan dapat diidentifikasi dengan menempati cabang yang bertetangga pada pohon. Ketika keluarga gen ditemukan dalam organisme atau

kelompok organisme, hubungan filogenetik diantara gen dapat memprediksikan kemungkinan mempunyai sifat yang sama. Analisis filogenetik juga digunakan untuk mengikuti perubahan yang terjadi secara cepat yang mampu mengubah suatu spesies, seperti virus [24]. Terdapat dua metode untuk merekonstruksi hubungan evolusi sekelompok organisme biologi, yaitu fenetika dan kladistika (percabangan). Metode fenotip mengevaluasi hubungan evolusi berdasarkan kepemilikan karakteristik atau ciri yang sama (*overall similarity*) dari anggota kelompok. Metode kladistika mempelajari karakteristik ciri setiap anggota kelompok atau hubungan perjalanan karakteristik evolusi. Di dalam filogenetik, sekelompok organisme yang anggotanya memiliki banyak kesamaan karakteristik dianggap memiliki hubungan yang sangat erat dan diperkirakan sebagai keturunan dari satu nenek moyang yang sama dengan nenek moyang dan semua keturunannya akan membentuk kelompok monofiletik. Anggota kelompok monofiletik membawa sifat atau pola genetik dan biokimia yang sama. Karakter apomorfik adalah karakter yang berubah, diturunkan dan terdapat pada *ingroup*, sedangkan karakter plesiomorfik adalah karakter primitif yang terdapat pada *outgroup*. Karakter sinapomorfik adalah karakter genetik dan ditemukan dalam kelompok monofiletik (Gambar 1) [24].

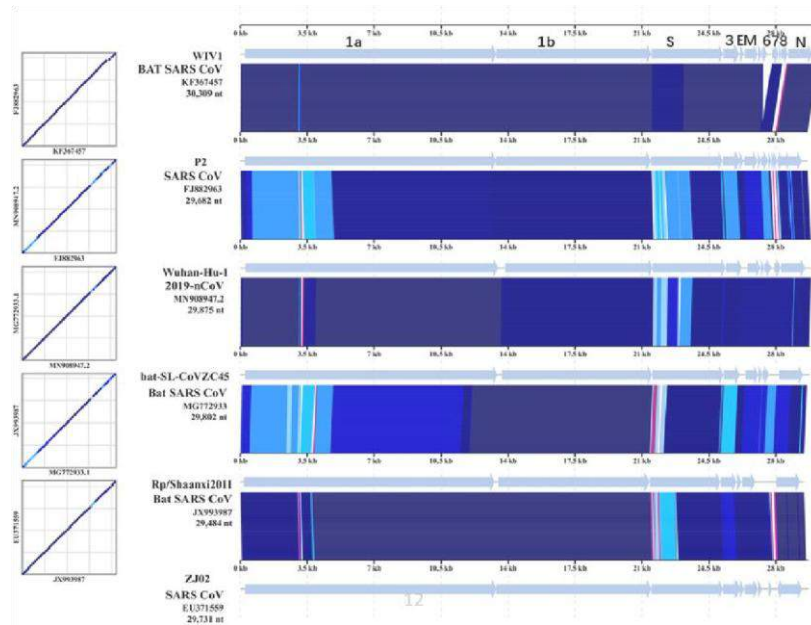


Gambar 6 Pohon kekerabatan dan polarisasi karakter dalam analisis filogenetik [24]

Metode filogenetik dapat melacak jalur infeksi SARS-CoV-2 menggunakan data dari genom virus yang diambil dari pasien yang terinfeksi Covid-19 di berbagai negara. Hasil studi mengungkapkan SARS-CoV-2 memiliki tiga varian dari kelompok garis keturunan yaitu tipe A, B, dan C. Para peneliti menemukan bahwa jenis virus SARS-CoV-2 tipe A pertama kali ditemukan di kota Wuhan, China. Mutasi virus tipe A telah diamati di Amerika Serikat dan sebagian besar virus ini juga ditemukan pada pasien positif SARS-CoV-2 asal Australia. SARS-CoV-2 tipe B telah terdeteksi pada pasien yang tinggal di Asia Timur. Meski begitu, virus jenis ini tidak bermutasi di luar wilayah tersebut dan bersifat menetap. Varian SARS-CoV-2 tipe C lebih banyak ditemukan di Benua Eropa [24].

Terdapat empat negara utama yang menjadi awal penyebaran virus di Eropa yaitu Perancis, Italia, Swedia, dan Inggris. Hasil studi selanjutnya yaitu virus tipe C yang ditemukan di Italia sebenarnya berasal dari pasien positif Covid-19 asal Jerman yang pertama kali muncul pada 27 Januari 2020. Sebelumnya banyak kalangan yang menilai bahwa wabah *Coronavirus* di Italia disebabkan oleh kluster Singapura. SARS-CoV-2 tipe A diidentifikasi paling dekat hubungannya dengan genom kelelawar dan trenggiling. SARS-CoV-2 tipe B berasal dari mutasi tipe A, sedangkan tipe C berasal dari mutasi virus B [25,26]. Berdasarkan hasil studi tersebut, peneliti berpendapat bahwa metode filogenetik dapat diterapkan pada sekuensing genom SARS-Cov-2 untuk membantu memprediksi perkembangan virus ini ke depannya. Analisis jaringan filogenetik memiliki potensi untuk

membantu mengidentifikasi sumber infeksi Covid-19 yang tidak terekam sehingga dapat menyebarkan infeksi lebih lanjut.



Gambar 7 Analisis filogenetik dan penyelarasan urutan *Coronavirus* dari spesies yang berbeda dengan menggunakan metode pangolin [27].

BAB III

LANDASAN TEORI

Pada bulan Desember 2019 wabah dari sindrom pernafasan akut SARS-CoV-2 menyebabkan penyakit *Coronavirus 2019* (Covid-19) terdeteksi di Wuhan, China. Berdasarkan WHO kasus kluster pneumonia dengan etiologi yang tidak jelas di kota Wuhan telah menjadi permasalahan kesehatan di seluruh dunia. Penyebaran epidemi ini terus berkembang hingga akhirnya diketahui bahwa penyebab kluster pneumonia ini adalah *Novel Coronavirus*. Pada 26 Januari 2020, lebih dari 2000 kasus infeksi SARS-CoV-2 telah dikonfirmasi, sebagian besar melibatkan orang yang tinggal atau mengunjungi Wuhan, dan penularan dari manusia ke manusia [1]. Pandemi terus berkembang hingga adanya laporan kematian dan kasus-kasus baru di luar China. Berdasarkan laporan WHO, pada 30 Agustus 2020 kasus konfirmasi tercatat sebanyak 24.854.140 di dunia dengan angka kematian 838.924 kematian dan CFR 3,4%. Pada 30 Januari 2020, WHO menetapkan Covid-19 sebagai *Public Health Emergency of International Concern* (PHEIC). Kejadian ini sebagai pandemik global, termasuk Indonesia [3].

Di Indonesia telah dilaporkan kasus pertama pada 2 Maret 2020. Menurut laporan Kemenkes RI pada 30 Agustus kasus konfirmasi tercatat sebanyak 172.053 dengan angka kematian 7343 dan CFR 4,3% [32]. Kasus terus meningkat sejak pelaporan pertama. Pemerintah menerapkan beberapa peraturan untuk menghentikan kejadian penularan, seperti melakukan isolasi pasien yang terinfeksi SARS-CoV-2, pemahaman protokol kesehatan berupa memakai masker, mencuci tangan, menjauhi kerumunan dan menjaga jarak. Namun upaya pemerintah masih

belum dapat mengurangi penularan, kejadian terus meningkat dan mengakibatkan kematian pada pasien. Pada 19 November 2020, Indonesia mencatat 478.720 dan 15.503 kematian oleh infeksi SARS-CoV-2 [3]. Situasi ini mengakibatkan Indonesia masuk dalam negara Asia Tenggara dengan jumlah kasus tertinggi kedua setelah Filipina dan jumlah kematian tertinggi infeksi SARS-CoV-2.

Pada tanggal 26 Maret 2020, WHO mengeluarkan enam strategi prioritas yang harus dilakukan oleh pemerintah untuk mengatasi pandemi. Strategi tersebut diantaranya memperluas, melatih dan mengerahkan petugas Kesehatan, menerapkan sistem untuk kasus yang dicurigai, identifikasi fasilitas yang dapat diubah menjadi layanan kesehatan khusus infeksi SARS-CoV-2, mengembangkan rencana untuk karantina pasien, fokus pada sektor yang dapat menekan penyebaran virus dan meningkatkan produksi pengujian serta meningkatkan ketersediaan logistik pengujian. Menurunkan dan menunda puncak endemi dianggap penting [3].

Salah satu tindakan adalah memperluas pengujian di seluruh sektor. Pengujian deteksi SARS-CoV-2 didasarkan pada *reverse transcriptase real-time polymerase chain reaction (rt-PCR)*. Diagnosis infeksi SARS-CoV-2 ditegakkan dengan pemeriksaan molekuler yaitu PCR, dan dilakukan sesuai protokol yang direkomendasikan oleh WHO dan *United States The Centers for Disease Control and Prevention (US-CDC)*. Diagnosis PCR memberikan hasil yang akurat dan menunjukkan adanya infeksi aktif pada seorang dengan hasil PCR positif, sehingga langkah-langkah investigasi epidemiologi terhadap kontak dapat segera dilakukan untuk mengurangi penyebaran penyakit [33].

Strategi lain yang disarankan adalah epidemiologi genom yang bertujuan untuk mengidentifikasi sumber infeksi SARS-CoV-2. Epidemiologi genom yang telah diteliti terungkap bahwa SARS-CoV-2 dengan mutasi D614G menjadi yang paling sering terdeteksi secara global, termasuk kawasan Asia Tenggara. SARS-CoV-2 dengan varian G614 memiliki titer infeksi yang jauh lebih tinggi daripada virus D614 asli, dan pasien Covid-19 dengan varian G614 memiliki tingkat infeksi yang lebih tinggi. Viral load dibandingkan pasien tanpa mutasi [34]. Sebuah studi menunjukkan bahwa SARS-CoV-2 dengan varian G614 mengungkapkan peningkatan infektivitas, kompetitif kebugaran, dan penularan daripada virus D614 tipe liar di epitel saluran napas manusia sel dan hamster [35]. Namun, mutasi ini tidak terkait dengan tingkat keparahan Covid-19 [34].

BAB IV

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang akan dilakukan adalah penelitian eksplorasi pada SARS-CoV-2 untuk menganalisa varian dan mutasi. Tahapan penelitian dilakukan sesuai dengan protokol yang ada dan telah diketahui keberhasilannya. Data-data hasil penelitian dianalisis secara deskriptif.

B. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di dua tempat yaitu :

1. Pengumpulan sampel : RSUD K.M.R.T Wongsonegoro Kota Semarang.
2. Analisis *Whole Genom Sequencing* : Laboratorium CoViD-19 Fakultas Kedokteran, Kesehatan Masyarakat, dan Keperawatan, Universitas Gajah Mada Yogyakarta.

C. Definisi Operasional

Definisi Operasional pada penelitian dijelaskan pada tabel 7 sebagai berikut:

Tabel 7 Definisi Operasional

No.	Variabel	Definisi Operasional	Cara Ukur	Hasil Ukur
1	SARS-CoV-2	Virus yang diisolasi dari pasien penderita Covid-19 Target gen RdRp, target gen E	rt-PCR	<i>Ct value</i> ≤ 36
2	RNA genom virus	<i>Ribonukleat Acid</i> [RNA] berdasarkan sekuen genom	virus Sekuensing	Pita DNA 2732kb
3	Filogenetik	Klasifikasi sekuen virus	berdasarkan Neighbor-joining	Pohon filogenetik

D. Obyek Penelitian

Obyek penelitian adalah SARS-CoV-2 yang diisolasi dari pasien Covid-19 dan diperiksa di Laboratorium Biologi Molekuler, RSUD K.M.R.T

Wongsonegoro Kota Semarang. Sampel yang digunakan dalam penelitian berupa cairan alantois (berupa dahak/lender/cairan dari nasofaring atau orofaring) yang diinfeksi oleh SARS-CoV-2 dan diperoleh pada bulan Agustus 2021 berasal dari Kota Semarang. Sampel dilakukan analisa *whole genome sequencing* pada bulan April 2022.

E. Alat dan Bahan

1. Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Virus Transport Media (VTM) (DNA/RNA Shield™ Collection Tube with Swab, Zymo Research, CA, United States), *tongue spatel*, parafilm, plastik klip, label, kontainer steril untuk sampel, marker, mikropipet, timer, vortex, microtube, incubator, filter tip, reagen *bioneer AccuPower®COVID-19 Real-Time RT-PCR Kit* dengan through *real-time Polymerase Chain Reaction (PCR)* using *ExiStation™ Universal MDx system* (Daejeon, Republik Korea), Kit Pemurnian *GeneJET PCR* (*Thermo Fisher Scientific*, MA, USA), Instrumen Illumina MiSeq (Illumina, San Diego, CA, USA) dengan reagen Illumina MiSeq v3 150 siklus.

2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah cairan alantois yang diinfeksi oleh SARS-CoV-2, VTM (*Virus Transport Media*), poly A yang dilarutkan dalam 500 µl ER *buffer* proteinase K yang telah dilarutkan dalam 1250 µl ER *buffer*, VW1 *buffer* yang dilarutkan dengan *ethanol absolute*, ER *buffer* hangat pada 56-60°C, kit mini QiAMP Viral RNA (Qiagen, Hilden, Jerman),

Maxima H Minus Double-Stranded cDNA Synthesis (*Thermo Fisher Scientific*, MA, USA).

F. Prosedur Kerja

1. Pengambilan Swab *nasofaring* dan *orofaring*

Pengambilan dilakukan pada *nasofaring* dan *orofaring*. Mempersiapkan *Cryotube* yang berisi 1,5 ml media virus atau VTM komersil. Lalu memberikan label yang berisi nama pasien, tanggal lahir, kode nomor spesimen, dan pengambilan swab ke berapa. *Dacron* dimasukan ke bagian *nasofaring* dan menggerakkan dakron dengan memutar secara perlahan. Kemudian dakron dimasukan ke dalam VTM. Setelah itu melakukan swab pada *orofaring* yaitu pada belakang tonsil dan menghindari swab menyentuh bagian lidah. Kemudian dakron dimasukan ke dalam VTM. *Cryotube* dililit dengan parafilm dan dimasukan ke dalam plastik klip.

2. Preparasi Sampel

Sampel berasal dari isolat virus koleksi RSUD K.M.R.T Wongsonegoro Kota Semarang selama kurun waktu Agustus 2021. Sampel diambil dari swab *nasofaring* dan *orofaring* kemudian dimasukan ke dalam media tranport virus. Sample dikirim ke Departemen Mikrobiologi dan Laboratorium Diagnostik Fakultas Kedokteran, Kesehatan Masyarakat dan Keperawatan, Universitas Gajah Mada, Yogyakarta.

3. Ekstraksi RNA Virus

Prinsip ekstraksi RNA adalah mengisolasi RNA SARS-CoV-2 agar dapat diperiksa dengan metode PCR. Ekstraksi RNA mengikuti tahapan dari kit insert

ekstraksi RNA virus Bioner. Proteinase K yang telah dilarutkan dalam 1250µl ER *buffer* lalu dipipet 10 µl, kemudian ditambahkan sampel sebanyak 200 µl, VB *buffer* 300µl, lalu vortex selama 10 detik dan diinkubasi pada suhu 56-60°C selama 10 menit. Sebanyak 300 µl ethanol absolute ditambahkan ke dalam microtube, lalu vortex selama 10 detik dan spindown 5 detik. 100 µl BST solution ditambahkan pada binding column kemudian di sentrifuge 13.000 rpm selama 30 detik, lalu dibuang cairannya. *Lysat* yang berada pada binding column dipindahkan dan di sentrifuge Kembali pada 13.000 rpm selama 1 menit. Sebanyak 500µl VW1 *buffer* ditambahkan kemudian di sentrifuge 13.000 rpm selama 1 menit, kemudian ditambahkan 200 µl RWA2 *buffer* di sentrifuge 13.000 rpm selama 1 menit. Binding column dipindahkan pada *microtube* baru kemudian di tambahkan 50 µl ER *buffer* hangat dan biarkan di suhu ruang selama 5 menit, kemudian setelah itu di sentrifuge 13.000 rpm selama 1 menit.

4. Amplifikasi Gen E dan Orf1ab

Amplifikasi gen menggunakan PCR dengan sistem program menggunakan alat cobas Z 480 dengan siklus *reverse transcription* pada suhu 50°C selama 15 menit (1 *cycle*), *initial denaturation* 95°C selama 3 menit (1 *cycle*), *pre-amplification* pada suhu 95°C selama 5 detik dan 60°C selama 40 detik (5 *cycle*), *amplification* 95°C selama 5 detik dan 60°C.

5. Analisis Produk Hasil PCR

Intepretasi hasil produk PCR berdasar pada kit insert (@RNA virus *bioner*) yaitu sebagai berikut :

Target	<i>Ct value</i>	Interpretasi
Orf1ab [RdRP] [FAM]	≤ 36	2019-nCoV ORF1ab [RdRP] gen positif

Gen E [JOE/VIC/HEX]	≤ 36	<i>Coronavirus</i> E gen positif
IC [Cy5]	≤ 32	Internal control positif

Hasil pembacaan

ORF1ab/RdRP [FAM]	Gen E [JOE/VIC/HEX]	IC[Cy5]	Interpretasi
+	+	+	2019-nCoV positif
+	-	+	Inkonklusif
-	+	-	<i>Near-source coronavirus</i> positif
-	-	-	2019-nCoV negatif
-	-	-	Invalid/pengulangan tes

6. Analisis *Whole Genome Sekuensing*

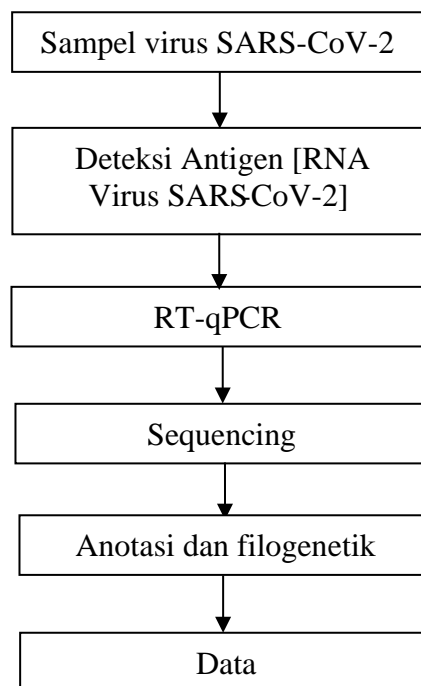
Total RNA virus diekstraksi dari 8 sampel menggunakan kit mini QiAMP Viral RNA (Qiagen, Hilden, Jerman), diikuti oleh sintesis cDNA untai ganda menggunakan Maxima H Minus Double-Stranded cDNA Synthesis (Thermo Fisher Scientific, MA, USA), kemudian dimurnikan dengan Kit Pemurnian GeneJET PCR (Thermo Fisher Scientific, MA, USA). Flex DNA Nextera untuk *enrichment* menggunakan panel *respiratory virus oligos* digunakan untuk persiapan perpustakaan, dan pengurutan seluruh genom dilakukan menggunakan *Next Generation sequencing* (NGS) yang diterapkan dalam Instrumen Illumina MiSeq (Illumina, San Diego, CA, USA) dengan reagen Illumina MiSeq v3 150 siklus [2 × 75 siklus). Di antara sampel yang dianalisis oleh NGS, yang menunjukkan data yang baik dilanjutkan analisis bioinformatika lebih lanjut.

