

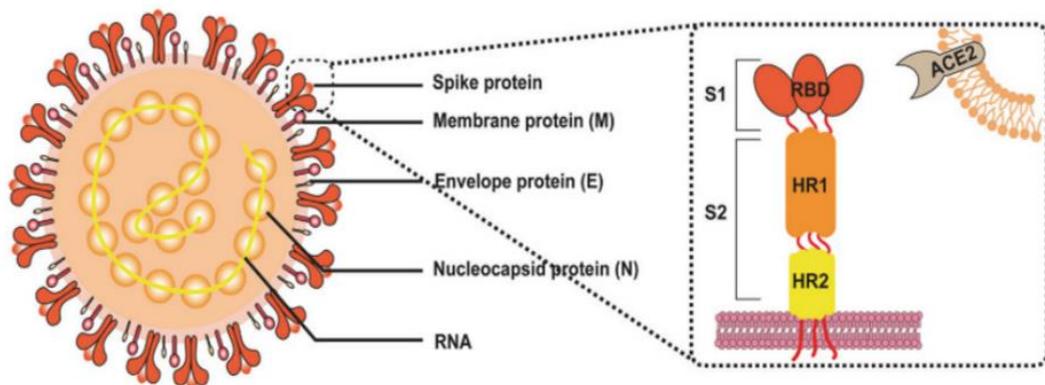
BAB II TINJAUAN PUSTAKA

A. Tinjauan Teori

1. Coronavirus

Corona virus merupakan anggota dari famili Coronaviridae dengan materi genetik berupa *positive sense single-stranded* RNA dengan Panjang genom 26 – 32 kilobase. Virus ini merupakan salah satu virus yang memiliki genom paling panjang. Terdapat 4 genus famili Coronaviridae, yaitu Alphacoronavirus, Betacoronavirus, Deltacoronavirus, dan Gammacoronavirus.

a. Struktur Coronavirus



Sumber: Susilo *et al*, 2022

Gambar 2.1 Struktur SARS-CoV-2

Protein Struktural SARS-CoV-2 yaitu dikodekan sebagai gen *Spike* (S), *Envelope* (E), *Membrane* (M), dan *Nucleocapsid* (N). Beberapa gen dari SARS-CoV-2 diantaranya yaitu:

- 1) ORF1ab (*Open Reading Frame 1 ab*), yaitu diantaranya mengode polypeptid dan nsp12 (*RNA-dependent RNA polymerase*) atau RdRp
- 2) *Spike* (S), yaitu terdapat domain S1 dan S2 dan mengode S protein. Gen ini disebut dengan *Receptor Binding Domain* (RBD). ACE-2 atau *Angiotensin Converting Enzyme-2* merupakan salah satu reseptor yang diketahui menjadi tempat pelekatan SARS-CoV-2 ke sel inangnya.
- 3) *Envelope* (E), yaitu mengode protein E

- 4) *Membrane (M)*, yaitu mengode protein M
- 5) *Nukleokapsid (N)*, yaitu mengode protein N
- 6) ORF3a, ORF6, ORF7a, dan ORF8, yaitu mengode 6 protein aksesoris (Su *et al*, 2016).

