SKRIPSI

PERBANDINGAN NILAI CT ANTARA PASIEN SIMPTOMATIK DENGAN ASIMPTOMATIK PADA PENDERITA COVID-19 DI GERAI SWAB SATGAS COVID-19 FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS HASANUDDIN PERIODE AGUSTUS – SEPTEMBER 2021

Diusulkan oleh :

Ashrul Ainunjari Al Fajri

C011181309

Pembimbing :

dr. Qushay Umar Malinta, M.Sc

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS HASANUDDIN

2021

SKRIPSI

DIFFERENCES OF CT VALUES BETWEEN SYMPTOMATIC AND ASYMPTOMATIC COVID-19 PATIENTS AT THE SATGAS COVID-19 SWAB OUTLETS FACULTY OF MEDICINE HASANUDDIN UNIVERSITY BY AUGUST – SEPTEMBER 2021 PERIODS

By :

Ashrul Ainunjari Al Fajri

C011181309

Supervisor :

dr. Qushay Umar Malinta, M.Sc

FACULTY OF MEDICINE

HASANUDDIN UNIVERSITY

2021

HALAMAN PENGESAHAN

Telah disetujui untuk dibacakan pada seminar akhir di Departemen Fisiologi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin dengan judul :

"PERBANDINGAN NILAI CT ANTARA PASIEN SIMPTOMATIK DENGAN ASIMPTOMATIK PADA PENDERITA COVID-19 DI GERAI SAWAB SATGAS COVID-19 FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS HASANUDDIN PERIODE AGUSTUS – SEPTEMBER 2021"

Hari, Tanggal	**: Rabu, 6 April 2022**
Waktu	**: 13.00 WITA - selesai**
Tempat	**: ZOOM Meeting**

Makassar, 6 April 2022

(dr. Qushay Umar Malinta, M.Sc)

NIP. 19850726 201012 1 006

HALAMAN PENGESAHAN

SKRIPSI

"PERBANDINGAN NILAI CT ANTARA PASIEN SIMPTOMATIK DENGAN ASIMPTOMATIK PADA PENDERITA COVID-19 DI GERAI SWAB SATGAS COVID-19 FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS HASANUDDIN PERIODE AGUSTUS – SEPTEMBER 2021"

Disusun dan Diajukan oleh

Ashrul Ainunjari Al Fajri

C011181309

Menyetujui

Panitia Penguji

No	Nama Penguji	Jabatan	Tanda Tangan
1	dr. Qushay Umar Malinta, M.Sc	Pembimbing	1.
2	dr. M. Aryadi Arsyad, MBiomedSc, Ph.D	Penguji 1	2.
3	dr. Munawir, M.Kes, Sp.MK	Penguji 2	3.

Mengetahui:

Wakil dekan Bidang Akademik, Riset & Inovasi FakultasKedokteran Universitas Hasanuddin	Ketua Program Studi Sarjana Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin
Dr.dr. Irfan Idris, M.Kes	Dr.dr. Sitti Rafiah, M.Si
NIP 196711031998021001	NIP 196805301997032001

DEPARTEMEN FISIOLOGI

UNIVERSITAS HASANUDDIN

2022

TELAH DISETUJUI UNTUK DICETAK DAN DIPERBANYAK

Skripsi dengan judul:

"PERBANDINGAN NILAI CT ANTARA PASIEN SIMPTOMATIK DENGAN ASIMPTOMATIK PADA PENDERITA COVID-19 DI GERAI SWAB SATGAS COVID-19 FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS HASANUDDIN PERIODE AGUSTUS – SEPTEMBER 2021"

Makassar, 6 April 2022

Pembimbing,

(dr. Qushay Umar Malinta, M.Sc)

