

**ANALISIS KADAR PROTEIN NATURAL RESISTANCE ASSOCIATED  
MACROPHAGE PROTEIN-1 (NRAMP-1) BERDASARKAN TINGKAT  
KEPARAHAN, KOMORBID DAN KEMATIAN PADA PENDERITA  
COVID-19**



**RESSY DWIYANTI  
C095 191 001**

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS  
FORENSIK DAN MEDIKOLEGAL  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2023**

**ANALISIS KADAR PROTEIN NATURAL RESISTANCE ASSOCIATED  
MACROPHAGE PROTEIN-1 (NRAMP-1) BERDASARKAN TINGKAT  
KEPARAHAN, KOMORBID DAN KEMATIAN PADA PENDERITA  
COVID-19**



**RESSY DWIYANTI  
C095 191 001**

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS  
FORENSIK DAN MEDIKOLEGAL  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2023**

## KARYA AKHIR

### ANALISIS KADAR PROTEIN NATURAL RESISTANCE ASSOCIATED MACROPHAGE PROTEIN-1 (NRAMP-1) BERDASARKAN TINGKAT KEPARAHAN DAN KEMATIAN PADA PENDERITA COVID-19

Disusun dan diajukan oleh:

**RESSY DWIYANTI**

Nomor Pokok: C095191001

Telah dipertahankan didepan Panitia Ujian Tesis

Pada Tanggal 13 Maret 2023

Dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui  
Komisi Penasehat

Pembimbing Utama

Dr. dr. Annisa Anwar Muthaher, S.H, M.Kes, Sp.FM  
NIP.: 19790309 200804 2 001

Pembimbing Anggota

dr. Djumadi Achmad, Sp.PA(K), Sp.FM  
NIP. : 19481015 197412 1 001

Kepala Program Studi  
Forensik dan Medikolegal FK. Unhas

Dr. dr. Annisa Anwar Muthaher, S.H, M.Kes, Sp.FM  
NIP.: 19790309 200804 2 001

Dekan Fakultas Kedokteran UNHAS

Prof. Dr. dr. Haerani Rasvid, M.Kes, Sp.PD-KGH, Sp.GK  
NIP.: 19680530 199603 2 001

## PERNYATAAN KEASLIAN PENELITIAN

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : RESSY DWIYANTI  
Nomor Mahasiswa : C095191001  
PPDS : Forensik dan Medikolegal UNHAS

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa tesis yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan tulisan atau pemikiran orang lain. Apabila dikemudian hari terbukti bahwa sebagian atau keseluruhan tesis ini karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 1 Maret 2023



RESSY DWIYANTI

## PRAKATA



Puji syukur dan rasa terima kasih sedalam-dalamnya penulis panjatkan kepada Allah SWT atas limpahan rahmat dan karuniaNya, sehingga penyusunan hasil penelitian dengan judul “Analisis kadar protein Natural Resistance Associated Macrophage Protein-1 (NRAMP-1) berdasarkan tingkat keparahan, komotbid dan kematian pada penderita Covid-19” dapat terselesaikan.

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada Dr. dr. Annisa Anwar Muthaheer SH., M. Kes, SpFM selaku ketua penasehat dan dr. Djumadi Achmad, SpPA (K), SpFM, selaku anggota penasehat yang senantiasa meluangkan waktu dan pikiran di sela-sela kesibukan dan dengan penuh kesabaran memberi bimbingan, arahan dan motivasi sehingga penulisan hasil penelitian ini dapat terselesaikan.

Rasa hormat dan terima kasih penulis sampaikan pula kepada, dr. Gunawan Arsyadi, SpPA(K), SpFM, Dr. dr. Berty J Nelwan, M. Kes, SpPA(K), SpFM, Dr. dr. Muhammad Husni Cangara, Ph. D, SpPA, DFM. selaku penguji yang telah memberikan arahan dan bimbingan yang sangat bermanfaat untuk kesempurnaan hasil penelitian ini. Rasa terima kasih penulis sampaikan pula kepada:

1. Kedua orang tua dan saudara-saudaraku yang senantiasa memberikan doa, dukungan dan motivasi selama penulis menempuh pendidikan.
2. Dr. dr. Berty J Nelwan, M. Kes, SpPA(K), SpFM, DFM selaku Ketua Departemen Forensik dan Medikolegal Universitas Hasanuddin.
3. Dr. dr. Annisa Anwar Muthaheer SH., M. Kes, SpFM selaku Ketua Program Studi Pendidikan Profesi Dokter Universitas Hasanuddin Makassar atas bimbingan dan arahan selama penulis menempuh pendidikan.
4. Dr. dr. Gatot Susilo Lawrence, M. Sc., Sp.PA. selaku guru sekaligus orang tua saya atas bimbingan dan arahan selama menempuh Pendidikan di bagian Forensik Medikolegal Universitas Hasanuddin.

5. Romi Usman, yang telah membimbing selama peneliti melakukan penelitian di Laboratorium Biologi Molekuler Universitas Hasanuddin.
6. dr. Eva Sri Diana SpP, selaku yang memberikan izin untuk menggunakan data dan sampel untuk melakukan penelitian.
7. Rekan-rekan dan teman sejawat residen forensik dan medikolegal universitas hasanuddin, atas segala bentuk bantuan dan perhatian selama perkuliahan sampai penyelesaian tesis ini.

Penulis menyadari bahwa tulisan ini jauh dari sempurna, maka dari itu kritik dan saran demi kesempurnaan tulisan ini sangat penulis harapkan. Semoga tulisan ini dapat bermanfaat adanya.

Makassar,   Maret 2023

RESSY DWIYANTI

**Pembimbing :**

Dr. dr. Annisa Anwar Muthaher SH., M. Kes, SpFM

dr. Djumadi Achmad, SpPA (K), SpFM

**Penguji :**

dr. Gunawan Arsyadi, SpPA(K), SpFM

Dr. dr. Berty J Nelwan, M. Kes, SpPA(K), SpFM, DFM

dr. Muhammad Husni Cangara, Ph.D, SpPA, DFM

## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN JUDUL</b>	i
<b>LEMBAR PENGESAHAN</b>	ii
<b>LEMBAR PERNYATAAN KEASLIAN PENELITIAN</b>	iii
<b>PRAKATA</b>	iv
<b>URUTAN PEMBIMBING DAN PENGUJI</b>	vi
<b>DAFTAR ISI</b>	vii
<b>DAFTAR TABEL</b>	ix
<b>DAFTAR GAMBAR</b>	x
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b>	xi
<b>ABSTRAK</b>	xii
<b>BAB 1. PENDAHULUAN</b>	
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	2
C. Tujuan Penelitian	2
D. Manfaat Penelitian	3
<b>BAB II. TINJAUAN PUSTAKA</b>	
A. Corona Virus (SARS COVID-19)	4
B. Makrofag	17
C. Natural Resistance Associate Macrophage Protei-1 (NRAMP-1)	21
D. ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay)	27
E. Hipotesis	28
F. Kerangka Teori	29
G. Kerangka Konsep	29
<b>BAB III. METODOLOGI PENELITIAN</b>	
A. Rancangan Penelitian	30
B. Tempat dan Waktu Penelitian	30
C. Sampel Penelitian	30
D. Alat dan Bahan	30
E. Alur Penelitian	31

F. Pemeriksaan Laboratorium	31
G. Definisi Operasional	32
H. Analisis Statistik	33
<b>BAB IV. HASIL PENELITIAN</b>	34
<b>BAB V. PEMBAHASAN</b>	40
<b>BAB VI. KESIMPULAN</b>	43
<b>BAB VII. SARAN</b>	44
<b>DAFTAR PUSTAKA</b>	45
<b>LAMPIRAN</b>	51

## **DAFTAR TABEL**

Tabel 1. Karakteristik Pasien COVID-19

Tabel 2. Perbandingan kadar protein NRAMP-1 Berdasarkan Tingkat Keparahan,  
Komorbid dan Kematian Pada Pasien Covid-19

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Struktur Corona Virus

Gambar 2. Patofisiologi Covid-19

Gambar 3. Sel Makrofag

Gambar 4. Mekanisme Kerja Makrofag

Gambar 5. Proses Fagositosis

Gambar 6. Struktur NRAMP-1

Gambar 7. Mekanisme NRAMP-1

Gambar 8. Perbandingan Kadar protein NRAMP-1 berdasarkan mati, Komorbid,

Tingkat keparahan, Perawatan dan nilai CT

A. Penderita yang meninggal dan Hidup

B. Komorbid

C. Tingkat Keparahan

D. Ruang Perawatan

E. Nilai Ct

## **DAFTAR LAMPIRAN**

1. Raw data Pasien Covid-19
2. Rekomendasi Persetujuan Komisi Etik Penelitian Kesehatan Universitas Hasanuddin
3. Surat Keterangan Ijin Penggunaan Sampel dari dr. Eva
4. Foto Dokumentasi Penelitian di Laboratorium

# ANALISIS KADAR PROTEIN *NATURAL RESISTANCE ASSOCIATED MACROPHAGE PROTEIN-1 (NRAMP-1)* BERDASARKAN TINGKAT KEPARAHAN, KOMORBID DAN KEMATIAN PADA PENDERITA COVID-19

## ABSTRAK

**Latar Belakang:** Diagnosis infeksi Coronavirus (COVID-19) yang cepat dan akurat sangat penting untuk pengendalian pandemi serta untuk menetapkan strategi terapeutik yang memadai untuk mengurangi morbiditas dan mortalitas. Infeksi COVID-19 bereplikasi pada sel makrofag dan memperaruhi sistim pertahanan tubuh.

*Natural Resistensi Associated Macrophage Protein-1 (NRAMP-1)* adalah gen yang terdapat pada mamalia dan berpengaruh dalam sistem kekebalan tubuh. NRAMP-1 merupakan gen pada makrofage intraseluler yang berlokasi pada membran phagosomal di dalam kromosom 2q35. NRAMP-1 berfungsi sebagai pengangkut ion kation yaitu  $Fe^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$  dan  $Mn^{2+}$  dan berperan penting dalam sistim imun terhadap infeksi mikroorganisme dan eliminasi bakteri maupun virus. Disamping itu fungsi NRAMP-1 untuk membatasi replikasi patogen dengan mengubah lingkungan phagolisomal.

Dengan diketahuinya kadar protein NRAMP-1 berdasarkan gejala klinis dan kematian penderita COVID-19 maka memungkinkan kadar soluble protein NRAMP-1 dipakai sebagai biomarker tambahan untuk kasus COVID-19 yang berhubungan dengan medikolegal dan penuntutan dari pasien maupun keluarga.

**Metode Penelitian:** Pemeriksaan kadar protein NRAMP-1 dengan teknik *Enzyme link-immunosorbent Assay (ELISA)* pada penderita COVID dengan gejala klinis ringan, sedang, berat dan mati.