7. Analisis Filogenetik

Data urutan sekuens dari semua isolat SARS-CoV-2 urutan sekuens referensi (diperoleh dari GeneBank, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) disajikan dalam bentuk format FASTA. Penjajaran urutan dilakukan menggunakan program MAFT.

Pohon filogenetik dibangun menggunakan filogeni dalam program Neighbor-Joining. Program bioinformatik yang digunakan adalah perangkat lunak Genious Prime.

G. Alur Penelitian



Gambar 8 Alur Penelitian

H. Teknik Pengumpulan Data

Data yang digunakan dalam penelitian ini merupakan data primer dan data yang diperoleh ditabulasikan kemudian disajikan dalam bentuk narasi deskriptif.

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

1. Gambaran Umum Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian berupa cairan alantois (berupa dahak/lender/cairan dari nasofaring atau orofaring yang diambil dari pasien dengan gejala infeksi SARS-CoV-2. Penegakan diagnosis SARS-CoV-2 menggunakan metode *Real-Time Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR), karena memiliki sensitifitas yang akurat dalam mendeteksi infeksi dini. Sampel virus dikumpulkan di RSUD K.M.R.T Wongsonegoro Kota Semarang selama kurun waktu Agustus 2021. Sampel yang memenuhi kriteria lalu dilakukan analisis *Whole Genom Sequencing* dan dianalisis di Laboratorium CoViD-19 Fakultas Kedokteran, Kesehatan Masyarakat, dan Keperawatan, Universitas Gajah Mada Yogyakarta. Sampel penelitian berjumlah 8 pasien berdasarkan distribusi kriteria sebagai berikut:

Tabel 8 Distribusi sampel menurut jenis kelamin, usia, gejala, jenis vaksin, komorbid dan status pasien

No	Inisial sampel	JK	Usia	Gejala	Jenis vaksin	Komorbid	Status pasien	
							Meninggal/hidup	Dirawat/isolasi mandiri
1	AS	L	59	Demam, anosmia, diare	sinovac	-	Hidup	Dirawat
2	LAS	P	37	Demam, batuk, sakit kepala, diare	sinovac	-	Hidup	Dirawat
3	LT	P	83	Demam, lemas, batuk, sakit tenggorokan, sesak nafas, anosmia	-	DM	Meninggal	Dirawat
4	RW	P	46	Demam, sakit kepala, pilek, anosmia	sinovac	-	Hidup	Dirawat
5	AZ	P	12	Demam, mual, batuk, pilek, lemas, diare	-	-	Hidup	Dirawat
6	TI	P	69	Demam, sesak nafas, lemas, batuk, anosmia, diare	-	DM, kolesterol	Hidup	Dirawat
7	MAH	L	41	Demam, sakit kepala, lemas, pilek, anosmia	sinovac	hipertensi	Hidup	Dirawat
8	KI	P	39	Demam, nyeri otot, mual, muntah, anosmia, diare	sinovac	-	Hidup	Dirawat

Ket : JK : jenis kelamin, L : Laki-laki, P : Perempuan, DM : diabetes miletus.

Berdasarkan tabel 8. didapatkan sampel dari jenis kelamin laki-laki berjumlah 2 orang dan perempuan berjumlah 6 orang. Seluruh sampel memiliki gejala umum infeksi SARS-CoV-2 yaitu demam, *anosmia* (kehilangan kemampuan indra penciuman), diare, batuk, sakit kepala, sakit tenggorokan, pilek, lemas, mual dan muntah. Sebanyak 5 pasien telah melakukan vaksinasi CoViD-19 dan jenis vaksin yang digunakan adalah *sinovac*. Sampel diambil dari pasien yang memiliki komorbid (penyakit penyerta) dan pasien yang tidak memiliki komorbid. Jenis komorbid yang diderita pasien adalah diabetes melitus, hipertensi dan memiliki riwayat kolesterol tinggi.

Pemeriksaan RT-PCR dinyatakan positif apabila memiliki kriteria pemeriksaan dengan menggunakan 2 target gen yang berbeda. Salah satu target gen yang dipakai merupakan gen yang spesifik untuk SARS-CoV-2. Pada penelitian ini menggunakan 2 target gen yaitu target gen spesifik (*RNA-dependent RNA Polymerase* atau RdRP) dan gen E. Berdasarkan hasil pemeriksaan RT-PCR diperoleh data (tabel 9) sebagai berikut :

Tabel 9 Hasil pemeriksaan *Real-Time Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR) pada sampel SARS-CoV-2 di Kota Semarang

No	Inisial Sampel	<i>Ct value</i>		Kesimpulan
		RdRP	Gen E	
1	AS	20,03	18,16	Terkonfirmasi CoViD-19
2	LAS	19,29	15,27	Terkonfirmasi CoViD-19
3	LT	17,18	15,26	Terkonfirmasi CoViD-19
4	RW	21,68	17,95	Terkonfirmasi CoViD-19
5	AZ	19,24	16,73	Terkonfirmasi CoViD-19
6	TI	30,26	26,90	Terkonfirmasi CoViD-19
7	MAH	28,18	22,97	Terkonfirmasi CoViD-19
8	KI	25,86	22,10	Terkonfirmasi CoViD-19

Keterangan : Ct : *Cycle Threshold*, RdRp : *RNA-dependent RNA Polymerase*

Berdasarkan tabel 9, dari masing-masing sampel pada target gen RdRP dan gen E memiliki *Ct value* dibawah ≤ 36 sehingga semua sampel dinyatakan terkonfirmasi CoViD-19 dan dilanjutkan analisis *whole genome sequencing*.

2. Analisis Whole Genom Sekuensing

Pemanfaatan analisis *whole genom* pada penelitian adalah untuk mengetahui pengurutan materi genetik dari SARS-CoV-2, sehingga diperoleh bagian yang mengalami perubahan dan dapat mendeteksi adanya mutasi. Mutasi tersebut yang menginisiasi terbentuknya varian baru dari virus. Dengan demikian penegakan diagnosis penyakit infeksi dapat diketahui secara akurat dan cepat. Penyebab mutasi dikarenakan 4 faktor yaitu:

1. Kesalahan pada replikasi
2. Terputusnya ikatan oksigen-fosfat
3. Adanya substitusi pasangan basa sehingga merubah asam amino (*missense mutation* atau mutasi salah arti)
4. Perubahan jumlah basa tapi tidak merubah urutan asam amino (*nonsense mutation* atau mutasi tak bermakna).

Berdasarkan analisis mutasi pada sampel yang telah telah disejajarkan dengan genom virus referensi Wuhan (NC_045512), maka didapatkan *mapping* mutasi pada daerah ORF1ab yaitu pada NSP2, NSP3, NSP4, NSP6, NSP8, NSP9, NSP11, NSP13 (Tabel 10). Berdasarkan tabel 10 mutasi terjadi dengan adanya perubahan pada NSP2 yaitu urutan ke 1404 (C-T), 1613 (C-A) 1738 (G-T), 1820 (G-A), 1926 (C-T, C-G), 2574 (C-T) dan 2701 (C-A). Berikut mapping mutasi daerah NSP2, NSP3, NSP4, NSP6, NSP8, NSP9, NSP11, NSP13 (Tabel 10):

Tabel 10. Mapping NSP2, NSP3, NSP4, NSP6, NSP8, NSP 9, NSP11 dan NSP13 pada virus SARS-CoV-2 sampel Kota Semarang

NO	ID VIRUS	NSP2							NSP3														NSP4					NSP6					NSP8			NSP9			NSP11					NSP13								
		1 4	1 6	1 7	1 8	1 9	2 5	2 7	3 0	3 4	3 6	4 0	4 1	4 7	4 7	5 0	5 1	5 5	5 8	6 2	6 4	6 8	6 8	7 1	7 7	7 7	7 8	7 9	8 0	8 9	8 9	9 0	9 0	9 8	1 0	1 1	1 1	1 1	1 1	1 1	1 2	1 2	1 2	1 2	2 3	3 3	3 3	3 4	4 4	4 4	5 5	6 6
1	NC_045512	C	C	G	G	C	C	C	C	G	C	C	G	C	C	A	C	A	C	A	C	G	C	C	C	C	A	G	C	C	G	C	C	C	C	A	A	A	C	C	C	C	G	A	C	C	A	C	G	G	C	A
2	EPI_ISL_7168982	T	C	G	G	C	C	C	T	G	C	C	T	C	C	A	T	A	C	A	T	G	C	C	C	C	A	G	C	T	T	C	C	T	G	G	C	T	C	C	C	G	T	C	C	A	T	G	A	T	A	
3	EPI_ISL_7168960	T	C	G	G	C	C	C	T	G	C	C	T	T	C	A	C	A	T	A	T	G	C	T	C	C	A	G	C	T	T	C	C	T	G	G	T	C	C	C	T	G	T	C	C	G	T	G	A	T	A	
4	EPI_ISL_7168983	T	C	G	G	C	C	A	T	G	C	C	T	T	C	A	C	A	C	A	T	G	C	T	C	C	C	G	G	C	T	T	T	C	T	G	G	T	C	C	C	C	G	T	C	C	A	T	A	A	T	A
5	EPI_ISL_7168977	T	C	G	G	G	C	C	T	G	C	C	T	C	C	A	C	A	C	A	T	G	C	C	C	C	A	G	C	T	T	C	T	T	G	G	T	C	C	T	C	G	A	C	C	A	T	G	A	C	A	
6	EPI_ISL_7168981	C	A	G	G	C	C	C	T	G	C	C	G	C	C	C	T	G	C	G	C	G	T	C	C	T	C	A	G	C	C	G	C	T	C	A	A	C	T	C	C	C	G	T	T	C	A	T	G	A	T	A
7	EPI_ISL_7168965	T	C	T	A	T	C	C	T	G	C	C	T	T	C	A	C	A	C	A	T	G	C	T	C	T	C	A	A	C	T	T	C	C	T	G	G	T	C	C	C	C	G	T	C	C	A	T	G	A	T	A
8	EPI_ISL_7168978	T	C	G	G	C	C	C	T	G	T	C	T	T	C	A	C	A	C	A	T	T	C	T	C	C	C	A	G	C	T	T	C	C	T	G	G	T	C	T	C	C	G	T	C	C	A	T	G	A	T	A
9	EPI_ISL_7168961	T	C	G	G	C	T	C	T	A	C	A	T	T	T	A	C	A	C	A	T	G	C	T	T	C	T	A	G	T	T	T	C	C	T	G	G	T	C	C	C	C	A	C	C	T	A	T	G	A	T	G

Keterangan : NSP : Non Struktural Region

Mutasi pada NSP2 mempengaruhi adanya perbedaan virulensi dan patogenesis virus. Mutasi virus SARS-CoV-2 juga ditemukan pada NSP3. NSP3 atau *papain like protease* berperan dalam pengurai dan pemotong yang berfungsi melepaskan protein virus. NSP3 bertanggungjawab atas pelepasan NSP1 dan NSP2 pada wilayah N-terminal pp1a dan pp1ab. Sel normal akan menandai protein untuk dimusnakan apabila terjadi mutasi, tetapi NSP3 akan menghapus sinyal penanda sehingga kemampuan sel melawan virus berkurang. Mutasi pada NSP3 menunjukkan mekanisme potensial yang dapat membedakan CoViD-19 dengan SARS yang lain [Alisher, 2022].

Berdasarkan tabel 10, mutasi juga terjadi dengan adanya perubahan pada NSP3 yaitu urutan ke 3037 (C-T), 3482 (G-A), 3602 (C-T), 4095 (C-A), 4181 (G-T), 4752 (C-T), 4780 (C-T), 5021 (A-C), 5184 (C-T), 5584 (A-G), 5832 (C-T), 6233(A-G), 6402 (C-T), 6865 (G-T), 6883 (C-T), 7124 (C-T), 7703 (C-T), 7735 (C-T), 7819 (C-T), 7917 (A-G), dan 8015 (G-A). NSP4, NSP6, NSP8, dan NSP9 juga memerankan penting mutasi pada virus SARS-CoV-2. NSP4 dan NSP6 adalah protein yang memproduksi gelembung berisi cairan di dalam sel yang terinfeksi. NSP8 merupakan protein penyalin RNA sehingga virus dapat diperbanyak. NSP9 berfungsi untuk memediasi replikasi virus.

Mutasi selanjutnya terjadi dengan adanya perubahan pada NSP4 yaitu pada urutan 8917 (C-T), 8986 (C-T), 9053 (G-T), 9073 (C-T), 9891 (C-T), dan 10029 (C-T). NSP6 yaitu pada urutan 11201 (A-G), 11332 (A-G), 11418 (A-C, A-T), 11514 (C-T), dan 11758 (C-T). NSP8 yaitu pada urutan 12153 (C-T), 12295 (C-T), dan 12566 (G-A). NSP9 yaitu urutan ke 12934 (A-T) dan 13019 (C-T).

Urutan selanjutnya yang terjadi mutasi adalah pada NSP11 dan NSP13. Berdasarkan tabel 10, mutasi terjadi dengan adanya perubahan pada NSP11 yaitu pada urutan 13554 (C-T), 13566 (A-G), 14408 (C-T), 14999 (G-A) dan 15451 (G-A). NSP13 yaitu pada urutan 16466 (C-T) dan 16566 (A-G). Perubahan pada NSP11 dapat meningkatkan transmisi dan evasi pada sistem imun. NSP13 berperan dalam menguraikan RNA sehingga nukleotida dapat dibaca dan diekspresikan.

Mutasi ditemukan juga pada NSP14, NSP16, GEN S, ORF3a, GEN M, ORF7ab, GEN N dan ORF 10. Berdasarkan tabel 11, mutasi terjadi dengan adanya perubahan pada NSP14 yaitu pada urutan 18175 (C-T), 18255 (G-T), 18377 (C-T), 18412 (G-T), 19220 (C-T) dan 19387 (A-G). NSP16-ORF1ab yaitu pada urutan 21304 (C-A) dan 21305 (G-A). NSP14 merupakan protein yang berperan sebagai pengoreksi salinan genom virus yang salah diekspresikan.

Mutasi tidak terjadi pada protein non-struktural, melainkan juga pada Gen S. Gen ini mengkode protein pada permukaan virus yaitu protein *Spike* yang berperan penting pada inefektivitas virus SARS-CoV-2. Protein *Spike* berada pada permukaan virus, sehingga menjadikan protein ini berpengaruh terhadap imun respon inang dan merupakan target baik untuk strategi terapi dan pengembangan vaksin. Mutasi pada protein S merupakan mutasi umum dan banyak terjadi, tetapi dapat mempengaruhi efektivitas dan deteksi virus. Berdasarkan tabel 11, mutasi terjadi dengan adanya perubahan pada gen S yaitu pada urutan 21618 (C-G), 22227 (C-T), 22917 (T-G), 22995 (C-A), 23202 (C-T), 23403 (A-G), 23604 (C-

G), 23896 (C-T), 24386 (G-A), 24410 (G-A), 24628 (G-T), 24781(G-T),
25047(C-T), 25223 (A-G) dan 25352 (G-T).

Berdasarkan tabel 11, mutasi terjadi dengan adanya perubahan pada ORF3a yaitu pada urutan 25469 (C-T), 25624 (C-T), 25702 (C-T) dan 36130 (T-C). Gen M yaitu urutan 27730 (G-T), 26767 (U-C) dan 27065 (G-A). ORF7a-b yaitu pada urutan 27427 (C-A), 27638 (T-C), 27752 (C-T) dan 27874 (C-T). Genom RNA merupakan untai positif dari *Coronavirus* yang memiliki panjang sekitar 27 hingga 32 kb yang mengandung sekitar 2/3 bagian mencakup gen Orf1ab virus dan mengekspresikan poliprotein terbesar dan paling kompleks dari semua virus RNA. *Open Reading Frame* berfungsi sebagai enzim replikasi, transkriptase, polimerase, dan diterjemahkan ke dalam poliprotein ORF1a (~486 kDa, produk utama) dan ORF1b (~306KDa) dalam sel inang [38].

Mutasi juga terjadi pada ORF3a, Gen M, ORF7a-b. Protein ORF3a dapat memicu peradangan pada infeksi SARS-CoV-2. Gen M merupakan protein yang berperan dalam perakitan virus. Protein M memiliki kandungan asam amino yang dapat mempertahankan kesamaan struktural dari virus. Protein M banyak ditemukan pada partikel virion yang memberikan bentuk pada selubung virus dan mengikat nukleokapsid. Protein ORF7 dapat memicu bunuh diri pada sel yang terinfeksi.

Gen N, dan ORF10 juga terdapat perubahan pada basa nitrogennya. Gen N berperan dalam pembentukan kompleks dengan genom virus, bekerjasama dengan protein M selama perakitan virus dan meningkatkan efisiensi transkripsi virus. Pada tabel 11, mutasi terjadi dengan adanya perubahan pada Gen M yaitu pada urutan 28461 (A-G), 28861 (G-T), 28916 (G-T), 29402 (G-T), 29421 (C-T) dan 29555 (C-T). ORF 10 pada urutan 29670 (C-T) dan 29742 (G-T).

Adanya mutasi pada virus SARS-CoV-2 menginisiasi terjadinya perubahan pada basa nitrogen. Berikut perubahan basa nitrogen pada virus SARS-CoV-2 (Tabel 12):

Tabel 12. Perubahan basa nitrogen pada virus SARS-CoV-2 pada sampel penelitian Kota Semarang

No	ID Virus	Perubahan basa nitrogen											
		A-C	A-G	A-T	C-A	C-G	C-T	G-A	G-C	G-T	T-A	T-C	T-G
1	EPI_ISL_7160982	0	4	1	0	2	14	1	0	8	0	2	1
2	EPI_ISL_7160960	0	5	1	2	2	19	3	0	8	0	2	1
3	EPI_ISL_7160983	0	5	1	2	2	16	3	0	8	0	3	1
4	EPI_ISL_7160977	0	4	0	2	2	15	3	0	9	0	2	1
5	EPI_ISL_7160901	1	4	1	2	2	16	3	0	5	0	3	1
6	EPI_ISL_7160965	0	5	1	2	2	17	4	0	11	0	2	1
7	EPI_ISL_7160978	0	4	1	1	2	16	3	0	9	0	2	1
8	EPI_ISL_7160961	0	7	0	2	2	22	5	0	8	0	4	1

Berdasarkan tabel 12, perubahan basa nitrogen yang dominan terjadi perubahan adalah basa nitrogen C ke T. Perubahan basa nitrogen ini mengakibatkan virus SARS-CoV-2 menjadi karakteristik penularan baru pada manusia. Perubahan basa nitrogen yang sedikit terjadi yaitu G ke T, G ke A, T ke C, A ke G, C ke A, dan T ke G. Basa nitrogen yang tidak mengalami perubahan adalah A ke C, A ke T, G ke C dan T ke A.