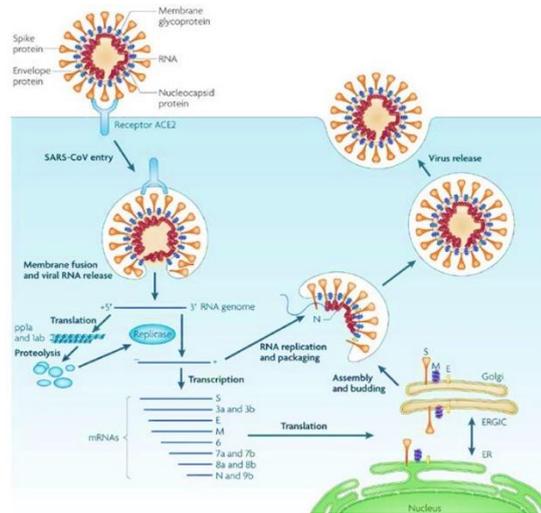
b. Gejala Umum

Sejak awal infeksi, virus sudah dapat ditularkan ke orang lain melalui droplet. Masa inkubasi SARS-CoV-2 mulai dari 2 sampai 14 hari. Terdapat beberapa gejala akibat infeksi COVID-19 seperti asimtomatis (tanpa gejala), ringan, berat, hingga dapat menimbulkan kematian. Gejala yang umum diantaranya yaitu demam, kesulitan bernapas, batuk kering, pusing, dan pada beberapa kasus yang lebih parah ditandai dengan pneumonia, kerusakan alveolar dan infiltrasi pada paru-paru. Setiap orang yang terinfeksi SARS-CoV-2 dapat berpotensi menularkan meskipun tanpa gejala (Agustiningsih. 2020).

c. Patogenesis

COVID-19 mempunyai glikoprotein pada enveloped spike atau protein S. Untuk dapat meninfeksi manusia protein S virus akan berikatan dengan reseptor ACE2 pada plasma membran sel tubuh manusia. Di dalam sel, virus ini akan menduplikasi materi genetik dan protein yang dibutuhkan dan akan membentuk virion baru di permukaan sel. Sama halnya SARS-CoV setelah masuk ke dalam sel selanjutnya virus ini akan mengeluarkan genom RNA ke dalam sitoplasma dan golgi sel kemudian akan ditranslasikan membentuk dua lipoprotein dan protein struktural untuk dapat bereplikasi. Faktor virus dengan respon imun menentukan keparahan dari infeksi COVID-19 ini. Efek sitopatik virus dan kemampuannya dalam mengalahkan respon imun merupakan faktor keparahan infeksi virus. Sistem imun yang tidak adekuat dalam merespon infeksi juga menentukan tingkat keparahan, di sisi lain respon imun yang berlebihan juga ikut andil dalam kerusakan jaringan. Saat virus masuk ke dalam sel selanjutnya antigen virus akan dipresentasikan ke Antigen Presentation Cell (APC). Presentasi sel ke APC akan merespon sistem imun humoral dan seluler yang dimediasi oleh sel T dan sel B. IgM dan IgG terbentuk dari sistem imun humoral. Pada SARS-CoV IgM akan hilang pada hari ke 12 dan IgG akan bertahan lebih lama. Virus dapat menghindar dari

sistem imun dengan cara menginduksi vesikel membran ganda yang tidak mempunyai pattern recognition receptors (PRRs) dan dapat bereplikasi di dalam vesikel tersebut sehingga tidak dapat dikenali oleh sel imun (Levani *et al.*, 2021).



Sumber: Haq, 2021

Gambar 2.2 Patogenesis COVID-19

Cara paling umum penularan SARS-CoV-2 adalah dengan cara kontak langsung dengan jarak dekat (kurang dari satu meter) melalui sekresi droplet pernapasan, misalnya air liur. Penularana juga dapat terjadi melalui udara (*airbone transmission*) apabila melakukan prosedur yang mengakibatkan timbulnya aerosol, seperti intubasi trackhea, bronkoskopi dan pemberian tekanan pada dada saat resusitasi jantung paru pada ruang tindakan medis dengan ventilasi yang buruk. Selanjutnya penularan terjadi secara kontak tidak langsung, yaitu apabila tangan menyentuh permukaan yang terkontaminasi virus kemudian secara langsung memegang hidung/mulut/mata. Lama bertahan virus di lingkungan bergantung kepada jenis permukaan materi, namun setidaknya dapat bertahan 2 jam sampai 9 hari.