NIP. 19850726 201012 1 006

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh

Nama	: Ashrul Ainunjari Al Fajri
NIM	: C011181309
Fakultas/Program Studi	: Kedokteran / Pendidikan Dokter Umum
Judul Skripsi	: Perbandingan Nilai Ct Antara Pasien Simptomatik Dengan Asimptomatik Pada Penderita Covid-19 di Gerai Swab Satgas Covid-19 Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Periode Agustus – September 2021

Telah berhasil dipertahankan dihadapan dewan penguji dan diterima sebagai bahan persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar sarjana kedokteran pada Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin

DEWAN PENGUJI

No	Nama Penguji	Jabatan	Tanda Tangan
1	dr. Qushay Umar Malinta, M.Sc	Pembimbing	1.
2	dr. M. Aryadi Arsyad, MBiomedSc, Ph.D	Penguji 1	2.
3	dr. Munawir, M.Kes, Sp.MK	Penguji 2	3.

Ditetapkan di : Makassar

Tanggal : 6 April 2022

HALAMAN PERNYATAAN ANTI PLAGIARISME

Yang bertanda tangan dibawah ini, saya:

Nama	: Ashrul Ainunjari Al Fajri
NIM	: C011181309
Program Studi	: Pendidikan Dokter Umum

Dengan ini menyatakan bahwa seluruh skripsi ini adalah hasil karya saya. Apabila ada kutipan atau pemakaian dari hasil karya orang lain berupa tulisan, data, gambar, ayau ilustrasi baik yang telah dipublikasi atau belum dipublikasi, telah direferensi sesuai dengan ketentuan akademis.

Saya menyadari plagiarisme adalah kejahatan akademik, dan melakukannya akan menyebabkan sanksi yang berat berupa pembatalan skripsi dan sanksi akademik lain.

Makassar, 6 April 2022

Yang menyatakan,

Ashrul Ainunjari Al Fajri

Nim : C011181309

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Wr.Wb.

Alhamdulillahirabbil Alamin, puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT, *Ar-Rahman, Ar-Rahim,* atas segala rahmat dan hidayah-Nya telah memberikan kesabaran, kekuatan, dan keikhlasan kepada penulis sehinggapenulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **"Perbandingan Nilai CT Antara Pasien Simptomatik Dengan Asimptomatik Pada Penderita Covid-19 di Gerai Swab Satgas Covid-19 Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Periode Agustus – September 2021"** sebagai salah satu syarat penyelesaian untuk menyelesaikan studi kepaniteraan pre-klinik di Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin. Shalawat bertangkaikan salam semoga selalu kita haturkan kepada junjungan kita Nabi Muhammad SAW Sang kekasih Allah, dengan syafaat dari beliaulah kita dapat terbebas dari zaman kejahiliyahan.

Dalam menulis skripsi ini, penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kata sempurna dan banyak kekurangan dikarenakan oleh segala keterbatasan dan kemampuan yang penulis miliki. Namun, penulis berusaha untuk menyajikan skripsi ini sebaik-baiknya agar dapat memiliki manfaat bagi banyak pihak. Oleh karena itu, penulis akan menerima segala kritik dan saran yang membangun dalam perbaikan skripsi ini.

Dalam penyusunan skripsi dan penelitian ini penulis banyak mendapat bimbingan, dukungan, dan bantuan dari berbagai pihak, baik moril maupun materil, sehingga skripsi ini akhirnya dapat terselesaikan.

Untuk itu, dengan penuh kerendahan dan ketulusan hati penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Kepada Allah *subhanahuwata'ala* atas ijin-Nya lah sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini
2. Kepada Nabi Muhammad SAW, yang telah menyingkirkan pemikiran *jahiliyah* sehingga dapat membawa manusia ke zaman yang penuh ilmu sepertisekarang ini
3. Kepada kedua orang tua dan adik penulis yang telah telah memberikan doa, dukungan, kasih sayang, dan terus memberikan motivasi kepada penulis sehingga dapat menjadi seperti sekarang ini