Perubahan jumlah basa nitrogen berpengaruh pada pembacaan kode genetik secara triplet sehingga mengakibatkan asam amino yang terbentuk mengalami perubahan. Perubahan asam amino yang terjadi pada sampel penelitian dapat dilihat pada tabel 13.

Tabel 13. Perubahan asam amino pada NSP2, NSP3, NSP4, NSP6, NSP8, NSP12, NSP13, NSP14 dan NSP16 pada sampel penelitian Kota Semarang

ID VIRUS	NSP2					NSP3											NSP4			NSP6			NSP8			NSP12			NSP 13	NSP14				NSP 16																								
	2000	2700	3300	3700	5000	2500	2900	4500	4800	6700	7200	8200	10000	11000	11200	11400	11600	11800	12000	12200	12400	12600	12800	13000	13200	13400	13600	13800	14000	14200	14400	14600	14800	15000	15200	15400	15600	15800	16000	16200	16400	16600	16800	17000	17200	17400	17600	17800	18000	18200	18400	18600	18800	19000	19200	19400	19600	19800
NC_045512	P	L	G	T	T	G	H	T	A	T	M	P	S	I	P	K	P	A	V	A	T	T	V	T	A	P	V	P	S	G	P	P	M	T	V	A	S	R																				
EPI_ISL_7160982	P	L	G	T	T	G	H	T	S	T	M	L	S	I	L	K	P	A	L	A	I	A	A	I	A	P	V	L	S	S	L	S	M	T	V	V	S	R																				
EPI_ISL_7160960	P	L	G	T	T	G	H	T	S	I	M	P	F	I	L	K	S	A	L	A	I	A	V	T	A	P	V	L	S	S	L	P	M	I	V	V	S	N																				
EPI_ISL_7160983	P	L	G	T	T	G	H	T	S	I	M	P	S	I	L	K	S	A	L	A	I	A	V	T	A	P	V	L	N	S	L	P	M	T	V	V	S	R																				
EPI_ISL_7160977	P	L	G	T	T	G	H	T	S	T	M	P	S	I	L	K	P	A	L	V	I	A	V	T	V	P	V	L	S	S	P	P	M	T	V	V	S	R																				
EPI_ISL_7160901	L	I	G	T	T	G	H	T	A	T	L	P	S	V	P	K	P	A	V	V	T	T	A	I	A	P	V	L	S	S	L	P	M	T	F	A	S	R																				
EPI_ISL_7160965	P	L	S	I	T	G	H	T	S	I	M	P	S	I	L	K	S	T	L	A	I	A	V	T	A	P	V	P	S	S	L	P	I	T	V	V	S	R																				
EPI_ISL_7160978	P	L	G	T	T	G	Y	T	S	I	M	P	S	I	L	N	S	A	L	A	I	A	V	T	A	P	V	L	S	S	L	P	M	T	V	V	S	R																				
EPI_ISL_7160961	P	L	G	T	I	R	H	N	S	I	M	P	S	I	L	K	S	A	L	A	I	A	V	T	A	L	I	P	S	S	L	P	M	T	V	V	G	R																				

Keterangan : NSP : Non Struktural Region

Perubahan asam amino yang terjadi pada NSP 2 adalah P200L, L270I, G339S, T374I dan T590I. Pada NSP3 terjadi mutasi G255R, H295Y, T459N, A488S, T678I, M768L, P822L, S1038F, I117V, P1228L, K1382N, P1469S dan A1766T. Pada NSP4 terjadi mutasi V167L, A466V dan T492I. Perubahan asam amino yang terjadi pada NSP6 adalah T77A, V149A dan T181I. Pada NSP8 terjadi mutasi A21V, P36L dan V159I. Pada NSP12 terjadi mutasi P323LM, S520N dan G671S. Pada NSP13 terjadi mutasi P77L. Pada NSP14 terjadi mutasi P46S, M72I, T113I, V125F, A394V dan S450G. Pada NSP16 terjadi mutasi R216N.

Perubahan asam amino yang terjadi pada protein *Spike* yang menjadi dominan adalah perubahan pada D614G dan P618R. Perubahan lain yang terjadi adalah T19R, E156G, F157del, R158del, A222V, L452R, T478K, T547I, A942T, D950N, K1073N, P1162L, I1221V dan V1264L. Perubahan asam amino yang terjadi pada gen M adalah I82T dan V70F, gen N adalah D63G, R203M, G215C, D377Y dan D383P. Pada ORF3 terjadi mutasi S26L, H78Y dan P104S. Pada NS7a terjadi mutasi L12I, V82A dan T120I. pada NS7b terjadi mutasi T40I.

Tabel 14. Perubahan asam amino pada gen *Spike*, GEN M, GEN N, ORF3 dan NS7ab pada sampel penelitian Kota Semarang

ID VIRUS	SPIKE															GEN M		GEN N					ORF3			NS7ab				
	19	156	157	158	222	452	478	547	942	614	618	950	1073	1126	1126	1126	82	70	63	203	215	377	383	266	78	104	12	82	120	40
NC_045512	T	E	F	R	A	L	T	T	A	D	P	D	K	P	I	V	I	V	D	R	G	D	P	S	H	P	L	V	T	T
EPI_ISL_7160982	R	E	F	R	A	L	T	T	A	G	R	D	K	P	I	V	T	F	G	M	G	Y	P	L	Y	P	L	V	T	T
EPI_ISL_7160960	R	G	D	D	A	R	K	T	A	G	R	N	K	L	I	L	T	V	G	M	C	Y	L	L	H	P	L	A	I	I
EPI_ISL_7160983	R	G	D	D	A	R	K	T	A	G	R	N	K	P	I	L	T	V	G	M	C	Y	P	L	H	P	L	A	I	I
EPI_ISL_7160977	T	E	F	R	A	L	T	T	A	G	R	N	K	P	I	L	T	V	G	R	G	D	P	L	H	P	L	V	T	I
EPI_ISL_7160901	R	G	D	D	V	R	K	T	T	G	R	N	K	P	I	V	T	V	G	M	G	Y	P	L	H	S	L	A	I	T
EPI_ISL_7160965	R	G	D	D	A	R	K	T	A	G	R	N	N	P	I	L	T	V	G	M	C	Y	P	L	H	P	I	A	I	I
EPI_ISL_7160978	R	G	D	D	A	R	K	T	A	G	R	N	K	P	I	L	T	V	G	M	C	Y	P	L	H	P	L	A	I	I
EPI_ISL_7160961	R	G	D	D	A	R	K	I	A	G	R	N	K	P	V	L	T	V	G	M	C	Y	P	L	H	P	L	A	I	I

Keterangan : NSP : *Non Struktural Region*, ORF : *Open Reading Frame*

3. Pola mutasi sekuen virus

Pola mutasi dianalisis menggunakan *Single Nucleotida Polymorphism (SNP)* dilakukan menggunakan bank data pada link (<https://usegalaxy.org/welcome/new>) didapatkan hasil sebagai berikut (Tabel 15):

Tabel 15. Single Nucleotida Polymorphism (SNP) virus SARS-CoV-2 pada sampel penelitian Kota Semarang

NO	ID VIRUS	DELESI	SNP	MISSENSE	SILENT
1	EPI_ISL_7160982	1	31	56	12
2	EPI_ISL_7160960	2	42	68	18
3	EPI_ISL_7160983	2	40	62	21
4	EPI_ISL_7160977	0	32	49	16
5	EPI_ISL_7160901	2	37	53	21
6	EPI_ISL_7160965	2	44	72	22
7	EPI_ISL_7160978	2	38	64	16
8	EPI_ISL_7160961	2	51	81	34

Keterangan : SNP : *Single Nucleotida Polymorphism*

Berdasarkan tabel 15, didapatkan jenis dan mutasi pada sampel. Jenis mutasi terdiri dari *delesi*, *SNP*, *missense* dan *silent*. Mutasi diinisiasi oleh perubahan materi genetik dan bersifat mewarisi keturunannya. Mutasi terjadi pada gen dan kromosom yang membentuk sel. Virus bermutasi bertujuan untuk beradaptasi dengan lingkungan baru.

4. Varian Virus SARS-CoV-2

Varian virus SARS-CoV-2 dianalisis menggunakan Pangolin versi 3.3.14 menggunakan bank data pada link (<https://usegalaxy.org/welcome/new>] didapatkan hasil sebagai berikut (tabel 16) :

Tabel 16. Varian virus SARS-CoV-2 pada sampel penelitian Kota Semarang

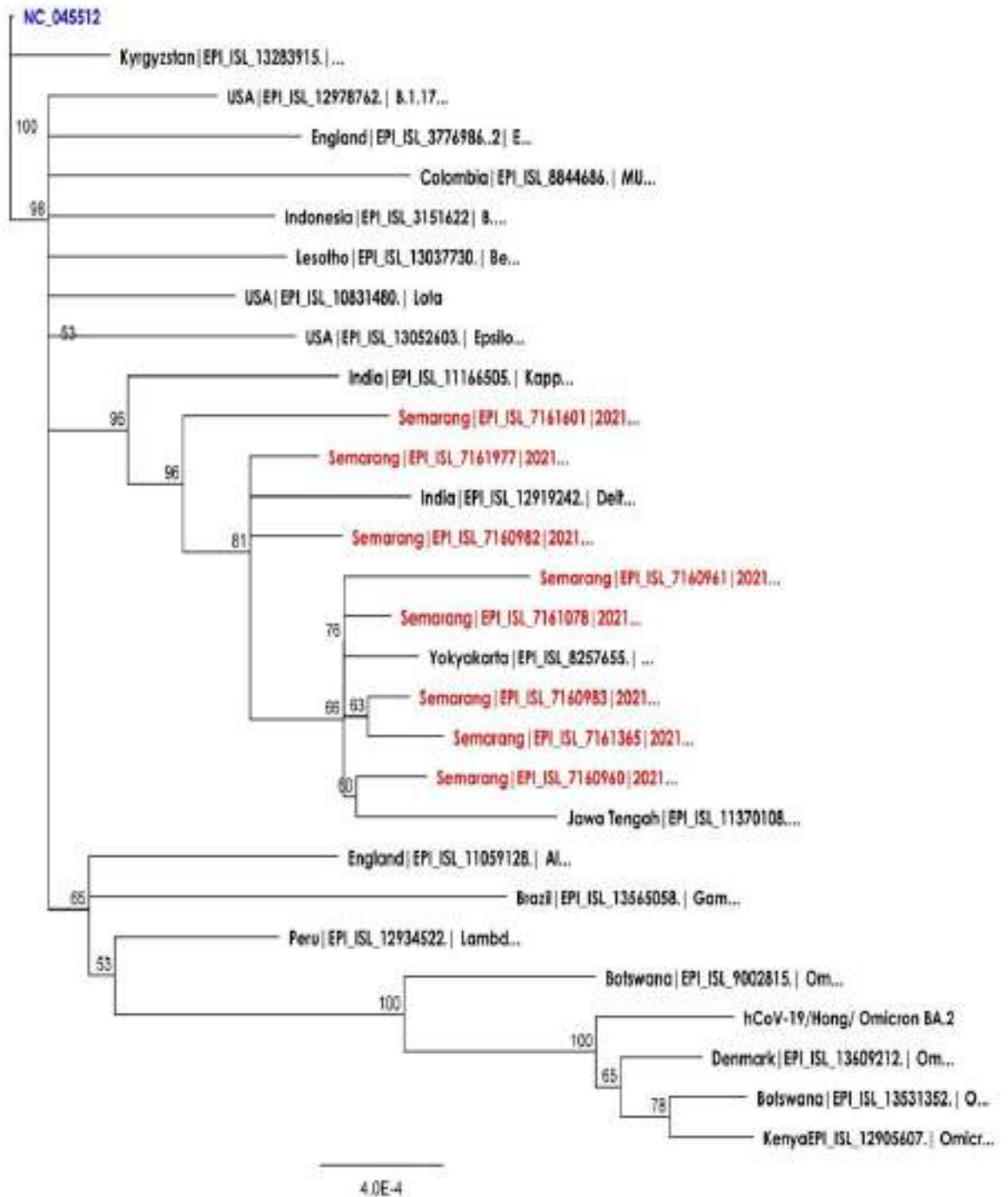
NO	ID VIRUS	Varian	Lineage
1	EPI_ISL_7160982	<i>Delta</i> (B.1.617.2]	AY.92
2	EPI_ISL_7160960	<i>Delta</i> (B.1.617.2]	AY.23
3	EPI_ISL_7160983	<i>Delta</i> (B.1.617.2]	AY.23
4	EPI_ISL_7160977	<i>Delta</i> (B.1.617.2]	AY.92
5	EPI_ISL_7160901	<i>Delta</i> (B.1.617.2]	AY.24
6	EPI_ISL_7160965	<i>Delta</i> (B.1.617.2]	AY.23
7	EPI_ISL_7160978	<i>Delta</i> (B.1.617.2]	AY.23
8	EPI_ISL_7160961	<i>Delta</i> (B.1.617.2]	AY.23

Dari seluruh sampel yang dilakukan analisis merupakan varian *Delta* (B.1.617.2). Virus yang merupakan lineage AY.92 (turunan Eropa) adalah ID virus EPI_ISL_7160982 dan EPI_ISL_7160977. Virus yang merupakan lineage AY.23 (dominasi Singapura dan Indonesia) adalah ID virus EPI_ISL_7160960, EPI_ISL_7160983, EPI_ISL_7160965, EPI_ISL_7160978, dan EPI_ISL_7160961. Virus yang merupakan lineage AY.24 (Indonesia) adalah ID virus EPI_ISL_7160901.

5. Filogenetik

Analisis filogenetik dilakukan dengan menggunakan kumpulan data dari 28 genom virus SARS-CoV-2 di Indonesia dan dari beberapa negara lainnya bersumber dari GISAID (www.gisaid.org). Sekuen yang digunakan adalah varian virus *Alpha* (B.1.1.7), *Beta* (B.1.351), *Gamma* (P.1), *Delta* (B.1.617.2), *Kappa* (B.1.617.2), *Epsilon* (B.1.427), *Eta* (B.1.525], *Lota* (B.1.526), *Lambda* (C.37), *Mu* (B.1.621), *Omicron* (BA.1), B.1.177, 19B dan B.1.466.2. Pohon filogenetik dibangun menggunakan aplikasi *genious prime* dengan metode *Neighbour Joining* atau *UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean)*. Nilai *bootstrap* pada penelitian ini menggunakan 1000 replikasi. Pohon filogenetik dibangun menggunakan panjang nukleotida 29.903, dengan referensi genom

dengan beracuan pada sekuen virus SARS-CoV-2 Wuhan (NC_045512.2). Filogenetik bertujuan untuk menentukan kelompok (*Clade*) varian dari sampel penelitian. Berdasarkan pohon filogenetik didapatkan sampel penelitian memiliki kekerabatan dari varian di Indonesia. Pohon filogenetik tersebut dapat dilihat pada gambar 9.



Gambar 9. Pohon Filogenetik Virus SARS-CoV-2 Strain Semarang direkonstruksi menggunakan metode *Neighbour-Joining* dalam *software* Genious Prime (warna merah : sampel, warna biru : genom referensi Wuhan dari NCBI)

Hasil rekonstruksi pohon filogenetik pada gambar 9 menunjukkan bahwa sampel virus SARS-CoV-2 Strain Semarang memiliki sifat yang sama dengan referensi wuhan dan membentuk 3 *Clade*. *Clade* pertama membentuk *Clade* tersendiri yang merupakan mutasi dari varian virus India. Sampel termasuk dalam *Clade* pertama adalah ID EPI_ISL_7160901. *Clade* kedua sampel Kota Semarang dengan ID EPI_ISL_7160977 dan ID EPI_ISL_7160982 berdekatan dengan varian virus dari India. *Clade* ketiga dengan ID sampel ID EPI_ISL_7160961, ID EPI_ISL_7160978 berdekatan dengan varian virus *Delta* dari Jogjakarta serta sampel ID EPI_ISL_7160983, ID EPI_ISL_7160965 dan ID EPI_ISL_7160960 merupakan *daughter clades* dengan sampel Semarang EPI_ISL_7160960, berdekatan dengan varian virus *Delta* dari Jawa Tengah.

Clade yang terbentuk menunjukkan kelompok monofiletik. Kelompok ini memiliki taksa yang diturunkan oleh nenek moyang. kekerabatan antara *Clade* yang mirip dari Jawa Tengah dan Semarang termasuk *sister taxa*. *Sister taxa* merupakan spesies yang memiliki sifat monofiletik dan berada dalam satu taksa yang memiliki kekerabatan yang dekat dengan yang lainnya dalam satu pohon filogenetik.

Analisis *bootstrap* (1000 replikasi) menggunakan model *Kimura-nei* dalam aplikasi Genious Prime. Analisis ini bertujuan untuk menilai atau menguji validitas konstruksi data set pada pohon. Nilai *bootstrap* ditunjukkan pada angka yang terletak pada cabang-cabang pohon filogenetik. Pada sampel penelitian ini, sampel menunjukkan nilai *bootstrap* lebih dari 50%. Hal ini dapat diartikan semakin panjang cabang maka terdapat perubahan sekuen terjadi. Meskipun

demikian, nilai *bootstrap* yang rendah tidak menjadi tolak ukur dari pohon filogenetik (50).

B. Pembahasan

Sampel penelitian berjumlah 8 pasien yang diambil dari pasien yang memiliki gejala infeksi SARS-CoV-2. Diagnosis infeksi SARS-CoV-2 dianggap penting untuk melihat perkembangan klinis dari pasien. Sampel berasal dari isolat virus koleksi RSUD K.M.R.T Wongsonegoro Kota Semarang selama kurun waktu Agustus 2021. Sampel diambil dari swab *nasofaring* dan *orofaring* kemudian dimasukan ke dalam media tranport virus. Sampel yang memenuhi kriteria lalu dilakukan analisis *Whole Genom Sequencing* dan dianalisis di Laboratorium CoViD-19 Fakultas Kedokteran, Kesehatan Masyarakat, dan Keperawatan, Universitas Gajah Mada Yogyakarta. Sampel yang digunakan dalam penelitian berupa cairan alantois (berupa dahak/lender/cairan dari nasofaring atau orofaring. Penentuan diagnosis infeksi menggunakan *gold standar* yaitu metode *Real-Time Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR).

Metode RT-PCR efektif dan mampu mendeteksi virus SARS-CoV-2 secara molekuler dan spesifik terhadap virus sehingga diagnosis dapat ditegakkan secara tepat [36]. RT-PCR bekerja secara *invitro* dengan menghitung jumlah *template* DNA menggunakan enzim *reverse transcriptase*. Teknik pengumpulan data dilakukan selama proses PCR terjadi (*real-time*). Hasil analisis data diperoleh secara kuantitatif yaitu dengan *Ct value* (*Cycle threshold*) yang dihasilkan oleh *reference* gen dan gen target [37]. Berdasarkan hasil penelitian yang telah

dilakukan terhadap 8 sampel dari pasien terduga infeksi virus SARS-CoV-2, seluruh sampel dinyatakan positif virus SARS-CoV-2.