**Hasil Penelitian:** Dari 62 pasien yang mendapat perawatan didapatkan yang meninggal sebanyak 10 pasien dengan rata-rata kadar NRAMP-1 650 ng/mL dan yang hidup 52 pasien dengan rata-rata kadar NRAMP-1 1065,26 ng/mL. Dari hasil penelitian juga ditemukan sebanyak 34 pasien terdapat komorbid dengan rata-rata kadar NRAMP-1 838,82 ng/mL dan 28 pasien tanpa komorbid dengan rata-rata kadar NRAMP-1 1191,92 ng/mL. Berdasarkan tingkat keparahan (pasien yang hidup) maka ditemukan dengan gejala ringan sebanyak 10 pasien dengan rata-rata kadar NRAMP-1 984,31 ng/mL, dengan gejala sedang sebanyak 31 pasien dengan rata-rata kadar NRAMP-1 1104,71 ng/mL dan gejala berat sebanyak 11 pasien dengan rata-rata kadar NRAMP-1 1027,71 ng/mL. Nilai  $Ct \leq 24,48$  sebanyak 28 pasien dengan rata-rata kadar NRAMP-1 1065,62 ng/mL dan nilai  $Ct > 24,48$  sebanyak 34 pasien dengan nilai rata-rata kadar NRAMP-1 994,31 ng/mL.

**Kesimpulan:** Kadar protein NRAMP-1 lebih rendah secara signifikan pada penderita COVID-19 yang meninggal dan mempunyai komorbid.

**Kata Kunci:** COVID-19, Gejala Klinis, Komorbid, Kematian, NRAMP-1, ELISA

# ANALYSIS OF NATURAL RESISTANCE ASSOCIATED MACROPHAGE PROTEIN-1 (NRAMP-1) LEVEL ON SEVERITY, COMORBID AND DEATH OF COVID-19

## ABSTRACT

**Background:** and accurate diagnosis of Coronavirus infection (COVID-19) is essential for pandemic control as well as for establishing adequate therapeutic strategies to reduce morbidity and mortality. COVID-19 infection replicates in macrophage cells and affects the immune system.

Natural Resistance Associated Macrophage Protein-1 (NRAMP-1) is a gene found in mammals and affects the immune system. NRAMP-1 is a gene on intracellular macrophages located on the phagosomal membrane on chromosome 2q35. NRAMP-1 functions as a carrier of cation ions, such as Fe<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup> and Mn<sup>2+</sup> and plays an important role in the immune system to infection with microorganisms and elimination of bacteria and viruses. In addition, the function of NRAMP-1 is to limit the replication of pathogens by changing the phagosomal environment.

Levels of NRAMP-1 protein based on clinical symptoms and deaths of COVID-19 patients, it is possible for the soluble protein NRAMP-1 level to be used as an additional biomarker for medicolegal-related COVID-19 cases and prosecutions from patients and families.

**Methods:** Examination of NRAMP-1 protein levels using the Enzyme link-immunosorbent Assay (ELISA) technique in COVID-19 patients with mild, moderate, severe clinical symptoms and death.

**Results:** Of the 62 patients who received treatment, 10 patients died with an average NRAMP-1 level of 650 ng/mL and 52 patients who lived with an average NRAMP-1 level of 1065.26 ng/mL. The results of the study also found that 34 patients had comorbidities with an average NRAMP-1 level of 838.82 ng/mL and 28 patients without comorbidities with an average NRAMP-1 level of 1191.92 ng/mL. Based on the severity degree (survive patients), 10 patients with mild were found with an average NRAMP-1 level of 984.31 ng/mL, with moderate in 31 patients with an average NRAMP-1 level of 1104.71 ng/mL. mL and severe in 11 patients with an average NRAMP-1 level of 1027.71 ng/mL. Ct value ≤ 24.48 in 28 patients with an average NRAMP-1 level of 1065.62 ng/mL and Ct value > 24.48 in 34 patients with an average value of NRAMP-1 level 994.31 ng/mL.

**Conclusions:** NRAMP-1 protein levels were significantly lower in COVID-19 patients who died and had comorbidities.

**Key words:** COVID-19, clinical symptoms, Comorbid, Death, NRAMP-1, ELISA

# BAB I

## PENDAHULUAN

### A. LATAR BELAKANG

Diawal tahun 2020, dunia digemparkan dengan merebaknya virus baru yaitu coronavirus jenis baru (*SARS-CoV-2*) dan penyakitnya disebut Coronavirus disease 2019 (*COVID-19*). Diketahui, asal mula virus ini berasal dari Wuhan, Tiongkok. Ditemukan pada akhir Desember tahun 2019. Sampai saat ini sudah dipastikan terdapat 65 negara yang telah terjangkit virus satu ini **(PDPI, 2020)**.

Berdasarkan data sampai dengan 2 Maret 2020, angka mortalitas di seluruh dunia 2,3% sedangkan khusus di kota Wuhan adalah 4,9%, dan di provinsi Hubei 3,1%. Angka ini diprovinsi lain di Tiongkok adalah 0,16%.<sup>8,9</sup> Berdasarkan penelitian terhadap 41 pasien pertama di Wuhan terdapat 6 orang meninggal (5 orang pasien di ICU dan 1 orang pasien non-ICU) **(Huang et al., 2020)** Kasus kematian banyak pada orang tua dan dengan penyakit penyerta. Kasus kematian pertama pasien lelaki usia 61 tahun dengan penyakit penyerta tumor intraabdomen dan kelainan di liver **(The Straits Time, 2020)**.

Natural Resistensi Associated Macrophage Protein-1 (NRAMP-1) adalah gen yang terdapat pada mamalia dan berpengaruh dalam sistem kekebalan tubuh. NRAMP-1 merupakan gen pada makrophage intraseluler yang berlokasi pada membran phagosomal di dalam kromosom 2q35. NRAMP-1 berfungsi sebagai pengangkut ion kation yaitu  $Fe^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$  dan  $Mn^{2+}$  dan berperan penting dalam sistim imun terhadap infeksi mikroorganisme dan eliminasi bakteri maupun virus. Disamping itu fungsi NRAMP-1 untuk membatasi replikasi patogen dengan mengubah lingkungan phagolisomal.

Dengan diketahuinya kadar protein NRAMP-1 berdasarkan tingkat keparahan, komorbid dan kematian penderita Covid-19 maka memungkinkan kadar soluble protein NRAMP-1 dipakai sebagai biomarker tambahan untuk kasus Covid-19 yang berhubungan dengan medikolegal dan penuntutan dari pasien maupun keluarganya.

Berdasarkan penjelasan diatas penulis tertarik untuk melakukan penelitian mengenai kadar protein NRAMP-1 berdasarkan tingkat keparahan, komorbid dan kematian pada penderita Covid-19.

## **B. RUMUSAN MASALAH**

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan diatas, maka masalah yang timbul dapat dijabarkan sebagai berikut:

1. Apakah ada hubungan kadar protein NRAMP-1 dengan tingkat keparahan pada penderita Covid-19?
2. Apakah ada hubungan kadar protein NRAMP-1 dengan komorbid pada penderita Covid-19?
3. Apakah ada berhubungan kadar protein NRAMP-1 dengan kematian pada penderita Covid-19?

## **C. TUJUAN PENELITIAN**

### **1. Umum**

Untuk menganalisis kadar protein NRAMP-1 berdasarkan tingkat keparahan, komorbid dan kematian pada penderita Covid-19.

### **2. Khusus**

- 1) Menentukan kadar protein NRAMP-1 berdasarkan tingkat keparahan pada penderita Covid-19.
- 2) Menentukan kadar protein NRAMP-1 berdasarkan komorbid pada penderita Covid-19.
- 3) Menentukan kadar protein NRAMP-1 berdasarkan kematian pada penderita Covid-19.

#### **D. MANFAAT PENELITIAN**

##### **1. Manfaat Bagi Pengembangan Ilmu**

Dengan dilakukannya penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi dan menambah pengetahuan tentang peran protein NRAMP-1 dalam patomekanisme pada infeksi Covid-19.

##### **2. Manfaat Aplikasi**

Dari hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai salah satu biomarker dalam menentukan tingkat keparahan, komorbid dan kematian pada penderita Covid-19.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

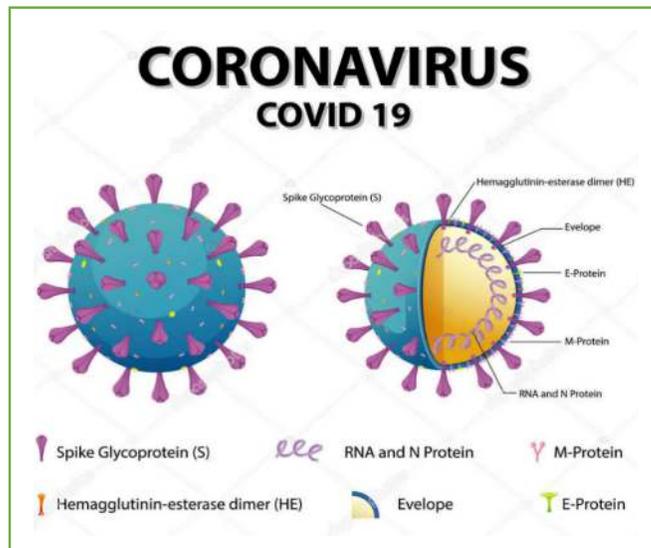
#### A. CORONA VIRUS (SARS COVID-19)

##### 1. Definisi

Corona virus merupakan virus RNA strain tunggal positif, berkapsul dan tidak bersegmen. Coronavirus tergolong ordo Nidovirales, keluarga Coronaviridae. Struktur coronavirus membentuk struktur seperti kubus dengan protein S berlokasi dipermukaan virus. Protein S atau spike protein merupakan salah satu protein antigen utama virus dan merupakan struktur utama untuk penulisan gen. Protein S ini berperan dalam penempelan dan masuknya virus kedalam sel host (interaksi protein S dengan reseptornya di sel inang) (Wang, 2020).

Coronavirus bersifat sensitif terhadap panas dan secara efektif dapat diinaktifkan oleh desinfektan mengandung klorin, pelarut lipid dengan suhu 56°C selama 30 menit, eter, alkohol, asam perioksiasetat, detergen non-ionik, formalin, oxidizing agent dan kloroform. Klorheksidin tidak efektif dalam menonaktifkan virus (Wang, 2020; Korsman, 2012).

##### Struktur Corona Virus



Gambar 1. Virus SARS Cov-2 memiliki susunan protein penyusun yang beragam.

Dari luar ke dalam, struktur virus tersusun atas suatu glikoprotein *spike* (S), protein membrane (M), protein enzim hemagglutinin esterase (HE), protein *envelope* membrane (E), nukeloprotein (N) dan materi genetik RNA.