4. dr. Qushay Umar Malinta, M.Sc, selaku dosen pembimbing yang telah memberikan waktu, tenaga, dan pikiran beliau untuk memberikan petunjuk, arahan, bimbingan, serta pengetahuan kepada penulis selama penyusunan skripsi ini.
5. dr. Muh. Aryadi Arsyad, M.Biom.Sc., Ph.D, selaku penguji yang telah memberikan kritik dan saran yang membangun bagi penulis dalam penyusunan skripsi ini
6. dr. Munawir, M.Kes, Sp.MK, selaku penguji yang telah memberikan kritik dan saran yang membangun bagi penulis dalam penyusunan skripsi ini.
7. Para dokter dan dosen pengampu yang telah memberikan ilmu yang tak terbatas sealam kuliah di Universitas Hasanuddin.
8. Terimakasih kepada Hismiranda Bakhtiar yang selalu menemani dan memberikan banyak semangat dalam pengerjaan skripsi ini.
9. Sahabat-sahabat penulis sekaligus sejawat, Igo, Aswar, Rusli, Sakti, Wawan, Iksan, Yasin, Levy, Fiqri, Nak-nak rucong, dan masih banyak lagi teman-teman yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu yang telah banyak membantu, mendukung, menemani, dan memberikan arahan kepada penulis.

Akhir kata, dengan segala kerendahan hati penulis mengucapkan terima kasih banyak kepada semua pihak yang terlibat, dengan harapan semoga penelitian ini bermanfaat bagi semua pihak, kurang atau lebihnya mohon dimaafkan.

Semoga Rahmat dan Hidayah-Nya selalu tercurah kepada kita semua.
Amin yaa Rabbal ‘alamin.
Wassalamu’alaikum Wr.Wb.

Makassar, 06 April 2022

Ashrul Ainunjari Al Fajri

DAFTAR ISI

HALAMAN PENGESAHAN i
HALAMAN PERNYATAAN ANTI PLAGIARISME v
KATA PENGANTAR vi
DAFTAR ISI viii
DAFTAR GAMBAR x
DAFTAR TABEL xi
ABSTRAK xii
BAB I PENDAHULUAN 1
1.1 Latar Belakang 1
1.2 Rumusan Masalah 3
1.3 Tujuan Penelitian 3
1.3.1 Tujuan Umum 3
1.4 Manfaat Penelitian 3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA 4
2.1 Penyakit COVID-19 4
2.1.1 Definisi 4
2.1.2 SARS-CoV-2 4
2.1.3 Faktor Virulensi Spesifik SARS-CoV-2 5
2.1.4 Tahap Replikasi Virus 6
2.1.5 Patofisiologi COVID-19 8
2.1.6 Menifestasi klinis 10
2.1.7 Diagnosis Laboratorium 11
2.1.8 Nilai CT dalam aspek klinis 24
BAB III KERANGKA KONSEPTUAL HIPOTESIS PENELITIAN 26
3.1 Kerangka Teori 26
3.2 Kerangka Konsep 26
3.3 Variabel 27
3.4 Hipotesis 27
3.4.1 Hipotesis Nol (H_0) 27
3.4.2 Hipotesis Alternatif (H_a) 27
3.5 Definisi Operasional 28