Virus SARS-CoV-2 merupakan virus RNA yang memiliki laju mutasi yang tinggi. Mutasi yang telah ditemukan pada beberapa studi didapatkan pada NSP, protein *Spike*, gen M, N dan RdRP. Peranan NSP dalam patogenesis virus dan target yang dapat digunakan untuk penargetan obat antivirus dan sintesis vaksin [38]. Berdasarkan *mapping* pada NSP2-ORF1ab, terdapat mutasi pada sampel dengan ID EPI_ISL_7160982, EPI_ISL_7160960, EPI_ISL_7160983, EPI_ISL_7160977, EPI_ISL_7160965, EPI_ISL_7160978 dan EPI_ISL_7160961. Mutasi pada NSP2-ORF1ab mempengaruhi adanya perbedaan virulensi dan patogenesis virus. Penelitian oleh Banerjee (2020) menyatakan bahwa sebanyak 44,2% sampel yang dilakukan penelitian merupakan mutasi yang terjadi pada NSP2-ORF1ab. NSP2 bertanggung jawab pada memodulasi jalur pensinyalan kelangsungan hidup virus [39].

Berdasarkan *mapping* pada NSP3, NSP4, NSP6 NSP8, NSP9, NSP13 dan NSP14 mutasi pada sampel didominasi dengan perubahan transisi atau perubahan basa nukleotida C ke basa nukleotida T (Tabel 11). Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya oleh Abdulaev (2020) menyatakan bahwa perubahan basa nukleotida C ke basa nukleotida T dominan menyebabkan laju transisi yang tinggi sehingga virus SARS-CoV-2 menjadi karakteristik penularan baru pada manusia. Perubahan basa nukleotida C ke basa nukleotida T menjadi dominan sebanyak 42% dibandingkan dengan basa nukleotida T ke basa nukleotida C sebanyak 8% [40].

Berdasarkan *mapping* pada NSP sampel yang mengalami perubahan transversi dari basa nukleotida G ke T pada NSP2 yaitu sampel EPI_ISL_7160965, NSP2 dan NSP3 yaitu sampel EPI_ISL_7160982, EPI_ISL_7160960, EPI_ISL_716096583, EPI_ISL_7160977, EPI_ISL_7160965, EPI_ISL_7160978, EPI_ISL_7160961. Hal ini sejalan dengan penelitian oleh Alisher (2020) sebanyak 15,63% sampel yang diteliti memiliki perubahan transversi (perubahan basa nukleotida (C atau G) ke basa nukleotida (T atau A). Perubahan ini memiliki peran utama dalam evolusi dan menunjukkan bahwa deaminasi sitosin menjadi penyebab mutasi [Radhakrisna, 2021]. Hasil penelitian Abdulaev (2022) menyatakan bahwa tingkat transversi dari G-T (16%) menjadi lima kali lipat dari T-G (3%). Untaian RNA dengan jumlah C dan G yang tinggi berkontribusi membentuk pintu untaian yang stabil dibandingkan dengan jumlah basa T dan A yang tinggi. Selain itu, energi yang dibutuhkan dalam reproduksi sel sedikit. Hal ini yang menyebabkan bahwa SARS-CoV-2 lebih baik dalam perkembangan dalam sel inang daripada virus SARS lain [40].

Perubahan basa nukleotida yang terjadi pada protein *Spike* didominasi dengan perubahan A23403G yang terjadi pada ke delapan sampel. Penelitian oleh Alisher (2022) yang memiliki perubahan basa nukleotida A23403G pada seluruh sampel yaitu sebanyak 39 sampel penelitian. Perubahan basa nukleotida ini yang menyebabkan perubahan asam amino D614G. Penelitian lain oleh Sayantan (2020) sebanyak 6% dari total sampel memiliki perubahan A23403G. Menurut Sayantan perubahan ini memiliki peran penting dalam hal stabilitas protein dan karakteristik kunci lainnya. Perubahan lain pada protein *Spike* adalah C23604G

yang juga terjadi mutasi pada ke delapan sampel. Hal ini juga sejalan oleh penelitian Abdulaev (2022) yang memiliki perubahan basa nukleotida pada subunit 2. Perubahan basa nukleotida ini yang menyebabkan perubahan asam amino P681R [40].

Adanya perubahan basa nukleotida akan berpengaruh pada perubahan asam amino. Tahapan mutasi berkontribusi pada perubahan dalam wilayah protein nonstruktural seperti NSP3, NSP4 dan NSP6 yang memfasilitasi replikasi genom dan patogenitas virus. Pada penelitian ini perubahan asam amino yang mendominasi di wilayah protein NSP3 terjadi pada urutan A488S dan P1228L yaitu sampel EPI_ISL_7160982, EPI_ISL_7160960, EPI_ISL_716096583, EPI_ISL_7160977, EPI_ISL_7160965, EPI_ISL_7160978, EPI_ISL_7160961 (Tabel 13). Hal ini seperti penelitian oleh Haniyeh (2022) mengalami perubahan asam amino A488S (54,88%) dan P1228L (53,86%) pada NSP3. Mutasi A488S mengubah asam amino alanin menjadi serin. Diketahui bahwa serin merupakan salah satu asam amino pembentuk antibodi dalam sel. Mutasi A488S dapat meningkatkan stabilitas pada NSP3. Hal ini menjadikan varian *Delta* memiliki penyebaran yang sangat luas [41]. Mutasi P1228L mengubah asam amino prolin menjadi leusin. Leusin ini dapat mengurangi stabilitas NSP3 pada sitoplasma sel. Sedangkan prolin merupakan asam amino non esensial yang diproduksi oleh asam glutamat yang berguna untuk mempercepat penyembuhan [42].

Analisis perubahan pada NSP4 teridentifikasi mutasi V167L dan T492I (Tabel 13]. Penelitian oleh Haniyeh (2022) juga mengalami mutasi V167L (52,81%) dan T492I (54,84%). Mutasi V167L mengubah asam amino valin

menjadi leusin yang menjadikan mutasi ini peningkatan keganasan pada sel *host*. Menurut Xiang mutasi V167L ini yang mendorong pandemi gelombang ke dua di Singapura, Malaysia dan Indonesia. Mutasi T492I dapat mengubah asam amino treonin menjadi isoleusin yang menyebabkan tingkat hidrofobisitas meningkat sehingga dapat memberikan penghindaran kekebalan (43).

Pada penelitian ini, mutasi T77A teridentifikasi pada NSP6 (Tabel 13), yang mengubah asam amino treonin menjadi alanin. Hasil penelitian oleh Hanieyah (2022) sebanyak 69,85% mutasi T77A. Mutasi pada NSP6 menguntungkan pada invektivitas pada virus, karena NSP6 memiliki ATP133A3 yang dapat memompa ATP untuk mengangkat kation melintasi membran dan meningkatkan stabilitas pada NSP6 (41).

Wilayah yang paling banyak mengalami mutasi asam amino adalah protein *Spike*. Protein ini mengekspresikan *Spike* glikoprotein yang memainkan peran penting dalam patogenesis dengan mengikat sel inang melalui RBD-nya [41]. Mutasi yang terjadi adalah T19R, L452R, T478K, D614G, P618R, D950N. Mutasi ini berkontribusi pada mutasi yang terjadi varian *Delta*.

Berdasarkan analisis varian ke 8 sampel yang diperiksa merupakan varian *Delta* (B.1.617.2). Varian ini pertama kali muncul April 2021 sebagai gelombang ke-4 epidemi COVID-19 di India. Varian ini memiliki 6 mutasi pada protein S, namun tidak termasuk mutasi pada posisi 501 seperti pada VOC yang lain [44]. Varian *Delta* terjadi penurunan netralisasi virus oleh serum dari orang-orang yang telah terinfeksi varian B.1.17 ataupun varian P.1. [45]. Netralisasi oleh antibodi post vaksin juga menurun terutama pada pasien-pasien berusia lanjut [44] Selain

itu, juga dilaporkan penurunan sensitivitas terhadap plasma konvalesens pada varian ini [46]. Varian ini juga disebutkan memiliki tingkat penyebaran yang lebih tinggi dibanding varian *Alfa*.

Varian *Delta* menyebar ke daerah yang memiliki cakupan vaksinasi COVID-19 yang cukup tinggi yaitu sebesar 64-67% dan mendominasi infeksi COVID-19 di negara tersebut, menggantikan varian *Alfa*, dengan tingkat hospitalisasi yang tinggi [47, 48]. Varian ini menyebar cepat melalui sekolah-sekolah dan sebagian besar infeksi terjadi pada anak usia 7-11 tahun, dan pada orang-orang yang menolak vaksinasi walaupun mereka layak untuk divaksin [48]. Varian *Delta* telah menjadi dominan penyebaran di beberapa daerah mulai pertengahan tahun 2021. Lineage AY. Didominasi turunan dari varian *Delta* (B.1.167.2). Lineage AY menjadi fokus utama di dunia, dengan jumlah penyebaran dari Eropa dan Afrika Selatan.

Berdasarkan pohon filogenetik pada gambar 9 varian virus SARS-CoV-2 Strain Semarang terdiri atas 3 *Clade*. 3 *Clade*. *Clade* pertama terdiri dari sampel yang memiliki ID EPI_ISL_7160901 berdekatan dengan varian virus dari India. *Clade* kedua sampel Kota Semarang dengan ID EPI_ISL_7160977ID EPI_ISL_7160982 berdekatan dengan varian virus dari India. Diketahui dengan menggunakan penyelidikan epidemiologi yang didapatkan dari Dinas Kesehatan Kota Semarang, sampel EPI_ISL_7160982 dan EPI_ISL_7160977 memiliki riwayat perjalanan keluar kota yaitu Jakarta dan Surabaya. Dalam hal ini tidak diketahui bahwa penularan tersebut terjadi. *Clade* ketiga dengan ID sampel ID EPI_ISL_7160961 dan ID EPI_ISL_7160978, berdekatan dengan varian virus

Delta dari Jogjakarta dan Jawa Tengah, serta sampel ID EPI_ISL_7160983 dan ID EPI_ISL_7160965 merupakan *daughter clades* dengan sampel Semarang EPI_ISL_7160960, berdekatan dengan varian virus *Delta* dari Jawa Tengah. Menurut penyelidikan epidemiologi sampel EPI_ISL_7160978 pernah menjamu tamu keluarga dari Jogjakarta

Penelitian ini dibatasi dengan jumlah sampel yang relatif sedikit. Terlepas dari keterbatasan, data yang diperoleh sangat berharga untuk memahami penyebaran dan fitur evolusi SARS-CoV-2. Diperlukan penelitian lebih lanjut yang bertujuan untuk memantau distribusi varian SARS-CoV-2 dan keragaman genetik di wilayah Jawa Tengah dan seluruh Indonesia.

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

A. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian diperoleh simpulan:

1. Pola mutasi sekuen genom virus SARS-CoV-2 di Kota Semarang terjadi pada protein *Spike*, NSP3 dan NSP2.
2. Varian virus SARS-CoV-2 yang menginfeksi pasien Covid-19 di Kota Semarang adalah *Delta* (B.1.617.2) pada kurun waktu Agustus 2021.
3. Berdasarkan pohon filogenetik varian virus SARS-CoV-2 di Kota Semarang terdiri 3 *Clade* yaitu *clade* pertama merupakan varian virus dari India, *clade* kedua varian virus *Delta* dari Jogjakarta dan Jawa Tengah dan *clade* ketiga merupakan *daughter clades* dengan sampel Semarang atau berdekatan dengan varian virus *Delta* dari Jawa Tengah.

B. SARAN

Saran yang dapat diberikan untuk penelitian selanjutnya adalah:

1. Jumlah sampel dalam penelitian dapat ditambah sehingga identifikasi varian virus beragam.
2. Penemuan *Clade* tertentu dengan intepretasi penyelidikan epidemiologi diperlukan untuk menemukan peningkatan dan penurunan frekuensi varian di Indonesia.

DAFTAR PUSTAKA

1. Ma X, Ph D, Wang D, Ph D, Xu W, Wu G, et al. A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019. 2020;1–7.
2. Wibawa H, Hakim MS, Trisnawati I, Khair R El, Triasih R, Supriyati E, et al. Molecular epidemiology of SARS - CoV - 2 isolated from COVID - 19 family clusters. 2021;1–14.
3. Laporan Situasi: Who.int. WHO. 2021. Diakses di : <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/situation-reports>
4. Jateng Tanggap Covid-19. Available from: <https://corona.jatengprov.go.id/>
5. Semarang PK. Siaga Corona Kota Semarang. Diakses di : <https://siagacorona.semarangkota.go.id/>
6. Muttineni R, Kammili N, Bingi TC, M RR, Putty K, Singh P, et al. Clinical and whole genome characterization of. 2021;2019(December 2019]:1–21.
7. Distefano, Johanna K. (Methods in Molecular Biology) Disease Gene Identification Volume 1706, MiSeq: A Next Generation Sequencing Platform for Genomic Analysis. 2018;10.1007/978-1-4939-7471-9(Chapter 12), 223–232. doi:10.1007/978-1-4939-7471-9_12
8. Biswas SK, Mudi SR. Genetic variation in SARS-CoV-2 may explain variable severity of COVID-19. *Med Hypotheses*. 2020;143:109877. doi:10.1016/j.mehy. 2020.109877
9. Phylodynamic of pandemic corona virus Indonesia. 2021. Diakses di <https://www.gisaid.org/phylogenetics/indonesia/>
10. SARS-CoV-2 Genomic Surveillance Indonesia. 2021 diakses di : <https://www.litbang.kemkes.go.id/sars-cov2-genomic-surveillance-indonesia/>
11. Fan, Yi & Zhao, Kai & Shi, Zheng-Li & Zhou, Peng. Bat Coronaviruses in China. *Viruses*. 2019. doi :11.210.10.3390/v11030210.
12. Schoeman D and Fielding BC. Coronavirus envelope protein: current knowledge. *Virology*. 2019;16:69. doi: 10.1186/s12985-019-1182-0
13. Kumar, S., Nyodu, R., Maurya, V. K., & Saxena, S. K. Morphology, Genome Organization, Replication, and Pathogenesis of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2). *Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): Epidemiology, Pathogenesis, Diagnosis, and Therapeutics*, 2020; 23–31. https://doi.org/10.1007/978-981-15-4814-7_
14. Bchetnia M, Girard C, Duchaine C, Laprise C. The outbreak of the novel severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2): A review of the current global status. *J Infect Public Health* 2020;2. <https://doi.org/10.1016/j.jiph.2020.07.011>.
15. Abduljalil, Jameel, Bothainah. Epidemiology, genome, and clinical features of the pandemic SARS-CoV-2: a recent view. 2020. doi : 10.1016/j.nmni. 2020.100672.
16. De Wit E, Van Doremalen N, Falzarano D, Munster VJ. SARS and MERS: Recent insights into emerging coronaviruses. *Nat Rev Microbiol* 2016;14:523–34. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2016.81>.

17. Khan S, Siddique R, Bai Q, Shabana, Liu Y, Xue M, et al. Coronaviruses disease 2019 (COVID-19): Causative agent, mental health concerns, and potential management options. *J Infect Public Health* 2020;2019. <https://doi.org/10.1016/j.jiph.2020.07.010>.
18. Yang R, Lan J, Huang B, A R, Lu M, Wang W, et al. Lack of antibody-mediated cross-protection between SARSCoV2 and SARS CoV infections. *EBio Medicine* 2020;58. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2020.102890>
19. Zapor, M. Persistent Detection and Infectious Potential of SARS-CoV-2 Virus in Clinical Specimens from COVID-19 Patients. *Viruses* 2020;12, 1384. <https://doi.org/10.3390/v12121384>
20. Gennaro, F. Di, Pizzol, D., Marotta, C., Antunes, M., Racalbutto, V., Veronese, N., & Smith, L. Coronavirus Diseases (COVID-19) Current Status and Future Perspectives: A Narrative Review. *International Journal of Environmental Research and Public Health Environmental Research and Public Health*. 2020;17(2690), 1–11. <https://doi.org/10.3390/ijerph17082690>
21. Wang Z, Qiang W, Ke H. *A Handbook of 2019-nCoV Pneumonia Control and Prevention*. Hubei Sci Technol Press. 2020;1–108. 14.
22. Van Doremalen, Neeltje; Trenton Bushmaker; Dylan H. Morris, et al. Aerosol and Surface Stability of SARS-CoV-2 as Compared with SARS-CoV-1. *Nejm*. 2020;0–2.
23. Paraskevis D, Kostaki EG, Magiorkinis G, Panayiotakopoulos G, Sourvinos G, Tsiodras S. Full-genome evolutionary analysis of the novel corona virus (2019-nCoV) rejects the hypothesis of emergence as a result of a recent recombination event. *Infect Genet Evol*. 2020 Apr;79:104212. doi: 10.1016/j.meegid.2020.104212.
24. Dharmayanti. *Filogenetika Molekuler: Metode Taksonomi Organisme Berdasarkan Sejarah Evolusi*. 2012; 1-21
25. Wu C, Chen X, Cai Y, et al. Risk Factors Associated With Acute Respiratory Distress Syndrome and Death in Patients With Coronavirus Disease 2019 Pneumonia in Wuhan, China. *JAMA Intern Med*. 2020;180(7):934–943. doi:10.1001/jamainternmed.2020.0994
26. Zhu N, Zhang D, Wang W, Li X, Yang B, Song J, et al. A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019. *N Engl J Med*. 2020; 382: 727–733. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2001017> PMID:31978945
27. Dong, Ning & Yang, Xuemei & Ye, Lianwei & Kaichao, Chen & Chan, Edward & Chen, Sheng. (2020). Genomic and protein structure modelling analysis depicts the origin and pathogenicity of 2019-nCoV, a new coronavirus which caused a pneumonia outbreak in Wuhan, China. *F1000Research*. 9. 121. 10.12688/f1000research.22357.2.
28. Guruprasad, Lalita. Human SARS CoV-2 spike protein mutations. 2021; 89,5 569-5762
29. WHO. Laporan Situasi: Who.int. Tersedia di: <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/situation-reports> Diakses pada 23 Juni 2021.