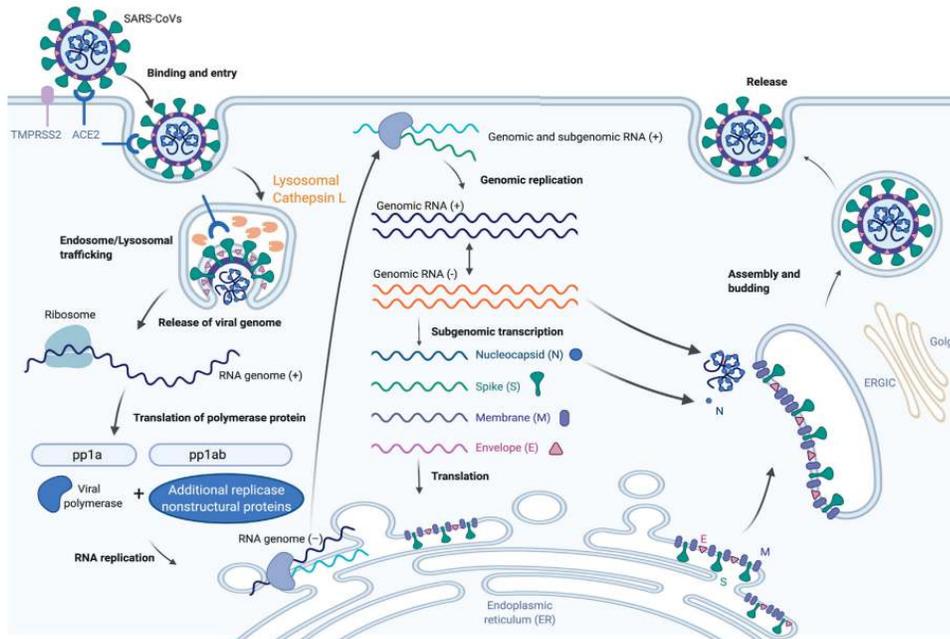
### **Patogenesis dan Patofisiologi**

Kebanyakan Coronavirus menginfeksi hewan dan bersirkulasi di hewan. Coronavirus menyebabkan sejumlah besar penyakit pada hewan dan kemampuannya menyebabkan penyakit berat pada hewan seperti babi, sapi, kuda, kucing dan ayam. Coronavirus disebut dengan virus zoonotik yaitu virus yang ditransmisikan dari hewan ke manusia. Banyak hewan liar yang dapat membawa patogen dan bertindak sebagai vektor untuk penyakit menular tertentu. Kelelawar, tikus bambu, unta dan musang merupakan host yang biasa ditemukan untuk Coronavirus. Coronavirus pada kelelawar merupakan sumber utama untuk kejadian *severe acute respiratory syndrome* (SARS) dan *Middle East respiratory syndrome* (MERS) (PDPI, 2020)

Coronavirus hanya bisa memperbanyak diri melalui sel *host*-nya. Virus tidak bisa hidup tanpa sel *host*. Berikut siklus dari Coronavirus setelah menemukan sel *host* sesuai tropismenya. Pertama, penempelan dan masuk virus ke sel host diperantarai oleh Protein S yang ada dipermukaan virus. Protein S penentu utama dalam menginfeksi spesies *host*-nya serta penentu tropisnya (Wang, 2020).

Pada studi SARS-CoV protein S berikatan dengan reseptor di sel *host* yaitu enzim ACE-2 (angiotensin-converting enzyme 2). ACE-2 dapat ditemukan pada mukosa oral dan nasal, nasofaring, paru, lambung, usus halus, usus besar, kulit, timus, sumsum tulang, limpa, hati, ginjal, otak, sel epitel alveolar paru, sel enterosit usus halus, sel endotel arteri vena, dan sel otot polos. Setelah berhasil masuk selanjutnya translasi replikasi gen dari RNA genom virus. Selanjutnya replikasi dan transkripsi dimana sintesis virus RNA melalui translasi dan perakitan dari kompleks replikasi virus. Tahap selanjutnya adalah perakitan dan rilis virus. Setelah terjadi transmisi, virus masuk ke saluran napas atas kemudian bereplikasi di sel epitel saluran napas atas (melakukan siklus hidupnya). Setelah itu menyebar ke saluran napas bawah. Pada infeksi akut terjadi peluruhan virus dari saluran napas dan virus

dapat berlanjut meluruh beberapa waktu di sel gastrointestinal setelah penyembuhan. Masa inkubasi virus sampai muncul penyakit sekitar 3-7 hari (PDPI, 2020)



Gambar 2. Patofisiologi Covid-19. (Cevik, M. et al. 2020)

Virus ditularkan bersarang di jaringan yang mengekspresikan reseptor ACE-2. Protein S yang bertanggung jawab untuk masuknya virus ke dalam sel target ACE-2, Virus SARS-CoV-2 berikatan dengan ACE2 sebagai reseptor sel target inang bersinergi dengan Transmembrane Serine Protease 2 (TMPRSS2) yang merupakan protein yang ada dipermukaan sel inang. Ikatan ini menyebabkan fusi membran dan lepasnya genom virus ke dalam sitoplasma inang. Selanjutnya terjadi proses translasi genom virus dalam ribosom, proses proteolysis, replikasi/transkripsi kompleks pada RNA, transkripsi dan replikasi genom virus. Setelah itu, isi virus dilepaskan di dalam sel inang. RNA virusnya memasuki nukleus untuk replikasi dengan menggunakan mRNA virus (biosintesis). Kemudian, partikel virus baru dibuat dan, akhirnya, dilepaskan Virus menggunakan reseptor ACE-2 untuk menginfeksi sel epitel saluran napas dan sel endotel. (Nile et al., 2020).

Adhesi virus pada reseptor ACE-2 diikuti dengan replikasi virus menyebabkan infiltrasi sel inflamasi, apoptosis sel endotel dan trombosis mikrovaskuler. Saat sistem kekebalan mengenali antigen virus, sel penyaji antigen memproses antigen ini dan menyajikannya ke Natural Killer Cell (NK cell) dan sel T sitotoksik positif CD8 dalam konteks antigen histokompatibilitas jaringan utama (Major tissue Histocompatibility = MHC) seperti biasa Presentasi ini mengaktifkan imunitas bawaan dan adaptif yang menyebabkan produksi sitokin dan kemokin proinflamasi dalam jumlah besar. (Nile, S. H. et al, 2020. Eljilany, I. and Elzouki, A. N, 2020. Soy, M. et al, 2020)

### **Manifestasi Klinis**

Infeksi COVID-19 dapat menimbulkan gejala ringan, sedang atau berat. Gejala klinis utama yang muncul yaitu demam (suhu  $>38^{\circ}\text{C}$ ), batuk dan kesulitan bernapas. Selain itu dapat disertai dengan sesak memberat, fatigue, mialgia, gejala gastrointestinal seperti diare dan gejala saluran napas lain. Setengah dari pasien timbul sesak dalam satu minggu. Pada kasus berat perburukan secara cepat dan progresif, seperti ARDS, syok septik, asidosis metabolik yang sulit dikoreksi dan perdarahan atau disfungsi sistem koagulasi dalam beberapa hari. Pada beberapa pasien, gejala yang muncul ringan, bahkan tidak disertai dengan demam. Kebanyakan pasien memiliki prognosis baik, dengan sebagian kecil dalam kondisi kritis bahkan meninggal.

Pada beberapa kasus Covid-19 ditemukan penderita dengan komorbid. Penderita penyakit komorbid adalah salah satu kelompok yang rentan terinfeksi virus Corona. Bila terinfeksi virus Corona, mereka memiliki risiko lebih tinggi untuk mengalami gejala Covid-19 yang berat, membutuhkan perawatan yang intensif, bahkan berisiko lebih tinggi untuk meninggal karena Covid-19 dan komplikasinya. (Adekunle Sanyaolu, dkk, 2020)

Hal tersebut bisa terjadi karena orang dengan penyakit komorbid memiliki sistem kekebalan tubuh yang lebih lemah daripada orang tanpa penyakit komorbid. Selain itu, penderita penyakit komorbid juga mungkin sudah mengalami komplikasi

atau kerusakan organ akibat penyakit yang dideritanya selama ini. Oleh sebab itu, tubuh penderita penyakit komorbid akan lebih sulit melawan infeksi virus Corona.

Ada beberapa penyakit yang dapat menyebabkan komorbiditas pada pasien COVID-19, yaitu: Diabetes tipe 1 dan tipe 2, Hipertensi, Kanker, Penyakit kardiovaskular, seperti stroke dan penyakit jantung, Penyakit ginjal, misalnya gagal ginjal akut maupun kronis, Penyakit paru kronis, misalnya asma dan PPOK, Penyakit hati, seperti hepatitis atau kanker hati, Demensia, Gangguan kekebalan tubuh, misalnya karena malnutrisi atau HIV, Penyakit autoimun, misalnya lupus dan *rheumatoid arthritis*. Selain itu, orang dengan beberapa kondisi lainnya, seperti wanita hamil, perokok berat, penderita obesitas, atau orang yang pernah menjalani transplantasi organ, juga berpotensi menderita Covid-19 dengan gejala yang parah.

Selain dengan memberikan pengobatan dan perawatan Covid-19, dokter juga perlu menangani penyakit komorbid pasien, agar pasien tidak berisiko mengalami komplikasi COVID-19 yang berbahaya, misalnya gagal napas dan badai sitokin. **(de Lucena TMC, dkk, 2020)**

Berikut sindrom klinis yang dapat muncul jika terinfeksi. **(PDPI, 2020)**

a. Tidak berkomplikasi

Kondisi ini merupakan kondisi ringan. Gejala yang muncul berupa gejala yang tidak spesifik. Gejala utama tetap muncul seperti demam, batuk, dapat disertai dengan nyeri tenggorok, kongesti hidung, malaise, sakit kepala, dan nyeri otot. Perlu diperhatikan bahwa pada pasien dengan lanjut usia dan pasien immunocompromises presentasi gejala menjadi tidak khas atau atipikal. Selain itu, pada beberapa kasus ditemui tidak disertai dengan demam dan gejala relative ringan. Pada kondisi ini pasien tidak memiliki gejala komplikasi diantaranya dehidrasi, sepsis atau napas pendek.

b. Pneumonia ringan

Gejala utama dapat muncul seperti demam, batuk, dan sesak. Namun tidak ada tanda pneumonia berat. Pada anak-anak dengan pneumonia tidak berat ditandai dengan batuk atau susah bernapas

c. Pneumonia berat. Pada pasien dewasa:

Gejala yang muncul diantaranya demam atau curiga infeksi saluran napas. Tanda yang muncul yaitu takipnea (frekuensi napas: > 30x/menit), distress pernapasan berat atau saturasi oksigen pasien <90% udara luar.