Pemeriksaan berbasis materi genetik virus dan antigen/antibodi individu menjadi salah satu metode yang dapat digunakan untuk mendeteksi SARS-CoV-2. Beberapa metode deteksi yang dapat digunakan antara lain:

2. Deteksi Antigen/Antibodi

Deteksi antigen/anitobdi dapat dilakukan dengan metode tes scepat atau *Rapid Diagnostic Test*. Swab nasofaring dapat menjadi sampel yang digunakan

untuk metode deteksi cepat antigen. Untuk pemeriksaan antibodi, sampel yang dapat digunakan adalah serum darah atau darah lengkap (*whole blood*). Metode ini dapat mendeteksi adanya antibodi IgG dan/atau IgM. Beberapa kelebihan pemeriksaan deteksi cepat ini yaitu waktu pemeriksaannya yang singkat 15 – 30 menit, biaya relatif murah dan cara pengerjaan mudah, dan tidak memerlukan fasilitas laboratorium khusus.

3. Deteksi Asam Nukleat atau Materi Genetik

Metode ini digunakan untuk mendeteksi materi genetik atau asam nukleat virus. Metode yang biasa digunakan dalam mendeteksi asam nukleat antara lain metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dan sekuensing. Beberapa kelemahan metode ini yaitu memerlukan beberapa tahapan persiapan sampel, memerlukan staff yang terlatih dan juga harus dilakukan di fasilitas laboratorium minimal BSL-2. Sedangkan kelebihan dari metode ini yaitu waktu pengerjaan yang relatif cepat sekitar 4 – 6 jam, metode yang sensitive dan spesifik, dan juga dapat mendeteksi virus sejak awal masa infeksi atau inkubasi.

a. *Polymerase Chain Reaction* (PCR)

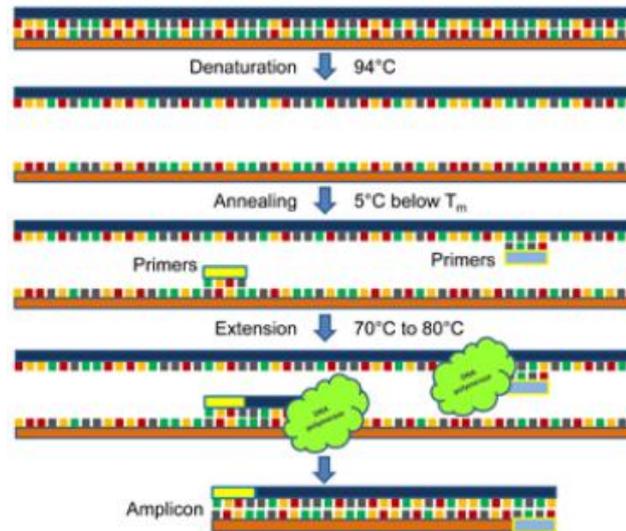
PCR merupakan metode perbanyakan template DNA atau *complementary* DNA (cDNA) secara *in vitro* dengan menggunakan enzim *Taq Polymerase*. Secara umum, beberapa komponen yang dibutuhkan untuk metode dan proses PCR adalah sebagai berikut:

- 1) *Taq Polymerase*: yaitu berfungsi untuk membentuk untai DNA komplementer pada *template* DNA. Merupakan enzim DNA *polymerase* I yang bersifat stabil dalam rentang suhu yang beragam.
- 2) $MgCl_2$: berfungsi sebagai penyedia ion yang diperlukan untuk reaksi enzimatik.
- 3) *dNTP's* (*deoxynucleotide triphosphates*): yaitu bahan Nukleotida untuk membentuk untai DNA baru yang berisi *adenin*, *cytosine*, *guanine* dan *thymine*.
- 4) *Buffer*: untuk memelihara pH optimal untuk kerja enzim
- 5) *Primers*: merupakan komplemen yang spesifik terhadap DNA target, berupa oligonukleotida pendek.
- 6) *Template* DNA: yaitu DNA atau cDNA yang akan diperbanyak atau

diampifikasi.

b. Proses PCR

Untuk mendapatkan DNA amplicon, proses amplifikasi DNA terdiri atas beberapa siklus berulang, umumnya 30 sampai 40 siklus. Beberapa tahap dalam satu siklus PCR dapat dilihat pada gambar berikut:



Sumber: Lorenz, 2012

Gambar 2.3 Prinsip Pemeriksaan PCR

1) Denaturasi

Yaitu proses pemanasan untuk memisahkan untai ganda DNA menjadi untai tunggal. Pada umumnya suhu yang diperlukan berkisar 90° – 95°C selama 60 detik.