30. Walensky RP, Walke HT, Fauci AS. SARS-CoV-2 Variants of Concern in the United States-Challenges and Opportunities. *JAMA*. 2021; 16;325[11]:1037-1038.
31. Faria NR, Genomics and epidemiology of a novel SARS-CoV-2 lineage in Manaus, Brazil. medRxiv. 2021. doi: 10.1101/2021.02.26.21252554.
32. Kemenkes. Situasi Terkini Perkembangan Novel Coronavirus (Covid-19). Diakses di: <https://covid19.kemkes.go.id/>
33. Ye, Q., Wang, B., & Mao, J. (2020). The Pathogenesis and Treatment of the ‘ Cytokine Storm ’ in COVID-19. *Journal of Infection*, 80[6], 607–613. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2020.03.037>
34. Khan S, Siddique R, Bai Q, Shabana, Liu Y, Xue M, et al. Coronaviruses disease 2019 (COVID-19): Causative agent, mental health concerns, and potential management options. *J Infect Public Health* 2020;2019. <https://doi.org/10.1016/j.jiph.2020.07.010>.
35. Turner, S.A. (2017). Diagnostic Molecular Pathology Automation of the Molecular Diagnostic Laboratory, 35–46. doi:10.1016/B978-0-12-800886-7.00004-2
36. Smithgall MC, Dowlatshahi M, Spitalnik SL, Hod EA, Rai AJ. Types of Assays for SARS-CoV-2 Testing: A Review. *Lab Med*. 2020 Sep 1;51[5]:e59-e65. doi: 10.1093/labmed/lmaa039. PMID: 32657343; PMCID: PMC7454768.
37. Maddock S dan Jenkins R. 2017. *Quantitative PCR: things to Consider, Understanding PCR*. Academic Press: 45-52
38. Gordon DE, Jang GM, Bouhaddou M, et al. A SARS-CoV-2-human protein-protein interaction map reveals drug targets and potential drug-repurposing. *Nature*. 2020; 583: 459-468. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2286-9>
39. Banerjee, Shuvam & Seal, Sohan & Dey, Riju & Mondal, Kousik & Bhattacharjee, Pritha. (2020). Mutational spectra of SARS-CoV-2 orf1ab polyprotein and Signature mutations in the United States of America. doi:10.1101/2020.05.01.071654.
40. Abdullaev A, Abdurakhimov A, Mirakbarova Z, Ibragimova S, Tsoy V, et al. (2022). Genome sequence diversity of SARS-CoV-2 obtained from clinical samples in Uzbekistan. *PLOS ONE* 17(6): e0270314.
41. Haniyeh fooladinezhad, Maryamsadat Shahidi, Mohammadamin Mahmanzar, Bahar Mahdavi, Samaneh Tokhanbigli, Mahsa Mollapour Sisakht, Bahman Moradi, Mohamad Reza Ganjalikhany, Karim Rahimian, Mazdak Ganjalikhani-Hakemi. 2022. SARS-CoV-2 NSP3, NSP4 and NSP6 mutations and Epistasis during the pandemic in the world: Evolutionary Trends and Natural Selections in Six Continents. doi: <https://doi.org/10.1101/2022.05.22.22275422>
42. Angeletti S, Benvenuto D, Bianchi M, Giovanetti M, Pascarella S, Ciccozzi M. COVID-2019: The role of the nsp2 and nsp3 in its pathogenesis. *J Med Virol*. 2020 Jun;92(6):584-588. doi: 10.1002/jmv.25719. Epub 2020 Feb 28.

PMID: 32083328; PMCID: PMC7228367.

43. Xiang, Jio Yang. 2022. SARS-COV-2 delta variant drives the pandemic in India and Europe via two subvariants. *MedRiv*. October 20,2022. doi: <https://doi.org/10.1101/2021.10.16.21265096>
44. Walls AC, Park YJ, Tortorici MA, Wall A, McGuire AT, Velesler D. Structure, Function, and Antigenicity of the SARS-CoV-2 Spike Glycoprotein. *Cell*. 2020 Apr 16;181(2):281-292.e6. doi: 10.1016/j.cell.2020.02.058. Epub 2020 Mar 9. Erratum in: *Cell*. 2020 Dec 10;183(6):1735. PMID: 32155444; PMCID: PMC7102599.
45. Mulligan, M.J., Lyke, K.E., Kitchin, N.*et al*. Phase I/II study of COVID -19 RNA vaccine BNT162b1 in adults. *Natur* 586, 589–593 (2020]. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2639-4>
46. Planas, D., Veyer, D., Baidaliuk, A.Reduced sensitivity of SARS-CoV-2 variant Delta to antibody neutralization. *Nature* 596, 276–280 (2021]. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03777-9>
47. Iacobucci, G. (2020] Covid-19: UK Pledges to Reintroduce Contact Tracing to Fight Virus. *BMJ*, 369, m1591.<https://doi.org/10.1136/bmj.m1591>
48. Torjesen I. Covid-19: Omicron may be more transmissible than other variants and partly resistant to existing vaccines, scientists fear. *BMJ*. 2021 Nov 29;375:n2943. doi: 10.1136/bmj.n2943. PMID: 34845008.
49. Gitman, M.R.; Shaban, M.V.; Paniz-Mondolfi, A.E.; Sordillo, E.M. Laboratory Diagnosis of SARS-CoV-2 Pneumonia. *Diagnostics*. 2021, 11, 1270. <https://doi.org/10.3390/diagnostics11071270>
50. Jain P, Reza HM, Pal S. Molecular phylogenetic analysis of bacterial community and characterization of Cr(VI) reducers from the sediments of Tantloi hot spring, India. *Aquat Biosyst*. 2014 Sep 2;10:7. doi: 10.1186/2046-9063-10-7.

**L
A
M
P
I
R
A
N**

Lampiran 1: *Accession number* dari referensi wuhan dan sampel SARS-CoV-2

1. *Severe acute respiratory syndrome Coronavirus 2 isolate Wuhan-Hu-1, complete genome. Accession number : NC_045512.2*
2. hCoV-19/Indonesia/JT-GS-21.38149/2021|EPI_ISL_7160960|2021-08-19
Accession number: 7160960
3. hCoV-19/Indonesia/JT-GS-21.38150/2021|EPI_ISL_7160961|2021-08-26
Accession number: 7160961
4. hCoV-19/Indonesia/JT-GS-21.38143/2021|EPI_ISL_7160982|2021-08-03
Accession number: 7160982
5. hCoV-19/Indonesia/JT-GS-21.38144/2021|EPI_ISL_7160983|2021-08-26
Accession number: 7160983
6. hCoV-19/Indonesia/JT-GS-21.38145/2021|EPI_ISL_7161078|2021-08-14
Accession number: 7160978
7. CoV-19/Indonesia/JT-GS-21.38146/2021|EPI_ISL_7161365|2021-08-10
Accession number: 7160965
8. hCoV-19/Indonesia/JT-GS-21.38147/2021|EPI_ISL_7161601|2021-08-19
Accession number: 7160901
9. hCoV-19/Indonesia/JT-GS-21.38148/2021|EPI_ISL_7161977|2021-08-20
Accession number: 7160977

Lampiran 2 : Hasil sekuensing sampel SARS-CoV-2 (fasta sampel EPI_ISL_7160960)

ACCAACCAACTTTTCGATCTCTTGTAGATCTGTTCTCTAAACGAACTTTAAAATCTGTGTGGC
TGTCACTCGGCTGCATGCTTAGTGCCTCACGCAGTATAATTAATAACTAATTACTGTCTGTT
GACAGGACACGAGTAACTCGTCTATCTTCTGCAGGCTGCTTACGGTTTTCGTCCGTTTTGCAG
CCGATCATCAGCACATCTAGGTTTTGTCCGGGTGTGACCGAAAGGTAAGATGGAGAGCCTTG
TCCCTGGTTTTCAACGAGAAAACACACGTCCAACCTCAGTTTGCTGTTTTACAGGTTTCGCGAC
GTGCTCGTACGTGGCTTTGGAGACTCCGTGGAGGAGGTCTTATCAGAGGCACGTCAACATCT
TAAAGATGGCACTTGTGGCTTAGTAGAAGTTGAAAAAGGCGTTTTGCCTCAACTTGAACAGC
CCTATGTGTTTCATCAAACGTTTCGGATGCTCGAACTGCACCTCATGGTCATGTTATGGTTGAG
CTGGTAGCAGAACCTCGAAGGCATTCAGTACGGTCGTAGTGGTGAGACACTTGGTGTCCCTTGT
CCTCATGTGGGCGAAATACCAGTGGCTTACCAGCAAGGTTCTTCTTCGTAAGAACGGTAATAA
AGGAGCTGGTGGCCATAGTTACGGCGCCGATCTAAAGTCATTTGACTTAGGGCAGCAGCTTG
GCACTGATCCTTATGAAGATTTTCAAGAAAACCTGGAACACTAAACATAGCAGTGGTGTACC
CGTGAACCTCATGCGTGAGCTTAAACGGAGGGGCATACACTCGCTATGTCGATAACAACTTCTG
TGGCCCTGATGGCTACCCTCTTGAGTGCATTAAGACCTTCTAGCACGTGCTGGTAAAGCTT
CATGCACTTTGTCCGAACAACCTGGACTTTATTGACACTAAGAGGGGTGTATACTGCTGCCGT
GAACATGAGCATGAAATTGCTTGGTACAGGAACGTTCTGAAAAGAGCTATGAATTGCAGACA
CCTTTTGAAATTAATTTGGCAAAGAAATTTGACACCTTCAATGGGGAATGTCCAAATTTTGT
ATTTCCCTTAAATTCATAATCAAGACTATTCAACCAAGGTTGAAAAGAAAAAGCTTGATG
GCTTTATGGGTAGAATTCGATCTGTCTATCCAGTTGCGTCACCAAATGAATGCAACCAAATG
TGCCTTCAACTCTCATGAAGTGTGATCATTGTGGTGAACCTTCATGGCAGACGGGCGATTT
TGTTAAAGCCACTTGCGAATTTTGTGGCACTGAGAATTTGACTAAAGAAGGTGCCACTACTT
GTGGTTACTTACCCCAAATGCTGTTGTTAAATTTATTGTCCAGCATGTCACAATTCAGAA
GTAGGACTTGAGCATAGTCTTGCCGAATACCATAATGAATCTGGCTTGAAAACCAATTCCTCG
TAAGGGTGGTCGCACTATTGCCCTTTGGAGGCTGTGTGTTCTCTTATGTTGGTTGCCATAACA
AGTGTGCCTATTGGGTTCCACGTGCTAGCGCTAACATAGGTTGTAACCATAACAGGTGTTGTT
GGAGAAGGTTCCGAAGGCTTAATGACAACCTTCTTGAAATACTCCAAAAGAGAAAGTCAA
CATCAATATTGTTGGTACTTTAACTTAAATGAAGAGATCGCCATTATTTGGCATCTTTTT
CTGCTCCACAAGTGTCTTTTGTGGAACTGTGAAAGGTTTGGATTATAAAGCATTCAAACAA
ATTGTTGAATCCTGTGGTAATTTTAAAGTTACAAAAGGAAAAGCTAAAAAGGTGCCTGGAA
TATTGGTGAACAGAAATCAATACTGAGTCTCTTTATGCATTTGCATCAGAGGCTGCTCGTG
TTGTACGATCAATTTTCTCCCGCACTCTTGAACCTGCTCAAAATTTCTGTGCGTGTTTTTACAG
AAGGCCGCTATAACAATACTAGATGGAATTTACAGTATTCACTGAGACTCATTGATGCTAT
GATGTTACATCTATTTGGCTACTAACAATCTAGTTGTAATGGCCTACATTACAGGTGGTGT
TGTTCACTTACTTCGCAGTGGCTAACTAACATCTTTGGCACTGTTTATGAAAACTCAAAC
CCGTCCTTGATTGGCTTGAAGAGAAGTTTAAAGGAAGGTGTAGAGTTTCTTAGAGACGGTTGG
GAAATTGTTAAATTTATCTCAACCTGTGCTTGTGAAATTTGTCGGTGGACAAATTTGCACCTG
TGCAAAGGAAATTAAGGAGAGTGTTCAGACATTCTTTAAGCTTGTAATAAATTTTTGGCTT
TGTGTGCTGACTCTATCATTATTGGTGGAGCTAAACTTAAAGCCTTGAATTTAGGTGAAACA
TTTGTACGCACTCAAAGGGATTGTACAGAAAGTGTGTTAAATCCAGAGAAGAACTGGCCT
ACTCATGCCCTTAAAAGCCCCAAAAGAAATTTATCTTCTTAGAGGGAGAAACACTTCCCACAG
AAGTGTAAACAGAGGAAGTTGTCTTGAAAACCTGGTGAATTTACAACCATTAGAACAACCTACT
AGTGAAGCTGTTGAAGCTCCATTGGTTGGTACACCAGTTTGTATTAACGGGCTTATGTTGCT
CGAAATCAAAGACACAGAAAAGTACTGTGCCCTTGACCTAATATGATGGTAACAAACAATA
CCTTCACACTCAAAGGCGGTGCACCAACAAAGGTTACTTTTGGTGTGACTGTGATAGAA
GTGCAAGGTTACAAGAGTGTGAATATCACTTTTGAACCTTGATGAAAGGATTGATAAAGTACT
TAATGAGAAGTGCTCTGCCTATACAGTTGAACTCGGTACAGAAGTAAATGAGTTCGCCCTGTG

TTGTGGCAGATGCTGTCATAAAAACTTTGCAACCAGTATCTGAATTACTTACACCACTGGGC
ATTGATTTAGATGAGTGGAGTATGGCTACATACTACTTATTTGATGAGTCTGGTGAGTTTAA
ATTGGCTTCACATATGTATTGTTCTTTTTACCCTCCAGATGAGGATGAAGAAGAAGGTGATT
GTGAAGAAGAAGAGTTTGAGCCATCAACTCAATATGAGTATGGTACTGAAGATGATTACCAA
GGTAAACCTTTGGAATTTGGTGCCACTTCTGCTGCTTCAACCTGAAGAAGAGCAAGAAGA
AGATTGGTTAGATGATGATAGTCAACAACTGTTGGTCAACAAGACGGCAGTGAGGACAATC
AGACAACACTATTCAAACAATTGTTGAGGTTCAACCTCAATTAGAGATGGAACCTTACACCA
GTTGTTTCAGACTATTGAAGTGAATAGTTTTAGTGGTTATTTAAAACCTTACTGACAATGTATA
CATTA AAAAATGCAGACATTGTGGAAGAAGCTAAAAAGGTAAAACCAACAGTGGTTGTTAATG
CAGCCAATGTTTTACCTTAAACATGGAGGAGGTGTTGCAGGAGCCTTAAATAAGGCTACTAAC
AATGCCATGCAAGTTGAATCTGATGATTACATAGCTACTAATGGACCCTTAAAGTGGGTGG
TAGTTGTGTTTTAAGCGGACACAATCTTGCTAAACACTGTCTTCATGTTGTGCGGCCAAATG
TTAACAAAGGTGAAGACATTCAACTTCTTAAGAGTGCTTATGAAAATTTTAATCAGCACGAA
GTTCTACTTGCACCATTATTATCAGCTGGTATTTTTGGTGCTGACCCTATACATTCTTTAAG
AGTTTGTGTAGATACTGTTTCGCACAAATGTCTACTTAGCTGTCTTTGATAAAAATCTCTATG
ACAAACTTGTTCAGCTTTTTGGAATGAAGAGTGAAAAGCAAGTTGAACAAAAGATCGCT
GAGATTCCTAAAGAGGAAGTTAAGCCATTTATAACTGAAAGTAAACCTTCAGTTGAACAGAG
AAAACAAGATGTAAGAAAATCAAAGCTTGTGTTGAAGAAGTTACAACAACCTCTGGAAGAAAC
TAAGTTCTCACAGAAAACCTTGTTACTTTATATTGACATTAATGGCAATCTTCATCCAGATT
CTGCCACTCTTGTTAGTGACATTGACATCACTTTCTTAAAGAAAGATGCTCCATATATAGTG
GGTGATGTTGTTCAAGAGGGTGTTTAACTGCTGTGGTTATACCTACTAAAAGTCTGGTGG
CACTACTGAAATGCTAGCGAAAGCTTTGAGAAAAGTGCCAACAGACAATTATATAACCCTT
ACCCGGGTCTAGGGTTTTAATGGTTACACTGTAGAGGAGGCAAAGACAGTGTCTTAAAAAGTGT
AAAAGTGCTTTTTACATTCTACCATCTATTATCTCTAATGAGAAGCAAGAAATCTTGGAAC
TGTTTTCTTGGAATTTGCGAGAAATGCTTGACATGCAGAAGAAACACGCAAATTAATGCCTG
TCTGTGTGGAACATAAGCCATAGTTTCAACTATACAGCGTAAATATAAGGGTATTA AAAATA
CAAGAGGGTGTGGTTGATTATGGTGCTAGATTTTACTTTTACACCAGTAAAACAACCTGTAGC
GTCACTTATCAACACACTTAACGATCTAAATGAAACTCTTGTTACAATGCCACTTGGCTATG
TAACACATGGCTTAAATTTGGAAGAAGCTGCTCGGTATATGAGATCTCTCAAAGTGCCAGCT
ACAGTTTCTGTTTCTTACCTGATGCTGTTACAGCGTATAATGGTTATCTTACTTCTTCTTC
TAAAATACCTGAAGAACATTTTATTGAAACCATCTCACTTGCTGGTTCCTATAAAGATTGGT
CCTATTCTGGACAATCTACACAAC TAGGTATAGAATTTCTTAAGAGAGGTGATAAAGTGTA
TATTACACTAGTAATCCTACCACATTCACCTAGATGGTGAAGTTATCACCTTTGACAATCT
TAAGACACTTCTTTCTTTGAGAGAAGTGAGGACTATTAAGGTGTTTACAACAGTAGACAACA
TTAACCTCCACACGCAAGTTGTGGACATGTCAATGACATATGGACAACAGTTTGGTCCAACT
TATTTGGATGGAGCTGATGTTACTAAAATAAAACCTCATAATTCACATGAAGGTAAAACATT
TTATGTTTTACCTAATGATGACACTCTACGTGTTGAGGCTTTTGAGTACTACCACACAACCTG
ATCCTAGTTTTCTGGGTAGGTACATGTCAGCATTAAATCACACTAAAAGTGGAAATACCCA
CAAGTTAATGGTTTAACTTCTATTAAATGGGCAGATAACAACCTGTTATCTTGCCACTGCATT
GTTAACACTCCAACAATAGAGTTGAAGTTTAAATCCACCTGCTCTACAAGATGCTTATTACA
GAGCAAGGGCTGGTGAAGCTGCTAACTTTTGTGCACTTATCTTAGCCTACTGTAATAAGACA
GTAGGTGAGTTAGGTGATGTTAGAGAAAACAATGAGTTACTTGTTCACATGCCAATTTAGA
TTCTTGCAAAAGAGTCTTGAACGTGGTGTGTA AAAACTTGTGGACAACAGCAGACAACCCTTA
AGGGTGTAGAAGCTGTTATGTACATGGGCACACTTTCTTATGAACAATTTAAGAAAGGTGTT
CAGATACCTTGTACGTGTGGTAAACAAGCTACAAAATATCTAGTACAACAGGAGTCACCTTT
TGTTATGATGTCAGCACCACTGCTCAGTATGAACTTAAAGCATGGTACATTTACTTGTGCTA
GTGAGTACACTGGTAATTACCAGTGTGGTCACTATAAACATATAACTTCTAAAGAACTTTG
TATTGCATAGACGGTGCTTTACTTACAAAGTTCTCAGAATACAAAGTCTTATTACGGATGT
TTTCTACAAAGAAAACAGTTACACAACAACCATAAAACCAGTTACTTATAAATTTGGATGGTG
TTGTTTGTACAGAAATTGACCCTAAGTTGGACAATTATTATAAGAAAGACAATTCCTTATTTTC