### **Penegakkan Diagnosis**

Pada anamnesis gejala yang dapat ditemukan yaitu, tiga gejala utama: demam, batuk kering (sebagian kecil berdahak) dan sulit bernapas atau sesak.

a. Pasien dalam pengawasan atau kasus suspek / possible

1. Seseorang yang mengalami:

- Demam ( $\geq 38^{\circ}\text{C}$ ) atau riwayat demam
- Batuk atau pilek atau nyeri tenggorokan
- Pneumonia ringan sampai berat berdasarkan klinis dan/atau gambaran radiologis. (pada pasien immunocompromised presentasi kemungkinan atipikal) DAN disertai minimal satu kondisi sebagai berikut:
  - Memiliki riwayat perjalanan ke Tiongkok atau wilayah/ negara yang terjangkit dalam 14 hari sebelum timbul gejala.
  - Petugas kesehatan yang sakit dengan gejala sama setelah merawat pasien infeksi saluran pernapasan akut (ISPA) berat yang tidak diketahui penyebab / etiologi penyakitnya, tanpa memperhatikan riwayat bepergian atau tempat tinggal.

2. Pasien infeksi pernapasan akut dengan tingkat keparahan ringan sampai berat dan salah satu berikut dalam 14 hari sebelum onset gejala:

- Kontak erat dengan pasien kasus terkonfirmasi atau probable Covid-19, ATAU
- Riwayat kontak dengan hewan penular (jika hewan sudah teridentifikasi), ATAU bekerja atau mengunjungi fasilitas layanan kesehatan dengan kasus terkonfirmasi atau probable infeksi Covid-19 di Tiongkok atau wilayah/negara yang terjangkit.
- Memiliki riwayat perjalanan ke Wuhan dan memiliki demam (suhu  $\geq 38^{\circ}\text{C}$ ) atau riwayat demam.

b. Orang dalam Pemantauan

Seseorang yang mengalami gejala demam atau riwayat demam tanpa pneumonia yang memiliki riwayat perjalanan ke Tiongkok atau wilayah/negara yang terjangkit, dan tidak memiliki satu atau lebih riwayat paparan diantaranya:

- Riwayat kontak erat dengan kasus konfirmasi Covid-19
- Bekerja atau mengunjungi fasilitas kesehatan yang berhubungan dengan pasien konfirmasi Covid-19 di Tiongkok atau wilayah/negara yang terjangkit (sesuai dengan perkembangan penyakit),
- Memiliki riwayat kontak dengan hewan penular (jika hewan penular sudah teridentifikasi) di Tiongkok atau wilayah/negara yang terjangkit (sesuai dengan perkembangan penyakit)

c. Kasus Probable

Pasien dalam pengawasan yang diperiksa untuk Covid-19 tetapi inkonklusif atau tidak dapat disimpulkan atau seseorang dengan hasil konfirmasi positif pan-coronavirus atau beta coronavirus.

d. Kasus terkonfirmasi

Seseorang yang secara laboratorium terkonfirmasi Covid-19.

**Pemeriksaan Penunjang (PDPI, 2020)**

1. Pemeriksaan radiologi: foto toraks, CT-scan toraks, USG toraks. Pada pencitraan dapat menunjukkan: opasitas bilateral, konsolidasi subsegmental, lobar atau kolaps paru atau nodul, tampilan *groundglass*.
2. Pemeriksaan spesimen saluran napas atas dan bawah
  - Saluran napas atas dengan swab tenggorok (nasofaring dan orofaring)
  - Saluran napas bawah (sputum, bilasan bronkus, BAL, bila menggunakan endotrakeal tube dapat berupa aspirat endotrakeal, bronkoskopi, pungsi pleura sesuai kondisi, pemeriksaan kimia darah, biakan mikroorganisme dan uji kepekaan dari bahan saluran napas (sputum, bilasan bronkus, cairan pleura) dan darah. Kultur darah untuk bakteri dilakukan, idealnya sebelum

terapi antibiotik. Namun, jangan menunda terapi antibiotik dengan menunggu hasil kultur darah)

3. Pemeriksaan feses dan urin (untuk investigasi kemungkinan penularan).

### **Tatalaksana Umum**

1. Isolasi pada semua kasus  
Sesuai dengan gejala klinis yang muncul, baik ringan maupun sedang.
2. Implementasi pencegahan dan pengendalian infeksi (PPI)
3. Serial foto toraks untuk menilai perkembangan penyakit
4. Suplementasi oksigen  
Pemberian terapi oksigen segera kepada pasien dengan, distress napas, hipoksemia atau syok. Terapi oksigen pertama sekitar 5L/menit dengan target SpO<sub>2</sub> ≥90% pada pasien tidak hamil dan ≥ 92-95% pada pasien hamil
5. Kenali kegagalan napas hipoksemia berat
6. Terapi cairan  
Terapi cairan konservatif diberikan jika tidak ada bukti syok Pasien dengan SARI harus diperhatikan dalam terapi cairannya, karena jika pemberian cairan terlalu agresif dapat memperberat kondisi distress napas atau oksigenasi. Monitoring keseimbangan cairan dan elektrolit
7. Pemberian antibiotik empiris
8. Terapi simptomatik. Terapi simptomatik diberikan seperti antipiretik, obat batuk dan lainnya jika memang diperlukan.
9. Pemberian kortikosteroid sistemik tidak rutin diberikan pada tatalaksana pneumonia viral atau ARDS selain ada indikasi lain.
10. Observasi ketat
11. Pahami komorbid pasien. Saat ini belum ada penelitian atau bukti tatalaksana spesifik pada Covid-19. Belum ada tatalaksana antiviral untuk infeksi Coronavirus yang terbukti efektif. Pada studi terhadap *SARSCoV*, kombinasi lopinavir dan ritonavir dikaitkan dengan memberi manfaat klinis. Saat ini penggunaan lopinavir dan ritonavir masih diteliti terkait efektivitas dan keamanan pada infeksi Covid-19. Tatalaksana yang belum teruji / terlisensi

hanya boleh diberikan dalam situasi uji klinis yang disetujui oleh komite etik atau melalui *Monitored Emergency Use of Unregistered Interventions Framework* (MEURI), dengan pemantauan ketat. Selain itu, saat ini belum ada vaksin untuk mencegah pneumonia Covid-19 ini. **(PDPI, 2020)**

Diagnosis laboratorium yang andal merupakan salah satu alat utama untuk promosi, pencegahan, dan pengendalian penyakit menular 1. Metode diagnostik untuk Covid-19 terbagi dalam dua kategori utama: imunologis dan molekuler. Tes imunologi dapat berupa tes serologis yang terutama mendeteksi antibodi dalam darah atau antigen virus dalam sekresi pernapasan, dan keduanya dapat dilakukan dengan platform tempat perawatan. Mengenai tes molekuler, tes ini didasarkan pada deteksi *SARS-CoV-2* RNA terutama dalam sampel nasofaring, yang dalam banyak kasus memerlukan infrastruktur laboratorium yang memadai. Selain tes yang dikutip, parameter laboratorium lain telah digunakan sebagai bantuan dalam pemantauan klinis pasien dengan Covid-19 **(Kemenkes, 2020)**.

Diagnosis penyakit Coronavirus (Covid-19) yang cepat dan akurat sangat penting untuk pengendalian pandemi serta untuk menetapkan strategi terapeutik yang memadai untuk mengurangi morbiditas dan mortalitas. Untuk tujuan epidemiologis dan klinis, beberapa pendekatan metodologis telah dikembangkan. Pada artikel ini, kami akan membahas metode dan protokol laboratorium utama yang telah digunakan untuk pengendalian dan pengelolaan Covid-19. Tes serologis sangat penting untuk diagnosis pasien dengan penyakit ringan sampai sedang, jika tidak ada diagnostik molekuler. Tes ini dapat memiliki beberapa manfaat, seperti memperkirakan tingkat penularan dan kematian, menilai kekebalan individu dan komunitas, dan menilai kebutuhan dan efektivitas intervensi non-farmasi (misalnya, isolasi sosial). Lebih lanjut, plasma pemulihan dengan produksi antibodi tingkat tinggi dapat digunakan sebagai penunjang terapeutik. Beberapa tes serologis berdasarkan enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), dan perangkat lateral flow immunochromatography (LFI) telah dikembangkan oleh berbagai perusahaan di seluruh dunia. Antibodi IgM dan IgG yang terdeteksi pada ELISA memiliki spesifisitas lebih dari 95% dalam diagnosis Covid-19. Titer antibodi IgG yang

tinggi yang dideteksi oleh ELISA menunjukkan korelasi positif dengan antibodi penetral (**Kemenkes, 2020**). Mengingat karakteristik tempat perawatannya, platform LFI telah digunakan secara luas. Secara umum, metode ini mendeteksi antibodi IgM dan IgG dalam waktu kurang lebih 20 menit, secara individu atau bersamaan. Antibodi terhadap glikoprotein S (lonjakan) dianalisis dari sampel darah yang diperoleh dengan tusukan jari tanpa memerlukan peralatan canggih atau profesional khusus. Namun, tes ini murni kualitatif dan hanya dapat menunjukkan ada atau tidak adanya antibodi *SARS-CoV-2*. Terlepas dari nilainya yang potensial sebagai alat untuk pengendalian pandemi, validasi tes LFI tetap menantang (**Tom, 2020**). Kemampuan untuk menilai keakuratan (sensitivitas dan spesifisitas) serta kemampuan mereka untuk memantau kekebalan dari waktu ke waktu tetap tidak mencukupi (**Touma, 2020**)

Hal lain yang menjadi perhatian adalah interpretasi hasil yang tidak tepat, seperti pemahaman yang salah bahwa hasil positif menunjukkan kekebalan terhadap *SARS-CoV-2*, sedangkan hasil positif pada tes serologis menunjukkan bahwa orang tersebut telah bersentuhan dengan virus dan mengembangkan antibodi, tetapi tidak jelas apakah antibodi ini akan memberikan perlindungan terhadap infeksi ulang (**Suleyman, 2020**). Saat ini, tanggapan antibodi terhadap *SARS-CoV-2* masih kurang dipahami, dan kegunaan klinis dari uji serologis masih belum jelas. Meskipun deteksi IgM dan IgG dengan ELISA positif bahkan pada hari keempat setelah timbulnya gejala, tingkat tinggi antibodi ini diproduksi pada minggu kedua dan ketiga penyakit. Sejak onset, titer antibodi IgM meningkat; 2 minggu setelah timbulnya gejala, baik IgG dan IgM hadir dan kadarnya mulai menurun setelah minggu keempat. IgM terkenal tidak spesifik, dan karena perlu berminggu-minggu untuk mengembangkan respons IgG spesifik, deteksi serologis tidak mungkin berperan aktif dalam penanganan kasus, dengan diagnosis / konfirmasi kasus akhir Covid-19 atau menentukan kekebalan tenaga kesehatan menjadi pengecualian (**Wang, 2020**).