2) Annealing

Yaitu penempelan primer Reverse dan Forward pada untai tunggal DNA target. Umumnya suhu yang digunakan yaitu 50° sampai 60°C dengan waktu 30 – 45 detik

3) Elongasi

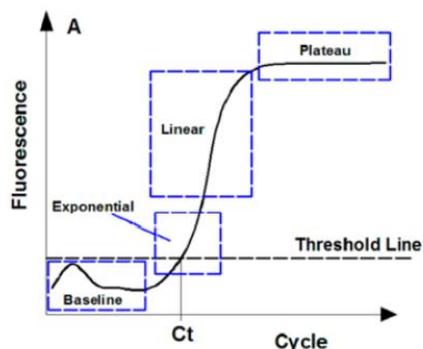
Yaitu perpanjangan untai DNA baru oleh enzim *Taq Polymerase* menggunakan *dNTP's* (*adenine, cytosine, guanine* dan *thymine*). Umumnya suhu yang digunakan adalah 72°C dengan waktu 1-2 menit.

Urutan basa nukleotida yang diampifikasi dalam satu siklus PCR akan menjadi dua kali jumlah awal, sehingga diperoleh 2^n kali DNA target dalam setiap n siklus PCR. Metode ini cukup sensitif dengan memerlukan waktu yang

singkat dan dapat menghasilkan jutaan kopi salinan DNA (*amplicon*).

4. Real Time RT-PCR atau rRT-PCR

rRT-PCR adalah teknik amplifikasi DNA menggunakan *fluorogenic probe* pada setiap siklusnya sehingga produk amplifikasi dapat langsung dianalisis. Pada jenis PCR ini, *thermal cycler* dilengkapi oleh detektor yang membaca sinyal fluoresensi menjadi sinyal digital dan dapat dianalisis oleh komputer, sehingga tidak memerlukan proses elektroforesis untuk interpretasi hasil. Kelebihan dari PCR ini yaitu waktu pengerjaan yang lebih cepat dan memiliki sensitifitas tinggi, sedangkan kekurangannya yaitu memerlukan *thermal cycler* yang dilengkapi kamera detektor sehingga memerlukan biaya yang relatif lebih mahal. Hasil akhir rRT-PCR adalah berupa nilai *Cycle Treshold* (CT), yaitu perpotongan antara garis *threshold* dan kurva amplifikasi. Nilai CT ditentukan oleh sinyal *fluorescence* yang terdeteksi di atas *threshold*. Garis *threshold* merupakan garis yang berada di atas *baseline* sinyal *fluorescence*. Penentuan hasil positif dan negatif berdasarkan CT yang terdeteksi, oleh karena itu metode rRT-PCR ini masih bersifat kualitatif. Sampel dengan nilai CT dibawah *cut off* menandakan target virus ada di dalam sampel yang diamplifikasi, sedangkan sampel dengan nilai CT di atas *cut off* atau tidak terbentuk kurva amplifikasi diartikan sebagai tidak ditemukannya target virus di dalam sampel tersebut. Semakin rendah nilai CT, maka semakin awal sinyal terdeteksi, dan semakin banyak pula DNA *template* yang terkopi (Agustiningsih. 2020).



Sumber: Kementerian Kesehatan RI, 2020

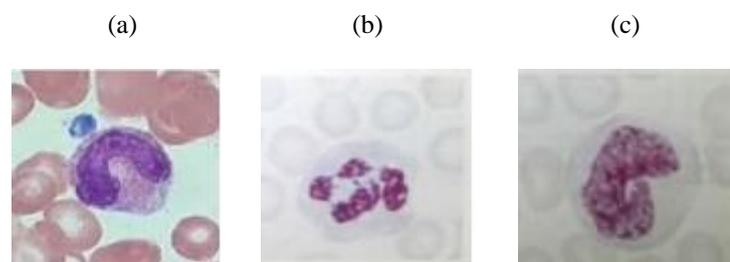
Gambar 2.4 Kurva amplifikasi dan *Cycle Treshold* (CT)