ACAGAGCAACCAATTGATCTTGTACCAAACCAACCATATCCAAACGCAAGCTTCGATAATTT
TAAGTTTGTATGTGATAATATCAAATTTGCTGATGATTTAAACCAGTTAACTGGTTATAAGA
AACCTGCTTCAAGAGAGCTTAAAGTTACATTTTTCCCTGACTTAAATGGTGATGTGGTGGCT
ATTGATTATAAACACTACACACCCTCTTTTAAAGAAAGGAGCTAAATTTGTTACATAAACCTAT
TGTTTGGCATGTTAACAATGCAACTAATAAAGCCACGTATAAACCAAATACCTGGTGTATAC
GTTGTCTTTGGAGCACAAAACCAGTTGAAACATCAAATTCGTTTGATGTACTGAAGTCAGAG
GACGCGCAGGGAATGGATAATCTTGCCTGCGAAGATCTAAAAC TAGTCTCTGAAGAAGTAGT
GGAAAATCCTACCATACAGAAAGACGTTCTTGAGTGTAATGTGAAAAC TACCGAAGTTGTAG
GAGACATTATACTTAAACCAGCAAATAATAGTTTAAAAATTACAGAAGAGGTTGGCCACACA
GATCTAATGGCTGCTTATGTAGACAATTCTAGTCTTACTATTAAGAACCTAATGAATTATCT
AGAGTATTAGGTTTGGAAAACCTTGCTACTCATGGTTTAGCTGCTGTTAATAGTGTCCCTTG
GGATACTATAGCTAATTATGCTAAGCCTTTTCTTAAACAAAAGTTGTTAGTACAAC TACTAACA
TAGTTACACGGTGTTTTAAACCGTGTTTGTACTAATTATATGCCTTATTTCTTTACTTTATTG
CTACAATTGTGTACTTTTTACTAGAAGTACAAATTCTAGAATTAAGCATCTATGCCGACTAC
TATAGCAAAGAATACTGTTAAGAGTGTGCGTAAATTTTGTCTAGAGGCTTCATTTAATTATT
TGAAGTCACCTAATTTTTCTAAACTGATAAATATTATAATTTGGTTTTTACTATTAAGTGTT
TGCCTAGGTTCTTTAATCTACTCAACCGCTGCTTTAGGTGTTTTAATGTCTAATTTAGGCAT
GCCTTCTTACTGTACTGGTTACAGAGAAGGCTATTTGAACTCTACTAATGTCACTATTGCAA
CCTACTGTACTGGTTCTATATCTTGTAGTGTTTGTCTTAGTGTTTAGATTCTTTAGACACC
TATCCTTCTTTAGAACTATACAAATTACCATTTTCATCTTTTAAATGGGATTTAACTGCTTT
TGGCTTAGTTGCAGAGTGTTTTTGGCATATATTCTTTTTCACTAGGTTTTTCTATGTACTTG
GATTGGCTGCAATCATGCAATTGTTTTTTCAGCTATTTTGCAGTACATTTTTATTAGTAATTCT
TGGCTTATGTGGTTAATAATTAATCTTGTACAAATGGCCCCGATTTTCAGCTATGGTTAGAAT
GTACATCTTCTTTGCATCATTTTTATTATGTATGGAAAAGTTATGTGCATGTTGTAGACGGTT
GTAATTCATCAACTTGTATGATGTGTTACAAACGTAATAGAGCAACAAGAGTCGAATGTACA
ACTATTGTTAATGGTGTTAGAAGGTCCTTTTATGTCTATGCTAATGGAGGTAAAGGCTTTTG
CAAAC TACACAATTGGAATTGTGTTAATTGTGATACATTCTGTGCTGGTAGTACATTTATTA
GTGATGAAGTTGCGAGAGACTTGTCACTACAGTTTTAAAAGACCAATAAATCCTACTGACCAG
TCTTCTTACATCGTTGATAGTGTTACAGTGAAGAATGGTTCCATCCATCTTTACTTTGATAA
AGCTGGTCAAAGACTTATGAAAGACATTCCTCTCTCTCATTTTGTAACTTAGACAACCTGA
GAGCTAATAACACTAAAGGTTCAATGCCTATTAATGTTATAGTTTTTTGATGGTAAATCAAAA
TGTGAAGAATCATCTGCAAAATCAGCGTCTGTTTACTACAGTCAGCTTATGTGTCAACCTAT
ACTGTTACTAGATCAGGCATTAGTGCTGATGTTGGTGATAGTGCGGAAGTTGCAGTTAAAA
TGTTTTGATGCTTACGTTAATACGTTTTTCATCAACTTTTAAACGTACCAATGGAAAAACTCAA
ACACTAGTTGCAACTGCAGAAAGCTGAACTTGCAAAGAATGTGTCCTTAGACAATGTCTTATC
TACTTTTATTTT CAGCAGCTCGGCAAGGTTTTGTTGATT CAGATGTAGAACTAAAGATGTTG
TTGAATGTCCTAAATTGTACATCAATCTGACATAGAAGTTACTGGCGATAGTTGTAATAAC
TATATGCTCACCTATAACAAAGTTGAAAACATGACACCCCGTGACCTTGGTGCTTGTATTGA
CTGTAGTGCGCGTCATATTAATGCGCAGGTAGCAAAAAGTCACAACATTGCTTTGATATGGA
ACGTTAAAGATTTT CATGTCAATTGTCTGAACAAC TACGAAAACAAATACGTAGTGCTGCTAAA
AAGAATAACTTACCTTTTAAAGTTGACATGTGCAACTACTAGACAAGTTGTTAATGTTGTAAC
AACAAAAGATAGCACTTAAAGGTTGGTAAAATTGTTAATAAATTGGTTGAAGCAGTTAATTAAAG
TTACACTTGTGTTCCTTTTTGTGCTGCTATTTTTCTATTTAATAACACCTGTTTCATGTCATG
TCTAAACATACTGACTTTTCAAGTGAATCATAGGATACAAGGCTATTGATGGTGGTGTCAC
TCGTGACATAGCATCTACAGATACTTGTTTTTGCTACAAACATGCTGATTTTTGACACATGGTT
TAGCCAGCGTGGTGGTAGTTATACTAATGACAAAGCTTGCCATTGATTGCTGCAGTCATAA
CAAGAGAAGTGGGTTTTGTGCTGCCTGGTTTTGCCTGGCACGATATTACGCACAAC TAAATGGT
GACTTTTTGCATTTCTTACCTAGAGTTTTTTAGTGACAGTTGGTAACATCTGTTACACACCATC
AAAAC TTATAGAGTACACTGATTTTGCAACATCAGCTTGTGTTTTGGCTGCTGAATGTACAA
TTTTTAAAGATGCTTCTGGTAAGCCATTACCATATTGTTATGATACCAATGTACTAGAAGGT

TCTGTTGCTTATGAAAGTTTACGCCCTGACACACGTTATGTGCTCATGGATGGCTCTATTAT
TCAATTTCCTAACACCTACCTTGAAGGTTCTGTTAGAGTGGTAACAACCTTTTGATTCTGAGT
ACTGTAGGCACGGCACTTGTGAAAAGATCAGAAGCTGGTGTGTTGTGTATCTACTAGTGGTAGA
TGGGTACTTAACAATGATTATTACAGATCTTTACCAGGAGTTTCTGTGGTGTAGATGCTGT
AAATTTACTTACTAATATGTTTACACCCTAATTCAACCTATTGGTGCCTTTGGCATATCAGC
ATCTATAGTAGCTGGTGGTATTGTAGCTATCGTAGTAACATGCCTTGCCTACTATTTTATGA
GGTTTAGAAGAGCTTTTGGTGAATACAGTCATGTAGTTGCCTTTAATACTTTACTATTCCTT
ATGTCATTCACTGTACTCTGTTTAAACACCAGTTTACTCATTCCTTACCTGGTGTGTTATTCCTGT
TATTTACTTGTACTTGACATTTTATCTTACTAATGATGTTTCTTTTTTAGCACATATTCAGT
GGATGGTTATGTTTACACCTTTAGTACCTTTCTGGATAACAATTGCTTATATCATTTGTATT
TCCACAAAAGCATTCTATTGGTTCCTTAGTAATTACCTAAAAGAGACGTGTAGTCTTTAATGG
TGTTTTCTTTAGTACTTTTGAAGAAGCTGCGCTGTGCACCTTTTTGTAAATAAAAGAAATGT
ATCTAAAAGTTGCGTAGTGATGTGCTATTACCTCTTACCAATATAATAGATACTTAGCTCTTT
ATAATAAGTACAAGTATTTTAGTGGAGCAATGGATAACAACCTAGCTACAGAGAAGCTGCTTGT
TGTCATCTCGCAAAGGCTCTCAATGACTTCAGTAACCTCAGGTTCTGATGTTCTTTACCAACC
ACCACAAATCTCTATCACCTCAGCTGTTTTGCAGAGTGGTTTTAGAAAAATGGCATTCCCAT
CTGGTAAAGTTGAGGGTTGTATGGTACAAGTAACTTGTGGTACAACCTACACTTAAACGGTCTT
TGGCTTGATGACGTAGTTTACTGTCCAAGACATGTGATCTGCACCTCTGAAGACATGCTTAA
CCCTAATTATGAAGATTTACTCATTCGTAAGTCTAATCATAATTTCTTGGTACAGGCTGGTA
ATGTTCAACTCAGGGTTATTGGACATTCATGCAAAAATTGTGTACTTAAGCTTAAAGTTGAT
ACAGCCAATCCTAAGACACCTAAGTATAAGTTTTGTTTCGCATTCACCAGGACAGACTTTTTTC
AGTGTAGCTTGTTACAATGGTTCACCATCTGGTGTTTACCAATGTGCTATGAGGCCCAATT
TCACTATTAAGGGTTCATTCTTAATGGTTCATGTGGTAGTGTGGTTTTAACATAGATTAT
GACTGTGTCCTTTTTGTTACATGCACCATATGGAATTACCAACTGGAGTTCATGCTGGCAC
AGACTTAGAAGGTAACTTTTATGGACCTTTTTGTTGACAGGCAAACAGCACAAGCAGCTGGTA
CGGACACAACCTATTACAGTTAATGTTTTAGCTTGGTTGTACGCTGCTGTTATAAATGGAGAC
AGGTGGTTTTCTCAATCGATTTACCACAACCTCTTAATGACTTTAACCTTGTGGCTATGAAGTA
CAATTATGAACCTCTAACACAAGACCATGTTGACATACTAGGACCTCTTTCTGCTCAAACCTG
GAATTGCCGTTTTAGATATGTGTGCTTCATTAAGAATTAAGTACTGCAAAAATGGTATGAATGGA
CGTACCATATTGGGTAGTGCCTTTATTAGAAGATGAATTTACACCTTTTGATGTTGTTAGACA
ATGCTCAGGTGTTACTTTCCAAAGTGCAGTGAAGAACAATCAAGGGTACACACCACTGGT
TGTTACTCACAATTTGACTTCACTTTTAGTTTTAGTCCAGAGTACTCAATGGTCTTTGTTTCT
TTTTTTTTGTATGAAAATGCCTTTTACCTTTTGTCTATGGGTATTATTGCTATGTCTGCTTT
TGCAATGATGTTTGTCAAACATAAGCATGCATTTCTCTGTTTGTGTTTGTACTTCTCTTG
CCGCTGTAGCTTATTTAATATGGTCTATATGCCTGCTAGTTGGGTGATGCGTATTATGACA
TGGTTGGATATGGTTGATACTAGTTTGTCTGGTTTTAAGCTAAAAGACTGTGTTATGTATGC
ATCAGCTGTGGTGTACTAATCCTTATGACAGCAAGAAGTGTGTATGATGATGGTGTAGGA
GAGTGTGGACACTTATGAATGTCTTGACACTCGTTTATAAAGTTTATTATGGTAATGCTTTA
GATCAAGCCATTTCCATGTGGGCTCTTATAATCTCTGTTACTTCTAACTACTCAGGTGTAGT
TACAACCTGTCATGTTTTTGGCCAGAGGTATTGTTTTTATGTGTGTTGAGTATTGCCCTATTT
TCTTCATAACTGGTAATACACTTCAGTGTATAATGCTAGTTTATTGTTTCTTAGGCTATTTT
GTACTTGTACTTTGGCCTCTTTTGTACTCAACCGCTACTTTAGACTGACTCTTGGTGTT
TATGATTACTTAGTTCTACACAGGAGTTTAGATATATGAATTCACAGGGACTACTCCCACCC
AAGAATAGCATAGATGCCTTCAAACCTCAACATTAATTTGTTGGGTGTTGGTGGCAAACCTTG
TATCAAAGTAGCCACTGTACAGTCTAAAATGTGAGATGTAAAGTGCACATCAGTAGTCTTAC
TCTCAGTTTTGCAACAACCTCAGAGTAGAATCATCATCTAAATTTGTGGGCTCAATGTGTCCAG
TTACACAATGACATTCCTTAGCTAAAGATACTACTGAAGCCTTTGAAAAATGGTTTCACT
ACTTTCTGTTTTGCTTTCCATGCAGGGTGTGTAGACATAAACAAGCTTTGTGAAGAAATGC
TGGACAACAGGGCAACCTTACAAGCTATAGCCTCAGAGTTTAGTTCCCTTCCATCATATGCA
GCTTTTTGCTACTGCTCAAGAAGCTTATGAGCAGGCTGTTGCTAATGGTGATTCTGAAGTTGT

TCTTAAAAAGTTGAAGAAGTCTTTGAATGTGGCTAAATCTGAATTTGACCGTGATGCAGCCA
TGCAACGTAAGTTGGAAAAGATGGCTGATCAAGCTATGACTCAAATGTATAAACAGGCTAGA
TCTGAGGACAAGAGGGCAAAAGTTACTAGTGCTATGCAGACAATGCTTTTTCACTATGCTTAG
AAAGTTGGATAATGATGCACTCAACAACATTATCAACAATGCAAGAGATGGTTGTGTTCCCT
TGAACATAATACCTCTTACAACAGCAGCCAACTAATGGTTGTCATACCAGACTATAACACA
TATAAAAAATACGTGTGATGGTACAACATTTACTTATGCATCAGCATTGTGGGAAATCCAACA
GGTTGTAGATGCAGATAGTAAAATTGTTCAACTTAGTGAAAATTAGTATGGACAATTCACCTA
ATTTAGCATGGCCTCTTATTGTAACAGCTTTAAGGGCCAATTCCTGCTGTCAAATTACAGAAT
AATGAGCTTAGTCTGTTGCACTACGACAGATGTCTTGTGCTGCCGGTACTACACAACTGC
TTGCACTGATGACAATGCGTTAGCTTACTACAACACAACAAAGGGAGGTAGGTTTGTACTTG
CACTGTTATCCGATTTACAGGATTTGAAATGGGCTAGATTCCTAAGAGTGATGGAACTGGT
ACTATCTATACAGAAGTGAACCACCTTGTAGGTTTGTACAGACACACCTAAAGGTCCTAA
AGTGAAAGTATTTATACTTTATTAAAGGATTAACAACCTAAATAGAGGTATGGTACTTGTA
GTTTAGCTGCCACAGTACGTCTACAAGCTGGTAATGCAACAGAAGTGCCTGCCAATTCAACT
GTATTATCTTTCTGTGCTTTTGCTGTAGATGCTGCTAAAGCTTACAAAGATTATCTAGCTAG
TGGGGGACAACCAATCACTAATTGTGTTAAGATGTTGTGTACACACACTGGTACTGGTCAGG
CAATAACAGTTACACCGGAAGCCAATATGGATCAAGAATCCTTTGGTGGTGCATCGTGTGT
CTGTACTGCCGTTGCCACATAGATCATCAAATCCTAAAGGATTTTGTGACTTAAAAAGGTAA
GTATGTACAAATACCTACAACCTTGTGCTAATGACCCTGTGGGTTTTACTTAAAAACACAG
TCTGTACCGTCTGCGGTATGTGGAAAGGTTATGGCTGTAGTTGTGATCAACTCCGCGAACCC
ATGCTTCAGTCAGCTGATGCACAATCGTTTTTAAACGGGTTTGCGGTGTAAAGTGCAGCCCGT
CTTACACCGTGCGGCACAGGCACTAGTACTGATGTCGTATACAGGGCTTTTGACATCTACAA
TGATAAAGTGGCTGGTTTTGCTAAATTCCTAAAAACTAATGTTGTGCGCTTCCAAGAAAAGG
ACGAAGATGACAATTTAATTGATTCTTACTTTGTAGTTAAGAGACACACTTTCTCTAACTAC
CAACATGAAGAAACAATTTATAATTTACTTAAGGATTGTCCAGCTGTTGCTAAACATGACTT
CTTTAAGTTTAGAATAGACGGTGACATGGTACCACATATATCACGTCAACGTCTTACTAAAT
ACACAATGGCAGACCTCGTCTATGCTTTAAGGCATTTTGTGATGAAGGTAATTGTGACACATTA
AAAGAAAATACTTGTACATACAATGTTGTGATGATGATTATTTCAATAAAAAGGACTGGTA
TGATTTTGTAGAAAACCCAGATATATTACGCGTATACGCCAECTTAGGTGAACGTGTACGCC
AAGCTTTGTTAAAAACAGTACAATTCCTGTGATGCCATGCGAAATGCTGGTATTGTTGGTGTA
CTGACATTAGATAATCAAGATCTCAATGGTAACTGGTATGATTTCCGGTGATTTACATACAAAC
CACGCCAGGTAGTGGAGTTCCTGTTGTAGATTCTTATTATTCATTGTTAATGCCTATATTTAA
CCTTGACCAGGGCTTTAACTGCAGAGTCACATGTTGACACTGACTTAAACAAAGCCTTACATT
AAGTGGGATTTGTTAAAAATATGACTTCACGGAAGAGAGGTTAAACTCTTTGACCGTTATTT
TAAATATTGGGATCAGACATAACCACCAAATTTGTGTTAACTGTTTGGATGACAGATGCATTC
TGCATTGTGCAAACCTTTAATGTTTTATTCTCTACAGTGTTCCCACTTACAAGTTTTGGACCA
CTAGTGAGAAAAATATTTGTTGATGGTGTTCATTTGTAGTTTCAACTGGATAACCACTTCAG
AGAGCTAGGTGTTGTACATAATCAGGATGTAACTTACATAGCTCTAGACTTAGTTTTAAGG
AATTACTTGTGTATGCTGCTGACCCTGCTATGCACGCTGCTTCTGGTAATCTATTACTAGAT
AAACGCACTACGTGCTTTTTCAGTAGCTGCACTTACTAACAATGTTGCTTTTCAAACGTCAA
ACCCGGTAATTTTAAACAAAGACTTCTATGACTTTGCTGTGCTAAGGGTTTCTTTAAGGAAG
GAAGTTCTGTTGAATTAAAAACACTTCTTCTTTGCTCAGGATGGTAATGCTGCTATCAGCGAT
TATGACTACTATCGTTATAATCTACCAACAATGTGTGATATCAGACAACACTACTATTTGTAGT
TGAAGTTGTTGATAAGTACTTTGATTGTTACGATGGTGGCTGTATTAATGCTAACCAAGTCA
TCGTCAACAACCTAGACAAATCAGCTGGTTTTTCATTTAATAAATGGGGTAAGGCTAGACTT
TATTATGATTCAATGAGTTATGAGGATCAAGATGCACTTTTCGCATATACAAAACGTAATGT
CATCCCTACTATAACTCAAATGAATCTTAAGTATGCCATTAGTGCAAAGAATAGAGCTCGCA
CCGTAGCTGGTGTCTCTATCTGTAGTACTATGACCAATAGACAGTTTTCATCAAAAATTTATG
AAATCAATAGCCGCCACTAGAGGAGCTACTGTAGTAATTGGAACAAGCAAATTTCTATGGTGG
TTGGCACAAACATGTTAAAAACTGTTTATAGTGATGTAGAAAACCCCTCACCTTATGGGTTGGG