Respon antibodi akut terhadap *SARS-CoV-2* pada 285 pasien di provinsi Hubei China dideteksi menggunakan uji imunoenzimatis chemiluminescence (CLIA). Hasil penelitian menunjukkan proporsi pasien positif IgG spesifik

mencapai 100% sekitar 17 hingga 19 hari setelah timbulnya gejala. Sedangkan proporsi penderita IgM spesifik mencapai 94,1% pada 20 sampai 22 hari setelah timbulnya gejala. Serokonversi ke IgG dan IgM terjadi secara bersamaan atau berurutan, memberikan waktu serokonversi rata-rata 13 hari setelah timbulnya gejala. Data penelitian menunjukkan bahwa tes serologis dapat menjadi pelengkap, terutama dalam diagnosis pasien yang dicurigai dengan hasil molekuler negatif dan juga dalam mencari infeksi tanpa gejala di antara kontak dekat. Aspek yang menarik adalah bahwa kasus yang paling parah memiliki tingkat IgM dan IgG yang lebih tinggi daripada kasus ringan (**Somsen, 2020**). Dalam konteks ini, deteksi antibodi secara kuantitatif dapat menjadi bantuan penting dalam praktik klinis (**Effendi, Z. 2003**).

Perlu disebutkan bahwa mayoritas immunoassay untuk *SARS-CoV-2* memiliki protein imunogenik sebagai target utamanya: 1) protein S (spike), yang merupakan protein virus yang paling terpapar, dan 2) protein nukleokapsid (N), yang diekspresikan secara melimpah selama infeksi. Biasanya, sebagian besar antibodi diproduksi untuk melawan protein paling melimpah yang ada di virus (N). Oleh karena itu, tes yang mendeteksi antibodi akan menjadi yang paling sensitif. Namun, domain pengikat reseptor protein S (RBD-S) adalah protein lampiran inang, dan antibodi terhadap RBD-S akan sangat spesifik dan diharapkan dapat menetralkan. Dalam hal ini, penggunaan salah satu atau kedua antigen untuk mendeteksi IgG dan IgM akan menghasilkan sensitivitas yang tinggi (**Lauer, 2020**).

Kebanyakan tes molekuler, tidak seperti tes serologi, dilakukan di laboratorium khusus menggunakan peralatan mutakhir dan staf berkualifikasi tinggi, sehingga penggunaannya terbatas. Usap nasofaring (NP) dianggap sebagai sampel standar untuk mendeteksi *SARS-CoV-2*. Selain usap NP, penggunaan sampel dari saluran pernapasan bagian bawah (sputum atau lavage bronkial) dan usap orofaring (OP) digunakan sebagai alternatif untuk meningkatkan keamanan hayati pekerja kesehatan. Studi hebat tentang deteksi *SARS-CoV-2* pada sampel klinis yang berbeda melibatkan 205 pasien rawat inap dari tiga rumah sakit China, dengan total 1.070 sampel yang terkumpul. Usap NP memiliki viral load tertinggi,

meskipun pada saat pengumpulan, stadium penyakit atau riwayat klinis terkait tidak tersedia untuk banyak pasien ini. Untuk deteksi *SARS-CoV-2* dengan teknik ini, sampel harus diambil saat pasien berada dalam fase infeksi akut, sebaiknya hingga 5 hari setelah timbulnya gejala. Kelebihan metode ini adalah kuantitatif dan sangat spesifik 18. Transkripsi balik diikuti oleh reaksi berantai polimerase transkripsi balik waktu nyata (RT-PCR) dianggap sebagai standar emas untuk diagnosis COVID-19. Protokol pertama yang direkomendasikan oleh WHO diterbitkan oleh Charité Institute, Berlin University, Jerman. Ini didasarkan pada teknologi TaqMan, dengan primer dan probe terindikasi untuk mendeteksi RNA-dependent RNA polymerase (RdRp), envelope protein (E), dan gen nucleocapsid protein (N). Selanjutnya, beberapa metode internal telah dilaporkan oleh WHO, dan sedang divalidasi di laboratorium mitra WHO. Hasil negatif palsu dapat terjadi terutama karena ekstraksi asam nukleat yang tidak memadai; kualitas sampel yang buruk; viral load rendah; waktu pengambilan sampel; penyimpanan, transportasi, dan penanganan sampel yang salah; dan penghambatan PCR (Wolfer, 2020).

Hasil dari protokol RT-PCR yang berbeda telah menunjukkan variasi dalam kinerjanya tergantung pada primer dan probe. Satu studi perbandingan sensitivitas tes *SARS-CoV-2* RT-PCR yang dikembangkan oleh Charité (Jerman), HKU (Hong-Kong), China CDC (China), US CDC (Amerika Serikat), dan Institut Pasteur, Paris (Prancis) menunjukkan bahwa semua tes RT-PCR berkinerja baik untuk deteksi *SARS-CoV-2*, tetapi penulis menunjukkan bahwa tes RdRp Institut Pasteur (IP2, IP4), NChina CDC, dan N1USCDC adalah yang paling sensitif. Penggunaan primer spesifik menentukan spesifisitas tinggi dari RT-PCR, dan kemungkinan positif palsu tidak dapat dikesampingkan. Dalam pengertian ini, kontrol template negatif harus diperkenalkan di setiap RT-PCR. Pemindaian tomografi terkomputerisasi (CT) Achest dapat digunakan sebagai alat diagnostik pelengkap yang memungkinkan dokter mendeteksi infeksi Covid-19 secara efektif dalam beberapa kasus negatif palsu RT-PCR. Tes berulang bisa sangat penting jika pasien memiliki gambaran klinis pneumonia virus, riwayat pajanan, dan / atau temuan radiografi (CT atau pencitraan resonansi magnetik) yang kompatibel dengan pneumonia Covid-19 (Wang, 2020).

Pengembangan platform diagnostik baru dapat meningkatkan metode molekuler dalam hal kecepatan, sensitivitas, dan aksesibilitas dalam mendiagnosis Covid-19. Saat ini, sekitar 11 perangkat molekuler telah menerima persetujuan mendesak dari Administrasi Produk Medis Nasional di China. Selain itu, sistem RT-PCR otomatis telah dikembangkan, seperti Xpress *SARS CoV-2* Test (Cepheid, USA). Dengan menggunakan platform GeneXpert, gen *SARS-CoV-2* E dan N2 dapat dideteksi dalam waktu sekitar 45 menit. Alternatif inovatif lainnya adalah instrumen genggam Abbott IDNowCOVID-19, yang mendeteksi gen *SARS-CoV-2* RdRp dan N. Baik Xpress *SARS-CoV-2* dan Abbott IDNowCOVID-19 diizinkan untuk penggunaan darurat oleh Food and Drug Administration (FDA), AS. Namun, dengan kekurangan kit secara global, banyak negara telah mulai melakukan RT-PCR internal untuk mengatasi kekurangan ini. Protokol internal yang paling sering digunakan adalah sebagai berikut: 1) Rumah Sakit Charité - Universitas Berlin yang menargetkan gen E, N dan RdRp 21, didukung oleh WHO, 2) CDC-China, yang menargetkan gen ORF1ab dan N (CDC-CHINA2020), dan 3) CDC-USA, yang menggunakan tiga target dalam gen N 29. Pendekatan molekuler lain yang mungkin berguna, terutama di tempat-tempat di mana tidak diperlukan peralatan termosirkulasi yang mahal adalah reverse transcription loop-mediated isothermal amplification (RT-LAMP) menggunakan *SARS-CoV-2* spike ORF1ab dan gen S. (Wu, 2020). Selain itu, penggunaan biosensor untuk mendeteksi RNA virus *SARS-CoV-2* juga telah diuji. Biosensor yang baru dikembangkan ini mengintegrasikan efek fototermal plasmatik dan transduksi deteksi resonansi plasmon. Validitas dan selektivitas ditentukan dengan menggunakan urutan *SARS-CoV-2* RdRp dan ORF1ab sebagai target.

Pengujian laboratorium adalah proses yang dibagi menjadi tiga tahap utama: praanalitik, analitik, dan pasca analitik. Pada tahap pra-analisis, tindakan perlindungan individu dalam kaitannya dengan pengumpulan sampel sangat penting untuk praktik keamanan hayati yang baik. Berdasarkan WHO pedoman, semua sampel klinis harus dianggap berpotensi menular, dan profesional kesehatan harus menggunakan peralatan pelindung diri (APD) yang sesuai dan lengkap saat mengambil / menangani sampel pasien. Biasanya, diharapkan penggunaan celemek

sekali pakai, sarung tangan, kap mesin, pelindung kaki, kacamata pelindung, dan masker pernapasan N95. Sampel klinis harus dibawa ke laboratorium dalam kemasan yang sesuai untuk risiko biologis level-2 di dalam kotak kriogenik anti bocor dan dengan label bahaya hayati yang terlihat jelas (Wu, 2020). Sampel dapat disimpan pada suhu 2–8° C hingga 72 jam setelah pengumpulan. Jika sampel perlu disimpan lama, maka sampel harus dilakukan pada suhu minimal -70 ° C. Asam nukleat yang diekstraksi juga harus disimpan pada suhu minimum yang sama yaitu -70 ° C 29. Pemeriksaan sampel harus dilakukan di dalam kabin biologis kelas-2 dengan menggunakan pakaian yang sesuai dan satu set APD lengkap. Semua permukaan, kotak cryo, dan peralatan harus dibersihkan menggunakan 0,1% natrium hipoklorit, 62-71% etanol, 0,5% hidrogen peroksida, dan amonium kuartener atau senyawa fenolik (Sean, 2020).

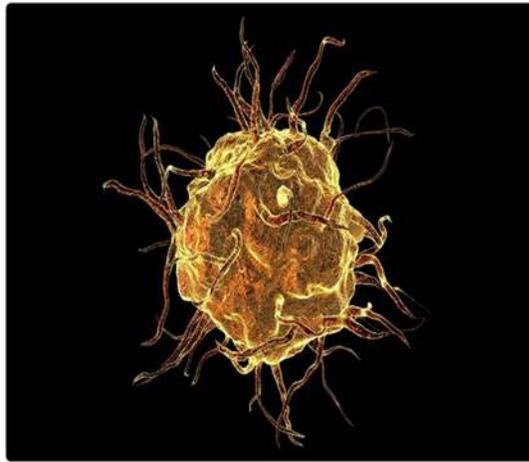
Hasil tes laboratorium dapat meningkatkan dukungan untuk diagnosis, prognosis, dan pemantauan pasien melalui deteksi dan pengukuran biomarker yang berbeda. Meskipun tidak spesifik, beberapa penanda biologis telah dilaporkan terkait dengan proses infeksi *SARS-CoV-2*. Oleh karena itu, jumlah limfosit dan trombosit rendah; tingkat albumin serum rendah; dan peningkatan kadar serum protein C-reaktif, D-dimer, feritin, laktat dehidrogenase, transaminase, dan interleukin-6 dapat digunakan dalam stratifikasi risiko untuk memprediksi keparahan Covid-19. Selain itu, badai sitokin dengan tingkat IL-2R, IL-6, IL-10, dan TNF- $\alpha$  yang tinggi dan penurunan jumlah absolut limfosit CD4 + dan CD8 + T telah dikaitkan dengan kasus Covid-19 yang parah, dengan perkembangan menjadi kolaps kardiovaskular, kegagalan banyak organ, dan kematian yang cepat (Sun, 2020).