BAB IV METODE PENELITIAN 30
4.1 Desain Penelitian 30
4.2 Tempat dan Waktu Penelitian 30
4.2.1 Tempat penelitian 30
4.2.2 Waktu Penelitian 30
4.4 Populasi dan Sampel 30
4.4.1. Populasi 30
4.4.2. Sampel 30
4.4.3. Teknik Pengambilan Sampel 32
4.5 Prosedur Penelitian 32
4.5.1 Persiapan Penelitian 32
4.5.2 Pelaksanaan Penelitian 32
4.5.3 Pelaporan Penelitian 32
4.6 Teknik Pengumpulan Data 33
4.7 Izin Penelitian dan *Ethical Clearance* 34
4.8 Rencana Pengolahan Data 34
BAB V HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS HASIL PENELITIAN 35
5.1 Hasil Penelitian 35
5.3 Analisis Hasil Penelitian 35
5.3.1 Karakteristik Sampel Pasien COVID-19 35
5.2.3. Perbandingan Nilai CT Antara Pasien Simptomatik Dengan Asimptomatik Pada Penderita COVID-19 36
BAB VI PEMBAHASAN 39
6.1 Karakteristik Sampel Pasien COVID-19 39
6.2 Perbandingan Nilai CT Antara Pasien Simptomatik Dengan Asimptomatik Pada Penderita COVID-19 43
BAB VII KESIMPULAN DAN SARAN 45
7.1 Kesimpulan 45
7.2 Saran 45
DAFTAR PUSTAKA 46
LAMPIRAN 50

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Struktur Virus SARS-CoV-2 (Cov, 2020) 5

Gambar 2.2 Virus corona dan siklus hidupnya 7

Gambar 2.3 Patomekanisme molekuler COVID-19 9

Gambar 2.4 Manifestasi klinis pulmonar dan ekstra-pulmonar infeksi COVID-19 11

Gambar 2.5 Waktu dan jenis spesimen yang harus dianalisis untuk deteksi efektif dari RNA SARS-CoV-2 atau antibodi anti SARS-CoV-2 pada tubuh manusia 13

Gambar 2.6 Struktur genome SARS-CoV-2 dan probe untuk deteksi molekuler RNA SARS-CoV-2 pada sampel manusia 15

Gambar 2.7 Skema alur kerja metode diagnostik berbasis RT-PCR 16

Gambar 2.8 Taqman Probe/hidrolisis probe 19

Gambar 2.9 Sybr Green I 20

Gambar 2.10 Kurva amplifikasi dan Threshold cycle (CT) 21

Gambar 2.11 Ilustrasi analisa kuantitatif 23

Gambar 2.12 Gambar 2.12 Kurva amplifikasi positif untuk ketiga gen dalam satu sampel (RdRP=FAM, E= HEX, RP=Cy5) 24

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Interpretasi hasil rRT-PCR dengan protocol CDC 23

Tabel 5.1 Frekunsensi karakteristik dan persentase jenis kelamin dengan Kategori usia di Gerai Swab Satgas FKUH priode Agustus – September 2021 35

Tabel 5.2 Frekunsensi karakteristik dan persentase manifestasi klinik dengan kategori nilai CT di Gerai Swab Satgas FKUH priode Agustus – September 2021..... 36

Tabel 5.3 Uji Normalitas Pada Sebaran Data 37

Tabel 5.4 Perbandingan nilai CT pada pasien simptomatik dan asimptomatik di Gerai Swab Satgas FKUH priode Agustus – September 2021..... 37

SKRIPSI
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
APRIL, 2022

Ashrul Ainunjari Al Fajri
dr. Qushay Umar Malinta, M.Sc

PERBANDINGAN NILAI CT ANTARA PASIEN SIMPTOMATIK DENGAN ASIMPTOMATIK PADA PENDERITA COVID-19 DI GERAI SWAB SATGAS COVID-19 FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS HASANUDDIN PERIODE AGUSTUS – SEPTEMBER 2021

ABSTRAK

Latar Belakang : CoronaVirus Infectious Disease-19 atau Covid-19 merupakan penyakit infeksi yang disebabkan oleh *Severe Acute Respiratory Syndrome-Corona Virus-2* (*SARS-CoV-2*). Manifestasi klinik yang ditimbulkan oleh akibat virus ini juga bervariasi. Mulai dari tanpa gejala atau asimptomatik dan bergejala atau simptomatik. Dengan adanya masa inkubasi yang diperlukan oleh SARS-CoV-2 dan kasus asimptomatik yang membuat penyebaran virus ini sulit untuk dideteksi. Data menunjukan bahwa pasien yang asimptomatik dapat menjadi pembawa virus dengan jumlah virus yang tinggi (High viral load) atau dengan nilai Cycle Threshold (CT) yang rendah.