ATTATCCTAAATGTGATAGAGCCATGCCTAACATGCTTAGAATTATGGCCTCACTTGTCTT
GCTCGCAAACATAACAACGTGTTGTAGCTTGTACACCGTTTCTATAGATTAGCTAATGAGTG
TGCTCAAGTATTGAGTGAAATGGTCATGTGTGGCAGTTCACTATATGTTAAACCAGGTGGAA
CCTCATCAGGAGATGCCACAACCTGCTTATGCTAATAGTGTFTTTAACATTTGTCAAGCTGTC
ACGGCCAATGTTAATGCACTTTTATCTACTGATGGTAAACAAAATTGCCGATAAGTATGTCGG
CAATTTACAACACAGACTTTTATGAGTGTCTCTATAGAAAATAGAGATGTTGACACAGACTTTG
TGAATGAGTTTTACGCATATTTGCGTAAACATTTCTCAATGATGATACTCTCTGACGATGCT
GTTGTGTGTTTCAATAGCACTTATGCATCTCAAGGTCTAGTGGCTAGCATAAAGAACTTTAA
GTCAGTCTTTTATTATCAAAAACATGTTTTTATGTCTGAAGCAAAATGTTGGACTGAGACTG
ACCTTACTAAAGGACCTCATGAATTTTGTCTCTCAACATACAATGCTAGTTAAACAGGGTGAT
GATTATGTGTACCTTCCTTACCCAGATCCATCAAGAATCCTAGGGGCCGGCTGTTTTGTAGA
TGATATCGTAAAAACAGATGGTACACTTATGATTGAACGGTTCGTGTCTTTAGCTATAGATG
CTTACCCACTTACTAAACATCCTAATCAGGAGTATGCTGATGTCTTTCATTTGTACTTACAA
TACATAAGAAAGCTACATGATGAGTTAACAGGACACATGTTAGACATGTATTCTGTTTATGCT
TACTAATGATAACACTTCAAGGTATTGGGAACCTGAGTTTTATGAGGCTATGTACACACCGC
ATACAGTCTTACAGGCTGTTGGGGCTTGTGTTCTTTGCAATTCACAGACTTCATTAAGATGT
GGTGTCTGCATACGTAGACCATTCTTATGTTGTAATGCTGTTACGACCATGTATATCAAC
ATCACATAAATTAGTCTTGTCTGTTAATCCGTATGTTTGAATGCTCCAGGTTGTGATGTCA
CAGATGTGACTCAACTTTACTTAGGAGGTATGAGCTATTATTGTAATCACATAAACTACCC
ATTAGTTTTCCATTGTGTGCTAATGGACAAGTTTTTGGTTTTATATAAAAAATACATGTGTTGG
TAGCGATAATGTTACTGACTTTAATGCAATTGCAACATGTGACTGGACAAATGCTGGTGATT
ACATTTTAGCTAACACCTGTACTGAAAGACTCAAGCTTTTTTGCAGCAGAAACGCTCAAAGCT
ACTGAGGAGACATTTAAACTGTCTTATGGTATTGCTACTGTACGTGAAGTGTCTGTGACAG
AGAATTACATCTTTCATGGGAAGTTGGTAAACCTAGACCACCCTTAACCGAAATTATGTCT
TTACTGGTTATCGTGTAACATAAAAAACAGTAAAGTACAAATAGGAGAGTACACCTTTGAAAA
GGTACTATGGTGATGCTGTTGTTTACCGAGGTACAACAACCTTACAAATTAATGTTGGTGA
TTATTTTGTGCTGACATCACATACAGTAATGCCATTAAGTGCACCTACACTAGTGCCACAAG
AGCACTATGTTAGAATTACTGGCTTATACCCAACACTCAATATCTCAGATGAGTTTTCTAGC
AATGTTGCAAATTATCAAAAAGGTTGGTATGCAAAAGTATTCTACACTCCAGGGACCACCTGG
TACTGGTAAGAGTCATTTTGGCTATTGGCCTAGCTCTCTACTACCCTTCTGCTCGCATAGTGT
ATACAGCTTGTCTCATGCCGCTGTTGATGCACTATGTGAGAAGGCATTAATAATTTGCCT
ATAGATAAATGTAGTAGAATTATACCTGCACGTGCTCGTGTAGAGTGTTTTGATAAATCAA
AGTGAATTCACATTAGAACAGTATGTCTTTTGTACTGTAAATGCATTGCCTGAGACGACAG
CAGATATAGTTGTCTTTGATGAAAATTTCAATGGCCACAAAATTATGATTTGAGTGTGTCAAT
GCCAGATTACGTGCTAAGCACTATGTGTACATTGGCGACCCTGCTCAATTACCTGCACCACG
CACATTGCTAACTAAGGGCACACTAGAACCAGAATATTTCAATTCAGTGTGTAGACTTATGA
AACTATAGGTCCAGACATGTTCCCTCGAACTTGTTCGGCGTTGTCCTGCTGAAATTGTTGAC
ACTGTGAGTGCCTTTGGTTTATGATAATAAGCTTAAAGCACATAAAGACAAATCAGCTCAATG
CTTTAAAATGTTTTATAAGGGTGTATCACGCATGATGTTTCATCTGCAATTAACAGGCCAC
AAATAGGCGTGGTAAGAGAATTCCTTACACGTAACCCTGCTTGGAGAAAAGCTGTCTTTATT
TCACCTTATAATTCACAGAATGCTGTAGCCTCAAAGATTTTGGGACTACCAACTCAAACCTGT
TGATTCATCACAGGGCTCAGAATATGACTATGTCATATTCACTCAAACCACTGAAAACAGCTC
ACTCTTGTAATGTAAACAGATTTAATGTTGCTATTACCAGAGCAAAAGTAGGCATACTTTGC
ATAATGTCTGATAGAGACCTTTATGACAAGTTGCAATTTACAAGTCTTGAATTTCCACGTAG
GAATGTGGCAACTTTACAAGCTGAAAATGTAACAGGACTCTTTAAAGATTGTAGTAAGGTAA
TCACTGGGTTACATCCTACACAGGCACCTACACACCTCAGTGTGACACTAAATTCAAAACCT
GAAGGTTTATGTGTTGACATACCTGGCATACTAAGGACATGACCTATAGAAGACTCATCTC
TATGATGGGTTTTAAAATGAATTATCAAGTTAATGGTTACCCTAACATGTTTATCACCCGCG
AAGAAGCTATAAGACATGTACGTGCATGGATTGGCTTCGATGTGAGGGGTGTGATGCTACT
AGAGAAGCTGTTGGTACCAATTTACCTTTACAGCTAGGTTTTTCTATAGGTGTTAACCTAGT

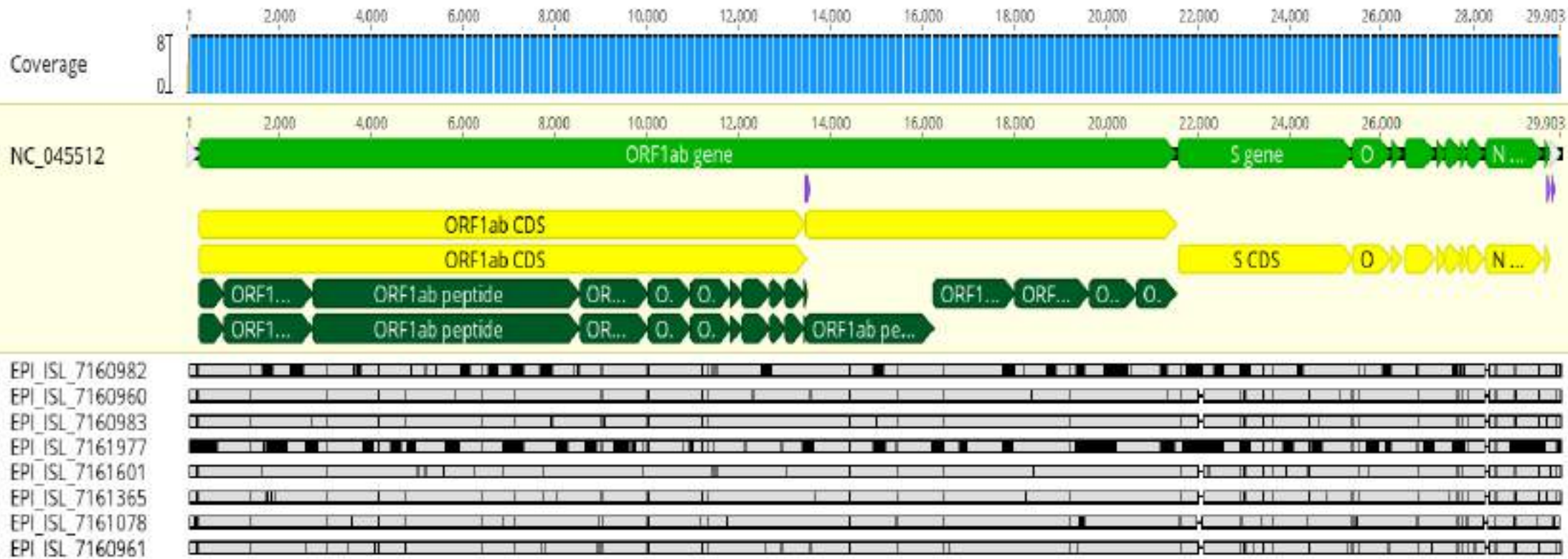
TGCTGTACCTACAGGTTATGTTGATACACCTAATAATACAGATTTTTCCAGAGTTAGTGCTA
AACCACCGCCTGGAGATCAATTTAAACACCTCATACCACTTATGTACAAAGGACTTCCTTGG
AATGTAGTGCGTATAAAGATTGTACAAATGTTAAGTGACACACTTAAAAATCTCTCTGACAG
AGTCGTATTTGTCTTATGGGCACATGGCTTTGAGTTGACATCTATGAAGTATTTTGTGAAAA
TAGGACCTGAGCGCACCTGTTGTCTATGTGATAGACGTGCCACATGCTTTTCCACTGCTTCA
GACACTTATGCCTGTTGGCATCATTCTATTGGATTTGATTACGTCTATAATCCGTTTATGAT
TGATGTTCAACAATGGGGTTTTACAGGTAACCTACAAAGCAACCATGATCTGTATTGTCAAG
TCCATGGTAATGCACATGTAGCTAGTTGTGATGCAATCATGACTAGGTGTCTAGCTGTCCAC
GAGTGCTTTGTTAAGCGTGTGACTGGACTATTGAATATCCTATAATTGGTGATGAACTGAA
GATTAATGCGGCTTGTAGAAAGGTTCAACACATGGTTGTTAAAGCTGCATTATTAGCAGACA
AATTTCCAGTTCTTCACGACATTGGTAACCCTAAAGCTATTAAGTGTGTACCTCAAGCTGAT
GTAGAATGGAAGTTCTATGATGCACAGCCTTGTAGTGACAAAGCTTATAAAATAGAAGAATT
ATTCTATTCTTATGCCACACATTCTGACAAATTCACAGATGGTGTATGCCTATTTTGGAAAT
GCAATGTCGATAGATATCCTGTTAATTCATTGTTTGTAGATTTGACACTAGAGTGCTATCT
AACCTTAACCTTGCTGTTGTGATGGTGGCAGTTTGTATGTAAATAAACATGCATTCCACAC
ACCAGCTTTTGATAAAAGTGCTTTTGTAAATTTAAACAATTACCATTTTTCTATTACTCTG
ACAGTCCATGTGAGTCTCATGGAAAACAAGTAGTGTGAGATATAGATTATGTACCACTAAAG
TCTGTACGTGTATAACACGTTGCAATTTAGGTGGTGCTGTCTGTAGACATCATGCTAATGA
GTACAGATTGTATCTCGATGCTTATAACATGATGATCTCAGCTGGCTTTAGCTTGTGGGTTT
ACAAAATTTGATACTTATAACCTCTGGAACACTTTTACAAGACTTCAGAGTTTAGAAAAT
GTGGCTTTTAAATGTTGTAAATAAGGGACACTTTTGATGGACAACAGGGTGAAGTACCAGTTTC
TATCATTAAATAACACTGTTTACACAAAAGTTGATGGTGTGATGTAGAATTGTTTAAAAATA
AAACAACATTACCTGTTAATGTAGCATTGTGAGCTTTGGGCTAAGCGCAACATTAACCAGTA
CCAGAGGTGAAAATACTCAATAATTTGGGTGTGGACATTGCTGCTAATACTGTGATCTGGGA
CTACAAAAGAGATGCTCCAGCACATATCTACTATTGGTGTGTTGTTCTATGACTGACATAG
CCAAGAAACCACTGAAACGATTTGTGCACCACTCACTGTCTTTTTTTGATGGTAGAGTTGAT
GGTCAAGTAGACTTATTTAGAAAATGCCCGTAATGGTGTCTTATTACAGAAGGTAGTGTAA
AGGTTTACAACCATCTGTAGGTCCCAAACAAGCTAGTCTTAATGGAGTCACATTAATTGGAG
AAGCCGTAAAAACACAGTTCAATTTATTATAAGAAAGTTGATGGTGTGTTGCCAACATTTACCT
GAACTTACTTTACTCAGAGTAGAAAATTTACAAGAATTTAAACCCAGGAGTCAAATGGAAAT
TGATTTCTTAGAATTAGCTATGGATGAATTCATTGAACGGTATAAATTAGAAGGCTATGCCT
TCGAACATATCGTTTATGGAGATTTTAGTCATAGTCAGTTAGGTGGTTTACATCTACTGATT
GGACTAGCTAAACGTTTTAAGGAATCACCTTTTGAATTAGAAGATTTTATTCTATGGACAG
TACAGTTAAAACTATTTATAACAGATGCGCAAACAGGTTTATCTAAGTGTGTGTGTTCTG
TTATTGATTTATTACTTGATGATTTTGTGAAATAATAAAATCCCAAGATTTATCTGTAGTT
TCTAAGGTTGTCAAAGTGACTATTGACTATACAGAAAATTTCAATTTATGCTTTGGTGTAAGA
TGGCCATGTAGAAACATTTTACCCAAAATTACAATCTAGTCAAGCGTGGCAACCGGGTGTG
CTATGCCTAATCTTTACAAAATGCAAAGAATGCTATTAGAAAAGTGTGACCTTCAAAATTTAT
GGTGATAGTGCAACATTACCTAAAGGCATAATGATGAATGTCGCAAATATACTCAACTGTG
TCAATATTTAAACACATTAACATTAGCTGTACCCTATAATATGAGAGTTATACATTTTGGTG
CTGGTTCTGATAAAGGAGTTGCACCAGGTACAGCTGTTTTAAGACAGTGGTTGCCTACGGGT
ACGCTGCTTGTGATTAGATCTTAATGACTTTGTCTCTGATGCAGATTCAACTTTGATTGG
TGATTGTGCAACTGTACATACAGCTAATAAATGGGATCTCATTATTAGTGATATGTACGACC
CTAAGACTAAAAATGTTACAAAAGAAAATGACTCTAAAGAGGGTTTTTTCACTTACATTTGT
GGGTTTATACAACAAAAGCTAGCTCTTGGAGGTTCCGTGGCTATAAAGATAACAGAACATTC
TTGGAATGCTGATCTTTATAAGCTCATGGGACACTTCGCATGGTGGACAGCCTTTGTTACTA
ATGTGAATGCGTCATCATCTGAAGCATTTTAATTGGATGTAATTATCTTGGCAAACCAAAC
GAACAAAATAGATGGTTATGTCATGCATGCAAATTACATATTTTGGAGGAATACAAATCCAAT
TCAGTTGCTTCTTATTCTTTATTTGACATGAGTAAATTTCCCCTTAAATTAAGGGTACTG
CTGTTATGCTTTTAAAGAAGGTCAAATCAATGATATGATTTTATCTCTTCTTAGTAAAGGT

AGACTTATAATTAGAGAAAACAACAGAGTTGTTATTTCTAGTGATGTTCTTGTAAACAATA
AACGAACAATGTTTGTTTTTCTTGTTTTTATTGCCACTAGTCTCTAGTCAGTGTGTTAATCTT
AGAACCAGAACTCAATTACCCCCTGCATACACTAATTCTTTACACGTGGTGTATTATACCC
TGACAAAAGTTTTTCAGATCCTCAGTTTTACATTCAACTCAGGACTTGTCTTACCTTTCTTTT
CCAATGTTACTTGGTTCATGCTATACATGTCTCTGGGACCAATGGTACTAAGAGGTTTGAT
AACCTGTCCTACCATTTAATGATGGTGTATTATTTGCTTCCACTGAGAAGTCTAACATAAT
AAGAGGCTGGATTTTTGGTACTACTTTAGATTGCAAGACCCAGTCCCTACTTATTGTTAATA
ACGCTACTAATGTTGTTATTAAGTCTGTGAATTTCAATTTGTAATGATCCATTTTGGGT
GTTTATTACCACAAAACAACAAAAGTTGGATGGAAAGTGGAGTTTATTCTAGTGCGAATAA
TTGCACTTTTGAATATGTCTCTCAGCCTTTTCTTATGGACCTTGAAGGAAAACAGGGTAATT
TCAAAAATCTTAGGGAATTTGTGTTAAGAATATTGATGGTTATTTTAAAATATATTCTAAG
CACACGCCTATTAATTAGTGCCTGATCTCCCTCAGGGTTTTTCGGCTTTAGAACCATTGGTA
GATTTGCCAATAGGTATTAACATCACTAGGTTTTCAAACCTTACTTGCTTTACATAGAAGTTA
TTTACTCCTGGTGATTCTTCTCAGGTTGGACAGCTGGTGCTGCAGCTTATTATGTGGGTT
ATCTTCAACCTAGGACTTTTTCTATTAAAATATAATGAAAATGGAACCATTACAGATGCTGTA
GACTGTGCACTTGACCCTCTCTCAGAAACAAAGTGTACGTTGAAATCCTTCACTGTAGAAAA
AGGAATCTATCAAACCTTAACTTTAGAGTCCAACCAACAGAATCTATTGTTAGATTTCTTA
ATATTACAACTTGTGCCCTTTTGGTGAAGTTTTTAACGCCACCAGATTTGCATCTGTTTAT
GCTTGGAACAGGAAGAGAATCAGCAACTGTGTTGCTGATTATTCTGTCTATATAAATCCGC
ATCATTTTCCACTTTTTAAGTGTATGGAGTGTCTCCTACTAAATTAATGATCTCTGCTTTA
CTAATGTCTATGCAGATTCATTTGTAATTAGAGGTGATGAAGTCAGACAAATCGCTCCAGGG
CAAACCTGGAAGATTGCTGATTATAATTATAAATTACCAGATGATTTTACAGGCTGCGTTAT
AGCTTGGAAATCTAACAACTTGTATTCTAAGGTTGGTGGTAATTATAATTACCGGTATAGAT
TGTTTTAGGAAGTCTAATCTCAAACCTTTTGGAGAGATATTTCAACTGAAATCTATCAGGCC
GGTAGCAAACCTTGAATGGTGTGAAGGTTTTAATTGTTACTTTCTTTACAATCATATGG
TTTCCAACCCACTAATGGTGTGGTTACCAACCATAACAGAGTAGTAGTACTTTCTTTTGAAC
TTCTACATGCACCAGCAACTGTTTGTGGACCTAAAAAGTCTACTAATTTGGTTAAAAACA
TGTGTCAATTTCAACTTCAATGGTTTAAACAGGCACAGGTGTTCTTACTGAGTCTAACAAAA
GTTTCTGCCTTTCCAACAATTTGGCAGAGACATTGCTGACACTACTGATGCTGTCCGTGATC
CACAGACACTTGAGATTCTTGACATTACACCATGTTCTTTTGGTGGTGTGAGTGTATAACA
CCAGGAACAAATACTTCTAACAGGTTGCTGTTCTTTATCAGGGTGTAACTGCACAGAAGT
CCCTGTTGCTATTATGCAGATCAACTTACTCCTACTTGGCGTGTATTCTACAGGTTCTA
ATGTTTTTCAAACACGTGCAGGCTGTTTAAATAGGGGCTGAACATGTCAACAACCTCATATGAG
TGTGACATACCCATTGGTGCAGGTATATGCGCTAGTTATCAGACTCAGACTAATTTCTCGTCG
GCGGGCAGTAGTGTAGCTAGTCAATCCTCATTGCCTACACTATGTCACCTGGTGCAGAAAA
TTCAGTTGCTTACTCTAATAACTCTATTGCCATACCCACAAATTTTACTATTAGTGTACCA
CAGAAATTTCTACCAGTGTCTATGACCAAGACATCAGTAGATTGTACAATGTACATTTGTGGT
GATTCAACTGAATGCAGCAATCTTTTGTGCAATATGGCAGTTTTTGTACACAATTAACCG
TGCTTTAACTGGAATAGCTGTTGAACAAGACAAAAACCCCAAGAAGTTTTTGCACAAGTCA
AACAAATTTACAAAACACCACCAATTAAGATTTTTGGTGGTTTTAATTTTTTACAAATATTA
CCAGATCCATCAAACCAAGCAAGAGGTCAATTTATTGAAGATCTACTTTTCAAACAAAGTGAC
ACTTGCAGATGCTGGCTTCATCAAACAATATGGTGATTGCCCTGGTGATATTGCTGCTAGAG
ACCTCATTTGTGCACAAAAGTTTAAACGGCCTTACTGTTTTGCCACCTTTGCTCACAGATGAA
ATGATTGCTCAATACACTTCTGCACTGTTAGCGGGTACAATCACTTCTGGTTGGACCTTTGG
TGCAGGTGCTGCATTACAAATACCATTTGCTATGCAAATGGCTTATAGGTTTAAATGGTATTG
GAGTTACACAGAATGTTCTCTATGAGAACCAAAAATTGATTGCCAACCAATTTAATAGTGCT
ATTGGCAAAATTCAGACTCACTTTCTTCCACAGCAAGTGCACCTGGAAAACCTTCAAAATGT
GGTCAACCAAAATGCACAAGCTTTAAACACGCTTGTTAAACAACCTTAGCTCCAATTTTGGTG
CAATTTCAAGTGTTTTTAAATGATATCCTTTACAGTCTTGACAAAGTTGAGGCTGAAGTGCAA
ATTGATAGGTTGATCACAGGCAGACTTCAAAGTTTTGCAGACATATGTGACTCAACAATTAAT