5. Neutrofil

Pada infeksi akut, neutrofil memegang peranan sebagai pertahanan tubuh yang pertama. Saat terdapat inflamasi dan infeksi jaringan, neutrofil memiliki respon lebih cepat daripada leukosit lainnya. Neutrofil yang matang atau matur disebut neutrofil segmen, sedangkan neutrofil stab merupakan neutrofil yang imatur atau belum matang dan dapat memperbanyak sel lebih cepat pada infeksi akut. Pada darah perifer, neutrofil merupakan sel yang jumlahnya paling banyak dan memiliki masa hidup 10 jam di dalam sirkulasi darah. Neutrofil masuk ke jaringan dengan cara bermigrasi sebagai respon terhadap faktor kemotaktik, serta berperan dalam proses destruksi, fagositosis dan migrasi.

6. Limfosit

Limfosit berasal dari sel stem hemopoietik dan merupakan komponen penting pada respon imun. Sebagai perantara imunitas seluler, sel stem limfoid umumnya mengalami diferensiasi dan proliferasi menjadi sel B (sebagai perantara imunitas humoral atau imunitas yang diperantarai antibodi) dan sel T (diproses dalam timus). Limfosit yang matang atau matur akan berupa sel monokuler kecil dengan sitoplasma kebiruan. Limfosit yang berada pada perifer sebagian besar merupakan sel T (70%), memiliki sitoplasma dan granula yang lebih banyak dibandingkan dengan sel B. Proses maturnya limfosit utamanya terjadi pada sumsum tulang (sel B) dan di dalam timus sel (sel T), juga melibatkan kelenjar getah bening, limpa, hati, dan sistem retikuloendotelial (RES) yang lainnya (Aliviameita, 2019).



Sumber: Aliviameita, 2019

Gambar 2.5 (a) Neutrofil segmen; (b) Neutrofil stab; (c) Limfosit

7. *Neutrophil Lymphocyte Ratio (NLR)*

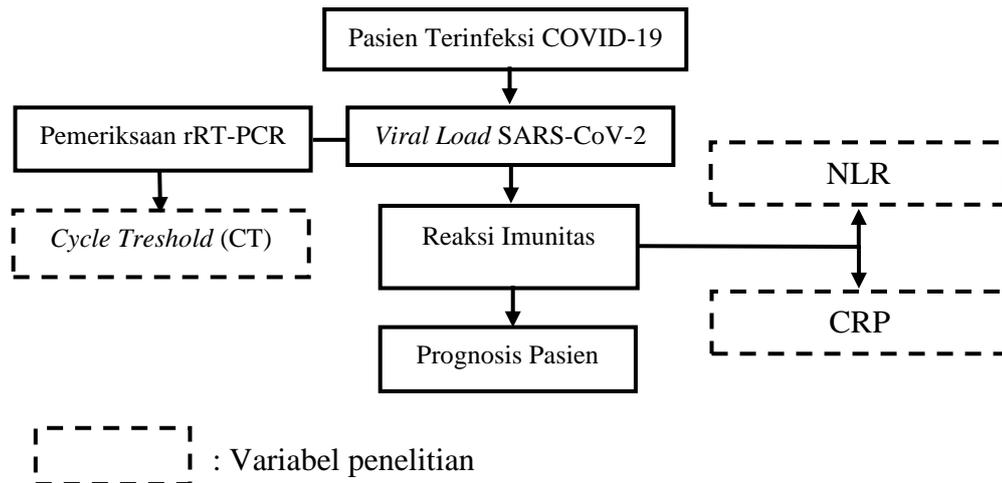
NLR atau rasio neutrofil limfosit secara luas digunakan sebagai penentu pasien dengan pneumonia yang disebabkan oleh virus dan merupakan salah satu indikator adanya respon inflamasi. Parameter ini dapat menggambarkan proses inflamasi yang meningkat dan dapat berkaitan dengan prognosis yang buruk, oleh karenanya secara signifikan berhubungan dengan keparahan penyakit. Neutrofil melepaskan ROS (*Reactive Oxygen Species*) dalam jumlah besar yang menyebabkan virus bebas keluar dari sel dan menginduksi kerusakan dari DNA sel, yang kemudian akan memicu imunitas humoral. Virus dapat dibunuh secara langsung oleh ADCC (*Antibody-Dependent Cell-Mediated Cell*). Disisi lain, respon imun yang disebabkan oleh virus banyak bergantung pada limfosit, dimana imunitas seluler ditekan oleh inflamasi sistemik, yang secara signifikan menurunkan kadar CD4+ limfosit T dan meningkatkan CD8+ yang menekan limfosit T. Oleh karena itu, rasio neutrofil-limfosit dapat meningkat dipicu dari inflamasi yang disebabkan oleh virus (Amanda, 2020). Nilai NLR didapat dari hasil pembagian nilai neutrofil dan limfosit dalam bentuk nilai absolut atau presentase. Terdapat dua kategori hasil pemeriksaan NLR, yaitu beresiko ($NLR > 3,3$) dan tidak beresiko ($NLR < 3,3$) (Pramana, 2021). Pada pasien COVID-19, ditemukan peningkatan jumlah neutrofil dan penurunan jumlah limfosit. Nilai NLR yang tinggi ditemukan pada pasien yang tidak bertahan dan bergejala parah bila dibandingkan dengan pasien dengan gejala ringan. Peningkatan jumlah neutrofil menunjukkan intensitas respon inflamasi, sedangkan penurunan jumlah limfosit menunjukkan kerusakan sistem kekebalan tubuh (Mus, 2020).