Tujuan : Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbandingan nilai CT pada pasien COVID-19 di Gerai Swab Satgas Covid-19 Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin periode Agustus – September 2021.

Metode : Metode penelitian yang digunakan adalah *observational analitik* dengan pendekatan *cross sectional* dan menggunakan data sekunder yang diperoleh dari Gerai Swab Satgas Covid-19 Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin pada bulan Agustus – September 2021.

Hasil : Dari total 325 sampel pasien COVID-19 didapatkan bahwa dominan sampel berjenis kelamin perempuan yaitu sebanyak 187 sampel (57.5%) sedangkan berjenis kelamin laki-laki ada sebanyak 138 sampel (42.5%). Karakteristik berdasarkan kategori usia presentasi paling tinggi berada pada rentang usia dewasa (20 – 60 tahun) yaitu sebanyak 267 sampel (82.2%). Pada Hasil sampel manifestasi klinik dominan simptomatik yaitu sebanyak 226 sampel (69.5%) sedangkan yang asimptomatik ada sebanyak 99 sampel (30.5%). Hasil uji non-parametrik dengan *Mann-Whitney*, pada perbandingan nilai CT antara pasien simptomatik dan asimptomatik didapatkan hasil berupa tidak ada perbedaan nilai CT (p=0.088) antara pasien asimptomatik dan simptomatik.

Kesimpulan : Dari hasil penelitian terhadap 325 sampel pasien COVID-19 yang dikumpulkan dari Gerai Swab Satgas Covid-19 Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin pada bulan Agustus – September 2021 ditemukan hasil dominan sampel manifestasi klinik pada simptomatik yaitu sebanyak 226 sampel sedangkan yang asimptomatik ada sebanyak 99 sampel dan tidak terdapat perbedaan nilai CT yang signifikan antara pasien COVID-19 yang simptomatik dan asimptomatik yang di rawat jalan.

Kata Kunci : Covid-19, *SARS-CoV-2*, *Cycle Threshold* (CT), Manifestasi Klinis

RESEARCH PAPER
FACULTY OF MEDICINE
HASANUDDIN UNIVERSITY
APRIL, 2022

Ashrul Ainunjari Al Fajri
dr. Qushay Umar Malinta, M.Sc

COMPARISON OF CT VALUES BETWEEN SYMPTOMATIC AND ASSYMPTOMATIC PATIENTS IN COVID-19 PATIENTS IN SWAB OUTLETS OF THE COVID-19 TASK TASK FACULTY OF MEDICINE HASANUDDIN UNIVERSITY FOR AUGUST – SEPTEMBER 2021

ABSTRACT

Background: CoronaVirus Infectious Disease-19 or Covid-19 is an infectious disease caused by *Severe Acute Respiratory Syndrome-Corona Virus-2* (*SARS-CoV-2*). The clinical manifestations caused by this virus also vary. Starting from asymptomatic and symptomatic or symptomatic. With the incubation period required by SARS-CoV-2 and asymptomatic cases that make the spread of this virus difficult to detect. The data show that asymptomatic patients can be carriers of the virus with a high viral load (high viral load) or a low Cycle Threshold (CT) value.

Objective: This study aims to compare the CT values in COVID-19 patients at the Covid-19 Task Force Swab Outlets, Faculty of Medicine, Hasanuddin University for the period August – September 2021.

Methods: The research method used was *analytical observational* with a *cross sectional* and used secondary data collected from obtained from the Covid-19 Task Force Swab Outlet, Faculty of Medicine, Hasanuddin University in August – September 2021.