TAGAGCTGCAGAAATCAGAGCTTCTGCTAATCTTGCTGCTACTAAAATGTCAGAGTGTGTAC
TTGGACAATCAAAAAGAGTTGATTTTTGTGGAAAGGGCTATCATCTTATGTCCTTCCCTCAG
TCAGCACCTCATGGTGTAGTCTTCTTGCATGTGACTTATGTCCCTGCACAAGAAAAGAACTT
CACAACTGCTCCTGCCATTTGTGATGATGGAAAAGCACACTTTCCTCGTGAAGGTGTCTTTG
TTTCAAAATGGCACACACTGGTTTGTAAACACAAAGGAATTTTTATGAACCACAAATCATTACT
ACAGACAACACATTTGTGTCTGGTAACTGTGATGTTGTAATAGGAATTGTCAACAACACAGT
TTATGATCCTTTGCAACCTGAATTAGACTCATTCAAGGAGGAGTTAGATAAATATTTTAAGA
ATCATACTACTAGATGTTGATTTAGGTGACATCTCTGGCATTAAATGCTTCAGTTGTAAAC
ATTCAAAAAGAAATTGACCGCTCAATGAGGTTGCCAAGAATTTAAATGAATCTCTCATCGA
TCTCCAAGAATTGGAAAGTATGAGCAGTATATAAAATGGCCATGGTACATTTGGCTAGGTT
TTATAGCTGGCTTGATTGCCATAGTAATGGTGACAATTATGCTTTGCTGTATGACCAGTTGC
TGTAGTTGTCTCAAGGGCTGTTGTTCTTGTGGATCCTGCTGCAAATTTGATGAAGACGACTC
TGAGCCATTGCTCAAAGGAGTCAAATTACATTACACATAAACGAACCTTATGGATTTGTTTAT
GAGAATCTTACAAATTGGAACCTGTAACCTTTGAAGCAAGGTGAAATCAAGGATGCTACTCCTT
TAGATTTTGTTCGCGCTACTGCAACGATACCGATACAAGCCTCACTCCCTTTCGGATGGCTT
ATTGTTGGCGTTGCACTTCTTGTCTGTTTTTTCAGAGCGCTTCCAAAATCATAACCCTCAAAA
GAGATGGCAACTAGCACTCTCAAGGGTGTTCACCTTTGTTTGCAACTTGCTGTTGTTGTTG
TAACAGTTTACTCACACCTTTTGTCTGTTGCTGCTGGCCTTGAAGCCCCTTTTCTCTATCTT
TATGCTTTAGTCTACTTCTTGCAGAGTATAAACTTTGTAAGAATAATAATGAGGCTTTGGCT
TTGCTGGAAATGCCGTTCCAAAAACCATTACTTTATGATGCCAACTATTTTTCTTTGCTGGC
ATACTAATTGTTACGACTATTGTATACCTTACAATAGTGTAACCTTCTTCAATTGTCATTACT
TCAGGTGATGGCACAACAAGTCTTATTTCTGAACATGACTACCAGATTGGTGGTTATACTGA
AAAATGGGAATCTGGAGTAAAAGACTGTGTTGTATTACACAGTTACTTCACTTCAGACTATT
ACCAGCTGTACTCAACTCAATTGAGTACAGACACTGGTGTGTAACATGTTACCTTCTTCATC
TACAATAAAATTTGTTGATGAGCCTGAAGAACATGTCCAAATTCACACAATCGACGGTTCATC
CGGAGTTGTTAATCCAGTAATGGAACCAATTTATGATGAACCGACGACGACTACTAGCGTGC
CTTTGTAAGCACAAAGCTGATGAGTACGAACCTTATGTAATCATTCGTTTCGGAAGAGACAGGT
ACGTTAATAGTTAATAGCGTACTTCTTTTTCTTGTCTTTCGTGGTATTCTTGTAGTTACT
AGCCATCCTTACTGCGCTTCGATTGTGTGCGTACTGCTGCAATATTGTTAACGTGAGTCTTG
TAAAACCTTCTTTTTTACGTTTACTCTCGTGTAAAAATCTGAATCTTCTAGAGTTCCTGAT
CTTCTGGTCTAAACGAACATAAATATATATTAGTTTTTCTGTTTGGAACTTTAATTTTAGCC
ATGGCAGATTCCAACGGTACTATTACCGTTGAAGAGCTTAAAAAGCTCCTTGAACAATGGAA
CCTAGTAATAGGTTTCCCTATTCCCTTACATGGATTTGTCTTCTACAATTTGCCTATGCCAACA
GGAATAGGTTTTTGTATATAATTAAGTTAATTTTCTCTGGCTGTTATGGCCAGTAACTTTA
GCTTGTTTTGTGCTTGCTGCTGTTTACAGAATAAATTGGATCACCGGTGGAATTGCTACCGC
AATGGCTTGTCTTGTAGGCTTGATGTGGCTCAGCTACTTCAATTGCTTCTTTCAGACTGTTTG
CGCGTACGCTTCCATGTGGTCATTCAATCCAGAACTAACATCTTCTCAACGTGCCACTC
CATGGCACTATTCTGACCAGACCGCTTCTAGAAAGTGAACCTCGTAATCGGAGCTGTGATCCT
TCGTGGACATCTTCGTATTGCTGGACACCATCTAGGACGCTGTGACATCAAGGACCTGCCTA
AAGAAATCACTGTTGCTACATCACGAACGCTTTCTTATTACAAATTTGGGAGCTTCGCAGCGT
GTAGCAGGTGACTCAGGTTTTGCTGCATACAGTCGCTACAGGATTGGCAACTATAAATTA
CACAGACCATTCCAGTAGCAGTGACAATATTGCTTTGCTTGTACAGTAAGTGACAACAGATG
TTTTCATCTCGTTGACTTTTCAAGTTACTATAGCAGAGATATTACTAATTATTATGAGGACTTT
TAAAGTTTCCATTTGGAATCTTGATTACATCATAAACCTCATAATTAATAAATTTATCTAAGT
CACTAACTGAGAATAAATATTCTCAATTAGATGAAGAGCAACCAATGGAGATTGATTAAACG
AACATGAAAATTATTCTTTTCTTGGCACTGATAACACTCGCTACTTGTGAGCTTTATCACTA
CCAAGAGTGTGTTAGAGGTACAACAGTACTTTTTAAAAGAACCTTGCTCTTCTGGAACATACG
AGGGCAATTCACCATTTTCTCTTAGCTGATAACAAATTTGCACTGACTTGCTTTTAGCACT
CAATTTGCTTTTGTCTTGTCTGACGGCGTAAAACACGTCTATCAGTTACGTGCCAGATCAGC
TTCACCTAACTGTTTTCATCAGACAAGAGGAAGTTCAAGAACTTTACTCTCCAATTTTTCTTA

TTGTTGCGGCAATAGTGTTTATAACACTTTGCTTCACACTCAAAGAAAGATAGAATGATTG
AACTTTCATTAATTGACTTCTATTTGTGCTTTTTAGCCTTCTGCTATTCCTTGTTTTAATT
ATGCTTATTATCTTTTGGTTCTCACTTGAAGTCAAGATCATAATGAAATTTGTCACGCCTA
AACGAACATGAAATTTCTTGTTTTCTTAGGAATCATCACAACCTGTAGCTGCATTTACCAAG
AATGTAGTTTACAGTCATGTACTCAACATCAACCATATGTAGTTGATGACCCGTGTCTTATT
CACTTCTATTCATAAATGGTATATTAGAGTAGGAGCTAGAAAATCAGCACCTTTAATTGAATT
GTGCGTGGATGAGGCTGGTTCTAAATCACCCATTCACTACATCGATATCGGTAATTATACAG
TTTCTGTTTACCTTTTACAATTAATTGCCAGGAACCTAAATGGGTAGTCTTGTAGTGCCT
TGTTGCTTCTATGAAGACTTTTTAGAGTATCATGACGTTCTGTTGTTTTAATCTAAACGAA
CAAATAAATGTCTGATAATGGACCCCAAATCAGCGAAATGCACCCCGCATTACGTTTGGT
GGACCTCAGATTCAACTGGCAGTAACCAGAATGGAGAACGCAGTGGGGCGCGATCAAAAACA
ACGTCGGCCCCAAGGTTTACCCAATAATACTGCGTCTTGGTTCACCGCTCTCACTCAACATG
GCAAGGAAGGCCTTAAATTCCCTCGAGGACAAGGCGTTCCAATTAACACCAATAGCAGTCCA
GATGACCAAATTTGGCTACTACCGAAGAGCTACCAGACGAATTCGTGGTGGTGACGGTAAAT
GAAAGATCTCAGTCCAAGATGGTATTTCTACTACCTAGGAACTGGGCCAGAAGCTGGACTTC
CCTATGGTGCTAACAAAGACGGCATCATATGGGTTGCAACTGAGGGAGCCTTGAATACACCA
AAAGATCACATTTGGCACCCGCAATCCTGCTAACAAATGCTGCAATCGTGCTACAACCTCCTCA
AGGAACAACATTTGCCAAAAGGCTTCTACGCAGAAGGGAGCAGAGGGCGGCAGTCAAGCCTCTT
CTCGTTCTCATCACGTAGTCGCAACAGTTCAAGAAATTCAACTCCAGGCAGCAGTATGGGA
ACTTCTCCTGCTAGAATGGCTGGCAATGGCTGTGATGCTGCTCTTGCTTTGCTGCTGCTTGA
CAGATTGAACCAGCTTGAGAGCAAAATGTCTGGTAAAGGCCAACAAACAAGGCCAAACTG
TCACTAAGAAATCTGCTGCTGAGGCTTCTAAGAAGCCTCGGCAAAAACGTAAGTCCACTAAA
GCATACAATGTAACACAAGCTTTCGGCAGACGTGGTCCAGAACAACCCAAGGAAATTTTGG
GGACCAGGAACATAATCAGACAAGGAAGTGTACAAACATTTGGCCGCAATTTGCACAATTTGC
CCCCAGCGCTTACGCTTCTTCGGAATGTGCGCATTTGGCATGGAAGTACACCTTCGGGAA
CGTGGTTGACCTACACAGGTGCCATCAAATTTGGATGACAAAAGATCCAAATTTCAAAGATCAA
GTCATTTTGCTGAATAAGCATATTGACGCATACAAAACATTTCCACCAACAGAGCCTAAAAA
GGACAAAAAGAAGAAGGCTTATGAAACTCAAGCCTTACTGCAGAGACAGAAGAAACAGCAAA
CTGTGACTCTTCTTCTGCTGCAGATTTGGATGATTTCTCCAAACAATTGCAACAATCCATG
AGCAGTGCTGACTCAACTCAGGCCTAAACTCATGCAGACCACACAAGGCAGATGGGCTATAT
AAACGTTTTCGCTTTTCCGTTTACGATATATAGTCTACTCTTGTGCAGAATGAATTTCTCGTA
ACTACATAGCACAAAGTAGATGTAGTTAACTTTAATCTCACATAGCAATCTTTAATCAGTGTG
TAACATTAGGGAGGACTTGAAAAGAGCCACCACATTTTACCAGGACCCTCGGAGTACGATC
GAGTGTACAGTGAACAATGCTAGGGAGAGCTGCCTATATGGAAGAGCCCTAATGTGTAATAAT
TAATTTTAGTAGTGCTATCCCCATGTGATTTAATAGCTTCTTAG

Lampiran 3 : Hasil mapping referensi dengan sampel SARS-CoV-2



Lampiran 4 : Form penyelidikan epidemiologi

DATA PASIEN PEMANTAUN EPIDEMIOLOGI COVID-19

Nama Lengkap : AS
Tanggal Lahir : 02-11-1961 (60 tahun)
Jenis Kelamin : Laki-laki
Diagnosa Pasien : selesai isolasi (pasien konfirmasi)
Tanggal Kontak : 29-07-2021
Tanggal PE : 02-08-2021
Status PE : Pasien ditemukan dan isolasi
Tanggal Masuk RS : 02-08-2021
Tanggal Swab : 02-08-2021

Laporan Hasil :

- Petugas melakukan penyelidikan epidemiologi dan pemantauan pasien Covid atas nama AS. Responden pasien sendiri.
- Pasien kontak konfirmasi/suspek/probable covid dalam 14 hari terakhir.
- Pasien tidak berkunjung ke luar kota dalam 14 hari terakhir.
- Tidak ada riwayat alergi obat, kormobid atau riwayat penyakit lainnya.
- Tgl 28/07/2021 pasien mengeluh batuk, sakit tenggorokan, pilek, lesu, dan sakit kepala.
- 02/08/2021 pasien lalu periksa dengan hasil positif.
- Diberikan terapi KLB-Azithromycin 500 Mg (5 : 1x1), KLB-Multivitamin Tab (14 : 1x1).

Kontak Erat :

1. RAG / NIK.RAG / 09-08-1954 / Istri / Ibu Rumah Tangga / TAK / Antigen Negatif
2. PL / NIK.PL / 21-07-1989 / anak / pegawai swasta / TAK / Antigen Negatif

DATA PASIEN PEMANTAUN EPIDEMIOLOGI COVID-19

Nama Lengkap : KI
Tanggal Lahir : 29-11-1981 (40 tahun)
Jenis Kelamin : Perempuan
Diagnosa Pasien : selesai isolasi (pasien konfirmasi)
Tanggal Kontak : 25-08-2021
Tanggal PE : 28-08-2021
Status PE : Pasien ditemukan dan isolasi
Tanggal Masuk RS : 26-08-2021
Tanggal Swab : 26-08-2021

Laporan Hasil :

- Petugas melakukan penyelidikan epidemiologi dan pemantauan pasien Covid atas nama KI. Responden pasien sendiri.
- Pasien kontak konfirmasi/suspek/probable covid dalam 14 hari terakhir.
- Pasien tidak berkunjung ke luar kota dalam 14 hari terakhir.
- Tidak ada riwayat alergi obat, kormobid atau riwayat penyakit lainnya.
- Tgl 24/08/2021 pasien mengeluh batuk, radang tenggorokan
- Tgl 26/08/2021 pasien periksa antigen dan dilanjutkan swab PCR dengan hasil positif.
- Diberikan terapi KLB-Azithromycin 500 Mg (5 : 1x1), KLB-Multivitamin Tab (14 : 1x1).

Kontak Erat :

1. BUL/ NIK.BUL/ 28-10-1979 / Suami / Wiraswasta / TAK / Antigen Negatif
2. MIK / NIK.MIK / 09-01-2000 / anak / pelajar / TAK / Antigen Negatif

DATA PASIEN PEMANTAUN EPIDEMIOLOGI COVID-19

Nama Lengkap : KI
Tanggal Lahir : 29-11-1981 (40 tahun)
Jenis Kelamin : Perempuan
Diagnosa Pasien : selesai isolasi (pasien konfirmasi)
Tanggal Kontak : 25-08-2021
Tanggal PE : 28-08-2021
Status PE : Pasien ditemukan dan isolasi
Tanggal Masuk RS : 26-08-2021
Tanggal Swab : 26-08-2021

Laporan Hasil :

- Petugas melakukan penyelidikan epidemiologi dan pemantauan pasien Covid atas nama KI. Responden pasien sendiri.
- Pasien kontak konfirmasi/suspek/probable covid dalam 14 hari terakhir.
- Pasien tidak berkunjung ke luar kota dalam 14 hari terakhir.
- Tidak ada riwayat alergi obat, kormobid atau riwayat penyakit lainnya.
- Tgl 24/08/2021 pasien mengeluh batuk, radang tenggorokan
- Tgl 26/08/2021 pasien periksa antigen dan dilanjutkan swab PCR dengan hasil positif.
- Diberikan terapi KLB-Azithromycin 500 Mg (5 : 1x1), KLB-Multivitamin Tab (14 : 1x1).

Kontak Erat :

1. BUL/ NIK.BUL/ 28-10-1979 / Suami / Wiraswasta / TAK / Antigen Negatif
2. MIK / NIK.MIK / 09-01-2000 / anak / pelajar / TAK / Antigen Negatif