8. *C-Reactive Protein (CRP)*

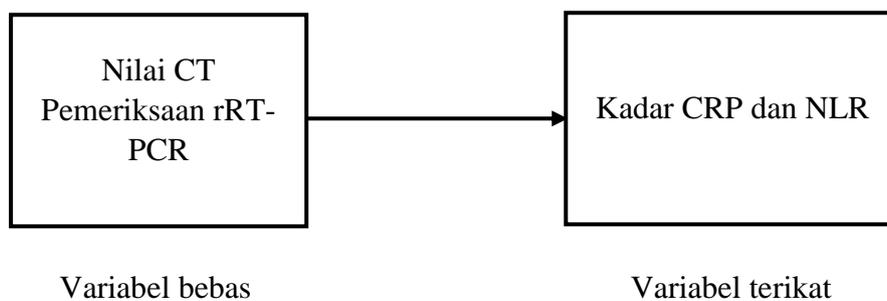
CRP adalah salah satu protein fase akut, sebagai respon imunitas nonspesifik yang kadarnya akan meningkat dalam darah pada reaksi inflamasi. Terdapat beberapa protein fase akut lainnya yang berperan dalam respon inflamasi tetapi dibentuk lebih lambat daripada CRP, antara lain α 1-antitripsin dan amyloid serum A. Protein ini dibentuk di hati dengan kendali transkripsi sitokin inflamasi TNF- α , IL-1 dan IL-6. CRP merupakan indikator inflamasi yang tidak spesifik, namun paling sensitif saat ini. Indikator ini penting

digunakan untuk memantau perubahan yang terjadi dalam fase inflamasi akut yang dihubungkan dengan penyakit infeksi (peradangan) dan penyakit autoimun. Kadar normal CRP adalah < 10 mg/L. Peningkatan kadar CRP oleh karena infeksi virus berkisar $10 - 40$ mg/L, infeksi bakteri $40 - 200$ mg/L dan untuk beberapa kasus berat oleh bakteri atau luka bakar didapat kadar > 200 mg/L (Setyowatie *et al*, 2016).

B. Kerangka Teori



C. Kerangka Konsep



D. Hipotesis

(**H_a**) = Ada korelasi antara nilai CT pemeriksaan rRT-PCR terhadap kadar CRP dan NLR pada pasien COVID-19.