## **B. MAKROFAG**

Makrofag adalah sel darah putih yang berukuran besar, yang mencerna mikroba, antigen dan zat-zat lainnya. Sitoplasma makrofag mengandung beberapa granula dan melepaskan berbagai bahan, antara lain enzim lisosom, komplemen, interferon dan sitokin yang semuanya memungkinkan mencerna dan menghancurkan mikroba yang tertelan oleh makrofag. Makrofag tidak ditemukan

di dalam darah, tetapi terdapat di tempat-tempat strategis, dimana organ tubuh berhubungan dengan aliran darah atau organ luar. Misalnya makrofag ditemukan di daerah di mana paru-paru menerima udara dari luar dan sel-sel hati berhubungan dengan pembuluh darah **(Baratawidjaja, 2002)**.

Makrofag ini termasuk sistem fagosit mononuklear, makrofag dulu disebut dengan *Retikulo Endotelial System* (RES), untuk sel-sel yang sangat fagositik yang tersebar luas di seluruh tubuh terutama pada daerah yang kaya akan pembuluh darah **(Efendi, 2003)**.



Gambar 3. Isolasi sel makrofag pada latar belakang hitam, tampilan close-up sel imun, ilustrasi 3D. **(Kateryna Kon / Shutterstock)**.

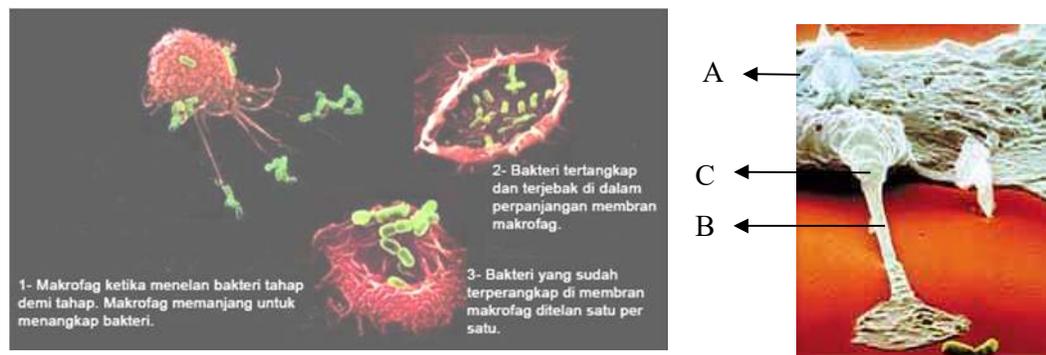
### **1. Perkembangan Makrofag (Kresno, 2001)**

Makrofag terutama berasal dari sel prekursor sum-sum tulang dari promonosit yang akan membelah menghasilkan monosit yang beredar dalam darah. Pada tahap kedua monosit bermigrasi ke dalam jaringan ikat tempat mereka menjadi matang disebut makrofag. Di dalam jaringan, makrofag dapat berproliferasi secara lokal menghasilkan sel sejenis lebih banyak. Keberadaan sel-sel sistem makrofag terdapat pada jaringan ikat berupa makrofag atau histiosit, di dalam darah berupa monosit, dalam hati melapisi sinusoid dikenal sebagai sel

kupffer, makrofag perivaskular sinusoid limfa, limfonodus dan sum-sum tulang dan pada susunan syaraf pusat berupa microglia berasal dari mesoderm.

## 2. Mekanisme Kerja Makrofag

Fagositosis merupakan suatu proses atau cara untuk memakan mikroorganisme atau benda asing yang dilakukan dimana setelah benda asing melekat pada permukaan makrofag sehingga makrofag membentuk sitoplasma dan melekok ke dalam membungkus bakteri atau benda tersebut. Tonjolan sitoplasma (pseudopodia) yang saling bertemu itu akan melebur menjadi satu sehingga benda asing atau bakteri akan tertangkap di dalam sebuah vakuola fagositik intrasel. Enzim lisosom merupakan sistem pencernaan interasel makrofag dengan kemampuan memecah materi yang berasal dari luar maupun dari dalam. Jadi lisosom akan menyatu dengan vakuola akan memusnahkan bakteri atau benda asing tersebut (Efendi, 2003).



Gambar 4. Makrofag (A) berusaha menjangkau bakteri (C) dan menangkapnya dengan perpanjangan membran yang disebut pseudopodia (B). (Efendi, 2003)

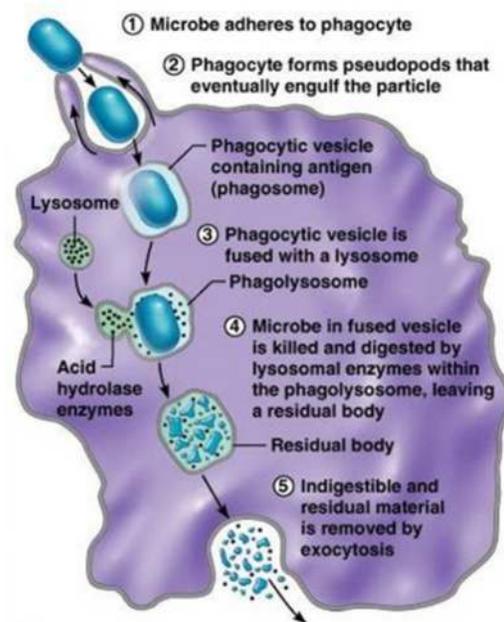
## 3. Fungsi dari makrofag

Sifat fagositik atau gerakan amuboidnya aktif dalam pertahanan tubuh terhadap mikroorganisme, memiliki reseptor untuk immunoglobulin pada membran selnya. Makrofag mempunyai fungsi utama memakan partikel (fagositosis) dan dicerna oleh lisosom dan menyalurkan sederetan substansi yang berperan dalam fungsi pertahanan dan perbaikan. Dalam sistem imun tubuh, sel ini berperan serta dalam mempengaruhi aktivitas dari respon imun, mereka menelan, memproses dan

menyimpan antigen dan menyampaikan informasi pada sel-sel berdekatan secara imunologis kompeten (limfosit dan sel plasma). Makrofag yang aktif merupakan sel sekretori yang dapat mengeluarkan beberapa substansi penting termasuk enzim lisozim, elastase, kolagenase, dua protein dari sistem komplemen dan agen anti virus yaitu interferon (**Kresno, 2001; Efendi, 2003**).

Proses Fagositosis, meliputi:

- 1 Pengenalan (recognition).** Mikrobial atau partikel asing terdeteksi oleh sel-sel fagosit.
- 2 Pergerakan (chemotaxis)** Setelah suatu partikel mikrobial dikenali, sel fagosit akan bergerak menuju partikel tersebut. Pada proses ini makrobial atau partikel asing mengeluarkan zat yang dapat memikat sel hidup seperti fagosit untuk menghampirinya.
- 3 Perlekatan (adhesion)** Sel fagosit bergerak menuju partikel asing, partikel tersebut akan melekat dengan reseptor pada membran sel fagosit.
- 4 Penelanan (ingestion).** Ketika partikel asing telah berikatan dengan reseptor di membran plasma sel fagosit, membran sel fagosit akan menyelubungi seluruh permukaan partikel asing dan menelannya ke sitoplasma dalam sebuah gelembung mirip vakuola yang disebut fagosom.
- 5 Pencernaan (digestion)** Lisosom yang berisi enzim-enzim penghancur seperti acid hydrolase dan peroksidase, berfungsi dengan fagosom membentuk fagolisosom. Enzim-enzim tersebut berfungsi mencerna seluruh permukaan partikel asing sampai hancur. Setelah infeksi tertanggulangi, beberapa neutrofil dan sel fagosit lain akan mati bersamaan dengan matinya sel-sel tubuh dan patogen. Sel-sel fagosit yang masih hidup maupun yang sudah mati serta sel-sel tubuh yang rusak selanjutnya akan membentuk nanah. Terbentuknya nanah merupakan indikator bahwa infeksi telah sembuh.
- 6 Pengeluaran (realising)** Produk sisa partikel asing yang tidak dicerna akan dikeluarkan oleh sel fagosit.



Gambar 5. Proses Fagositosis

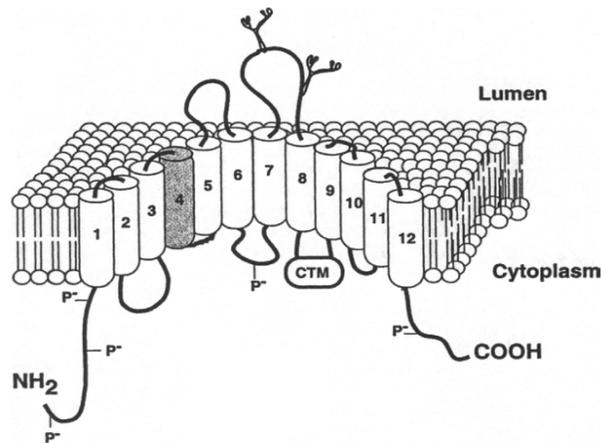
#### 4. Aktivasi Makrofag

Pada hakekatnya makrofag terlibat dalam semua stadium respon imun, dimulai dengan makrofag menangkap antigen kemudian memprosesnya lalu menyajikan antigen yang telah diproses dan diikat pada MHC kelas II kepada sel T-helper (Th). Dengan demikian makrofag berfungsi mengaktifasi limfosit. Sel Th teraktivasi memproduksi berbagai faktor kemotaktik yang menarik lebih banyak makrofag, granulosit dan limfosit. Setelah mengaktifasi limfosit, peran makrofag selanjutnya adalah meningkatkan proses inflamasi, tumorisidal dan mikrosidal. Aktivitas makrofag dipengaruhi oleh *Macrophage Activating Factor* (MAF), IFN-gamma (Interferon gamma) dan IL-3 (Interleukin 3) yang disekresikan oleh sel T (Kresno, 2001).

#### C. Natural Resistance Associate Macrophage Protein-1 (NRAMP-1)

Gen *NRAMP-1* sebelumnya dikenal dengan nama Solute Carrier Family 11 (SLC11A1) merupakan gen spesifik yang dapat menyandi proton yang digabung dengan divalen pengangkut ion logam dan pengaktifan kerja makrofag. Gen ini

memiliki beberapa region antara lain: D543N (1703 G/A), 3' untranslated region (3'UTR, 1729+55 del 4 TGTG/del) yang berada pada daerah 55 nukleotida downstream dari kodon terakhir pada exon 15, nukleotida tunggal pada Intron 4 (469+14 G/C) yang mana dapat memodulasi fungsi makrofag dan dilaporkan mempunyai hubungan dengan penyakit yang terkait dengan kekebalan tubuh (Fitness et al, 2004).



Gambar 6. Struktur NRAMP. Posisi Amino (NH<sub>2</sub>) dan Carboxy-termini (COOH) dari protein dikenali pada membran sitoplasma. NRAMP tersusun dari 12 domain transmembrane yang mendukung fungsi transporter (berlabel 1 - 12). Perkiraan wilayah transmembrane 4, bermutasi pada tikus yang membawa alel Bcg dari NRAMP1. Terjadi anemia mikrositik pada tikus yang bermutasi. Penentuan situs fosforilasi (P) dan glikosilasi (dalam luminal loop 4). Ditemukan gambaran beberapa alat pengangkutan membrane protein dari bakteri (CTM) dan eukariotik dalam loop sitoplasma (Vidal et al, 1993. Gros, 1998)

Makrofag merupakan sebuah sel integral yang melawan agen mikroorganisme patogen intraselluler dan NRAMP-1 memiliki peran yang signifikan dalam fase awal interaksi antara makrofag dan patogen. Gen *NRAMP-1* mempengaruhi banyak fungsi yang penting dalam pengaktifan makrofag meliputi up-regulasi, kemokin (KC), sitokin, histokompatibel kompleks utama (MHC) kelas II, aktivasi respirasi, apoptosis, dan ekspresi sitokin lainnya (Stober, et al, 2007). Mekanisme langsung oleh efek NRAMP-1 pada fungsi makrofag ini tidaklah begitu jelas. Namun gen *NRAMP-1* ini dapat menyandi suatu membran protein

integral yang dilokalisir pada endosomal dan kompartemen lisosomal dalam makrofag. Gen *NRAMP-1* berfungsi sebagai pengangkut ion logam yang mengatur tingkat seluler yang mungkin membatasi replikasi patogen intraseluler dengan mengubah lingkungan fagolisosomal (**Dustan, et al., 2001**).

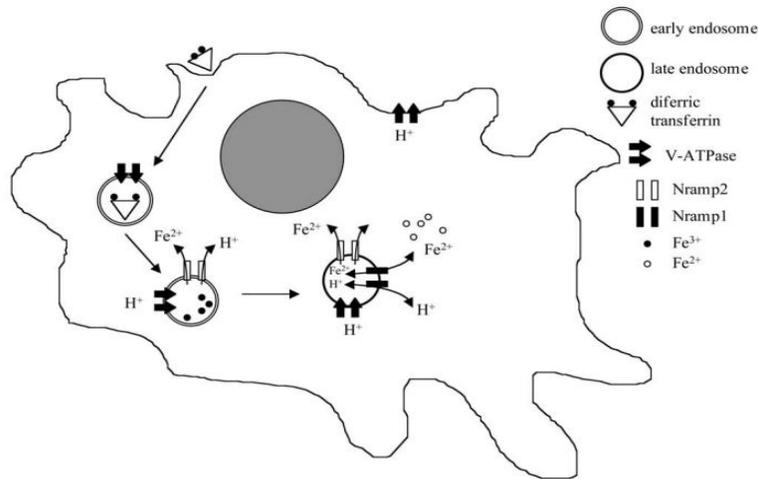
Gen *NRAMP-1* menyandi suatu divalen kation pengangkut protein yang dilibatkan dalam kendali replikasi intraphagosomal patogen intraseluler dan aktivasi makrofag. Ada banyak studi tentang hubungan antara gen *NRAMP-1* dan berbagai penyakit yang terkait dengan kekebalan seperti Mycobacteriosis, Salmonellosis dan Leshmaniasis. Namun hubungan itu belum begitu jelas (**Blackwell JM, 2001**).

Pada tikus, kerentanan untuk infeksi dengan patogen intraseluler seperti *Salmonella typhimurium*, *Mycobacterium* dan *Leishmania* dikontrol oleh gen *NRAMP-1* pada kromosom 1, yang mana pengaruhnya jarang terjadi pada replikasi parasit intraseluler di makrofag. Gen *NRAMP-1* dikode pada membran protein integral yang diekspresikan dalam leukosit makrofag / monosit dan polimorponuklear. Dimana pada protein dilokalisasi dalam lisosomal diruangan makrofag dengan cepat dihancurkan dalam partikel membran fagosom pada proses fagositosis. Gen *NRAMP-1* berfungsi sebagai pengangkut pH-dependen dan mempunyai efek pleiotropik terhadap berbagai efektor terkait sistem kekebalan untuk memudahkan penghancuran atau pembunuhan bakteri (**Techau ME, et al, 2007**).

Gen *NRAMP-1* ini pada manusia sama dengan gen *NRAMP-1* murine terutama dalam hal resistensinya terhadap parasit intraseluler termasuk *Bacillus calmette Guerin*, *Leishmania* dan *Salmonella*. Dimana *NRAMP-1* ini mengkode pula ion transporter yang diletakkan di membran lisosom selama fagositosis dari *Mycobacteria* dan patogen lainnya (**Fitnes, 2004**). **Canonne-Hergaux et al, (2002)** mengatakan antibodi poliklonal dihasilkan gen *NRAMP-1* untuk melawan kuman yang menginfeksi manusia dan menggunakan reagen untuk dilokalisasikan pada protein seluler dan subseluler di dalam neutrofil manusia. Kemungkinan fungsi *NRAMP-1* di dalam neutrofil yakni berhubungan dengan *NRAMP-1* yang memiliki

kepekaan terhadap penyakit seperti lepra dan penyakit penyebab radang seperti arthritis rheumatoid.

Daerah kromosomal NRAMP-1 pada tikus terdapat pada kromosom 1 sedangkan manusia pada kromosom 2q35. Pada manusia, lokasi yang paling tinggi ekspresi NRAMP-1 yaitu daerah sekeliling leukosit dan paru-paru. Sejumlah varian polimorfik telah digunakan untuk mempelajari asosiasi NRAMP-1 dan kepekaannya terhadap penyakit TB dan lepra. Studi dilakukan untuk mengukur asosiasi NRAMP-1 terhadap penyakit TB pada suatu populasi Gambia (Afrika barat) dimana dari hasil varian polimorfik menunjukkan bahwa gen *NRAMP-1* mempengaruhi kepekaan terhadap beberapa penyakit (Kishi F et al, 1999).



Gambar 7. Nramp1 berfungsi dalam proses homeostasis ion logam dalam makrofag: Aktivitas simport Nramp2 memberikan Fe<sup>2+</sup> di awal membran endosomal ke sitosol, setelah perekrutan vesikular ATPase (V-ATPase) dan pengasaman vakuola. Aktivitas antiport Nramp1 kemudian mengangkut Fe<sup>2+</sup> ke endosom akhir asam dan lisosom di mana radikal toksik dihasilkan melalui reaksi Fenton dan/atau Haber-Weiss. Fungsi Nramp1 juga memberikan Fe<sup>2+</sup> ke dalam sitosol. (Samuel Wyllie, Philip Seu, John A. Goss, 2002)

Beberapa fungsi NRAMP-1 pada infeksi mikroba yakni mengatur pengaktifan makrofag pada infeksi dan penyakit autoimun. Sedangkan NRAMP-

2 mengendalikan penyakit anemia. Kedua-duanya adalah pengangkut divalen kation ( $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ , dan  $\text{Mn}^{2+}$ ), NRAMP-2 merupakan suatu simpporter  $\text{H}^+$  dan ion logam, sedangkan NRAMP-1 adalah suatu antiporter  $\text{H}^+$  atau divalen kation. Hal ini menyediakan suatu model untuk ion logam homeostasis di dalam makrofag. NRAMP-2 dilokasi awal endosom dengan ekstraseluler memperoleh divalen kation ke dalam sitosol. NRAMP-1 dilokasi untuk memperlambat proses lisosom yang membawa divalen kation dari sitosol ke fagolisom. Pada ion  $\text{Fe}^{2+}$  menghasilkan antimikrobal hidroksil yang radikal pada reaksi Fenton. Ion  $\text{Zn}^{2+}$  dan  $\text{Mn}^{2+}$  dapat juga mempengaruhi aktivitas endosomal menghasilkan metalloprotease dan penghancuran fagolisosom. Kebanyakan seluler berfungsi pada dependen ion logam sebagai kofaktor dapat menjelaskan berbagai efek NRAMP-1 pleiotropik dan berperan pada infeksi penyakit autoimun (**Yang YS et.al., 2000**).

Gen *NRAMP-1* mengkode makrofag polipeptida spesifik yang diprediksi dalam gambaran karakteristik pada membran protein integral. Analisis urutan nukleotida NRAMP pada cDNA ditunjukkan dalam 27 perkawinan pada strain tikus yang tidak peka pada fenotifnya (**Malo dkk, 1994**). Klon cDNA dikloning dan dikarakteristik dari gen *NRAMP* manusia. Analisis urutan diindikasikan pada polipeptida manusia yaitu 550 asam amino membran protein dalam 10 sampai 12 yang diduga termasuk domain transmembran (**Liu J et al, 1995**).

**Kishi F (1999)** mengisolasi cDNA yang mengkode NRAMP manusia yang ukurannya 2,245-bp untuk menghasilkan protein 483 residu asam amino dimana bobot molekularnya adalah 52.8 kD. Dalam hal ini urutan asam amino adalah 89% homolog dengan tikus. Perubahan asam amino dari asam glisin menjadi asam aspartat pada posisi 169 (G169 dan D169) di dalam NRAMP-1 yang dihubungkan dengan kepekaan fenotipe. Hubungan antara NRAMP-1 dan kepekaan pada patogen intraseluler yang ditetapkan berdasarkan konstruksi dari NRAMP-1 tikus dan resistensi alel transgenik (NRAMP1G169) ini peka pada alel tikus (NRAMP1D169). Pada typhimurium, kepekaan alel NRAMP-1 tikus tidak mampu untuk mengendalikan infeksi pada mikroba yang jumlahnya sedikit sampai mengalami kematian. Tetapi *S. typhimurium* tumbuh pada tingkat lebih lambat dan cepat dimusnahkan dari binatang (**Dustan, et.al., 2001**).

**Cellier MF (2013)** mengatakan gen *NRAMP* berisi sedikitnya 15 exon dan 1 exon disandikan oleh asam amino Ala yang ada di dalam intron 4. Menurut **Blackwell dkk. (1995)** bahwa gen *NRAMP* manusia memutar 12 kb dan mempunyai 15 exon. Pada tahap transkripsi, lokasi inisiasi memetakan 148 bp pada proses translasi di kodon inisiasi.

**Liu J, et al. (1995)** mengidentifikasi 9 urutan varian exon yang dihubungkan dengan gen *NRAMP*. Empat varian di dalam daerah persandian gen yaitu 2 pada missin mutasi dan 2 pada substansi nukleotida pengganti. Suatu mikrosatelit terletak dalam region gen, 3 varian di dalam intron, dan 1 varian terletak di dalam 3'UTR. Hubungan 2 marker mikrosatelit ini sangat polimorfik yakni D2S104 dan D2S173 berubah menjadi *NRAMP-1* pada 1.5-MB YAC. Marker molekular ini berperan pada *NRAMP-1* di dalam kepekaan terhadap penyakit tuberculosis dan makrofag lain.

*Natural Resistensi Associated Macrophage Proteins (NRAMP)* ditemukan oleh Hughes ketika mempelajari gen-gen yang terdapat pada mamalia. *NRAMP* termasuk ke dalam sebuah sistem kekebalan tubuh dari seluruh protein membran yang dikenal pula dengan nama *Solute Carrier family 11 (SLC11A)*. *NRAMP-1 (SLC11A1)* adalah sebuah gen makrophage intraseluler yang berlokasi pada membran phagosomal di dalam kromosom 2q35. Ia berfungsi sebagai pengangkut ion kation yaitu  $Fe^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$  dan  $Mn^{2+}$ . *NRAMP-1* memiliki pH yang dapat mentranspor salah satu ion metal ke dalam atau ke luar dari fagosom melawan sebuah gradien proton kemudian merangsang kerja imun selular dengan melisis dan membunuh benda-benda asing (**Cellier, 2013**).

Pada manusia, polimorfisme yang terbentuk oleh gen *NRAMP-1* diduga ada hubungannya dengan *M. tuberculosis* dan leprosy. Gen *NRAMP-1* disimpan pada suhu 4<sup>0</sup>C dan tidak boleh dibekukan serta dapat bertahan stabil dalam penyimpanan selama satu tahun (**Liu, 2000**).

Sejumlah variasi polimorfisme dapat digunakan untuk mempelajari hubungan antara gen *NRAMP-1* dengan beberapa penyakit seperti leprosy dan tuberculosis. Salah satu penelitian dasar untuk menganalisa gen *NRAMP-1* pada 160 individu dari Vietnam menunjukkan bahwa gen *NRAMP-1* memiliki hubungan

dengan penyakit leprosy. Pada penelitian lain, hubungan gen *NRAMP-1* dengan uji klimaks tuberkulosis pada populasi Gambia (Afrika Barat) menunjukkan bahwa variasi polimorfisme berpengaruh terhadap penyakit tersebut. Identifikasi gen *NRAMP-1* menggambarkan nilai hubungan genomik untuk identifikasi dan karakterisasi kuman penyakit untuk membedakan antara *host* yang mudah terserang penyakit (*susceptible*) dengan yang resisten (**Duns, 2001**)

Gen *NRAMP-1* memiliki banyak lokus diantaranya lokus D543N (1703 G/A), 3' untranslated region (3'UTR, 1729+55 del 4 TGTG/del) yang berada pada daerah 55 nukleotida *downstream* dari kodon terakhir pada exon 15, nukleotida tunggal pada Intron 4 (469+14 G/C) yang mana dapat memodulasi fungsi makrofag dan dilaporkan mempunyai hubungan dengan penyakit yang terkait dengan kekebalan tubuh (**Fitness, et.al., 2004**).

#### **D. ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay)**

*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) merupakan suatu teknik biokimia untuk mendeteksi kehadiran antibodi atau antigen dalam suatu sampel. ELISA dipakai untuk pengujian semua antigen, hapten atau antibody. Prinsip kerja dari teknik ELISA adalah berdasarkan reaksi spesifik antara antibody dan antigen dengan menggunakan enzim sebagai penanda (marker). Enzim tersebut akan memberikan suatu tanda terdapatnya suatu antigen jika antigen tersebut sudah bereaksi dengan antibodi. Reaksi tersebut memerlukan antibody spesifik yang berikatan dengan antigen (**Baker dkk, 2007**).

Teknik ELISA didasarkan pada reaksi spesifik antara antigen dengan antibodi yang memiliki sensitivitas dan spesifitas tinggi dengan menggunakan enzim sebagai indikator. Prinsip dasar ELISA adalah analisis interaksi antara antigen dan antibodi dengan menggunakan enzim sebagai penanda reaksi (**Yusrini 2005**). Prinsip kerja ELISA adalah adanya ikatan antara antigen dan antibodi kompleks dengan penambahan substrat tertentu dan enzim peroksida yang akan memberikan perubahan warna pada hasil yang positif (**Azwar 1985**).

*Sandwich* ELISA dicirikan oleh antibodi penangkap antigen yang diikatkan pada fase padat. Teknik tersebut terdiri dari dua macam, yaitu *direct sandwich*

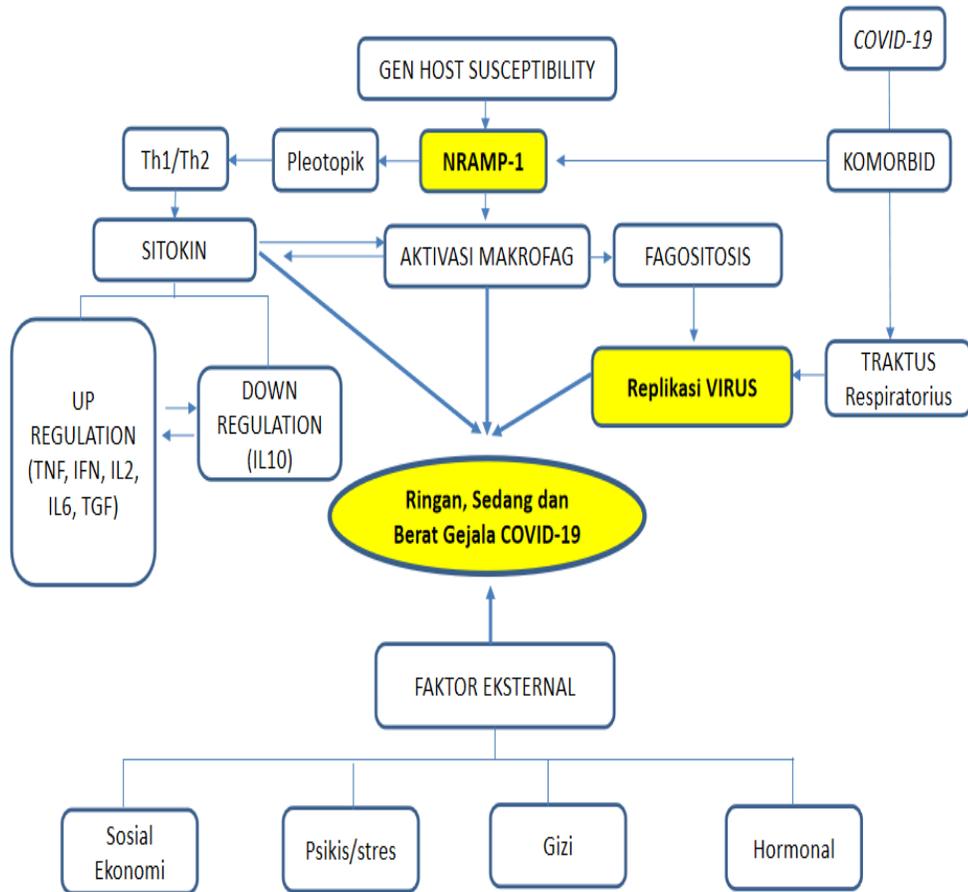
ELISA dan *indirect sandwich* ELISA. Antibodi penangkap pertama kali diletakkan ke dalam *well* kemudian antigen dari darah atau urin ditambahkan ke dalam *well* sehingga berikatan dengan antibodi penangkap. Jika ke dalam *well* langsung ditambahkan antibodi detektor yang telah dilabel enzim maka disebut dengan *direct sandwich* ELISA, sedangkan apabila ditambahkan antibodi detektor yang tanpa dilabel enzim terlebih dahulu disebut dengan *indirect sandwich* ELISA (Berg 2002). Prosedur ini memiliki keuntungan diantaranya spesifitasnya tinggi, dapat digunakan untuk sampel kompleks dan sensitif (Elisa, 2017).

Pengamatan hasil ELISA dilakukan secara kuantitatif maupun kualitatif. Hasil ELISA secara kuantitatif dapat diamati dari nilai *optical density* (OD) yang diukur dengan menggunakan ELISA *reader*. Hasil kuantitatif diinterpretasikan dalam perbandingan dengan kurva standar (*purifikasi antigen*) agar dapat secara tepat digunakan untuk menghitung konsentrasi antigen dalam berbagai sampel (Elisa, 2017). Hasil ELISA secara kualitatif dapat diamati dengan adanya perubahan warna menjadi kuning pada reaksi pengujian jika sampel yang diuji mengandung antigen. Semakin tinggi intensitas warna yang terbentuk, maka semakin tinggi pula konsentrasi antigen pada sampel tersebut (Miller, 2006). Data ELISA biasanya digambarkan dengan nilai *optical density* (OD) dan konsentrasi log untuk menghasilkan kurva sigmoidal. Hal ini dapat dilakukan dengan menggambar grafik langsung atau dengan software *MS Excel curve fitting* yang ada pada ELISA *reader* (Elisa, 2017).

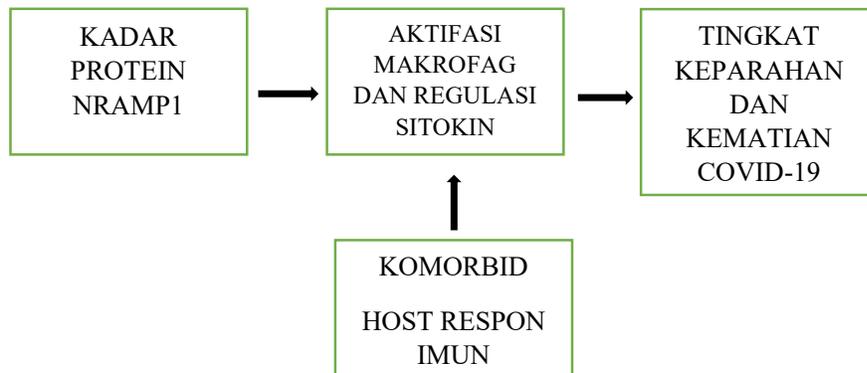
## **E. HIPOTESIS**

1. Kadar protein NRAMP-1 yang rendah berhubungan dengan tingkat keparahan derajat yang berat pada penderita Covid-19.
2. Kadar protein NRAMP-1 yang rendah berhubungan dengan komorbid pada penderita Covid-19.
3. Kadar protein NRAMP-1 yang rendah berhubungan dengan kematian yang tinggi pada penderita Covid-19.

**F. KERANGKA TEORI**



**G. KERANGKA KONSEP**



**VARIABEL INDEPENDENT    VARIABEL ANTARA    VARIABEL DEPENDEN**