Results: From a total of 325 samples of COVID-19 patients, it was found that the dominant sample was female, namely 187 samples (57.5%) while male there were 138 samples (42.5%). The characteristics based on the presentation age category were the highest in the adult age range (20 – 60 years) as many as 267 samples (82.2%). In the sample results, the dominant symptomatic clinical manifestations were 226 samples (69.5%) while the asymptomatic were 99 samples (30.5%). The results of the non-parametric test with *Mann-Whitney*, in the comparison of CT values between symptomatic and asymptomatic patients, there was no difference in CT values ($p = 0.088$) between asymptomatic and symptomatic patients.

Conclusion: From the results of research on 325 samples of COVID-19 patients collected from the Covid-19 Task Force Swab Outlet, Faculty of Medicine, Hasanuddin University in August - September 2021, it was found that the dominant sample of clinical manifestations was symptomatic, namely 226 samples while the asymptomatic were 99 samples. and there was no significant difference in CT values between symptomatic and asymptomatic COVID-19 patients who were outpatients.

Keywords: Covid-19, *SARS-CoV-2, Cycle Threshold* (CT), Clinical Manifestations

BAB I
PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Corona Virus Infectious Disesase-19 atau disebut dengan Covid-19 adalah penyakit infeksi yang disebabkan oleh *Severe Acute Respiratory Syndrome-Corona Virus-2* (*SARS-CoV-2*). Berawal dari di temukannya kasus pneumonia baru di bulan Desember 2019 yang menular antar manusia. Didapatkan beberapa orang setelah mengunjungi pasar makanan laut dan hewan hidup reaktif sehingga peneliti diminta untuk melakukan konfirmasi terhadap hipotesa bahwa mungkin ini sumber awal dari *SARS-CoV-2* (Zhou et al., 2020). World Helath Organization (WHO) memberikan peringatan pada tanggal 30 Desember 2019 dan pada 30 Januari 2020 lali, isinya menyatakan infeksi virus *SARS-CoV-2* sebagai Masalah Masyarakat internasional. Pada tanggal 11 Maret 2020 WHO mengumumkan bahwa dunia berada di masa pandemi setelah kasus ditemukan pada banyak negara (World Health Organization, 2021).

Setelah WHO menyatakan pandemic, tidak lama setelahnya *Sars-CoV-2* ini masuk ke Indonesia. Awal teridentifikasinya virus ini pertama kali di Indonesia pada 2 Maret 2020 (World Health Organization, 2021). Hingga tanggal 8 Sepetember 2021 kasus yang terkonfrimasi di Indonesia mencapai 4.147.305, meninggal 137.782, dan kasus sembuh sebanyak 3.876.760 (World Health Organization, 2021). Manifestasi klinik yang ditimbulkan oleh akibat virus ini juga bervariasi. Mulai dari tanpa gejala atau asimptomatik dan bergejala atau simptomatik. Dengan adanya masa inkubasi yang di perlukan oleh *SARS-CoV-2* dan kasus asimptomatik yang membuat penyebaran virus ini sulit untuk dideteksi. Data menunjukan bahwa pasien-pasien yang asimptomatik dapat menjadi pembawa virus dengan jumlah virus yang tinggi (*High viral load*) atau dengan nilai *Cycle Treshold* (CT) yang rendah menurut pandangan saya setelah mengamati di Gerai Swab Satgas Covid-19 Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin (UH) tempat di laksanakannya skrining swab PCR gratis. Terlebih lagi kasus asimptomatis ini umumnya di jumpai pada

rentang usia masih produktif atau orang kantor yang bekerja di ruangan tertutup yang membuat penyebaran virus ini semakin sulit untuk dikendalikan.

Untuk mengantisipasi penularan *SARS-CoV-2* maka dilakukan program *contact tracing* dengan tujuan untuk menskrining individu-individu yang asimptomatik dan terinfeksi virus ini lebih dini sehingga angka penyebaran *SARS-CoV-2* dapat ditekan. Beberapa jenis pemeriksaan laboratorium terus dikembangkan untuk mengidentifikasi virus ini. Namun, pemeriksaan molekuler dengan metode *quantitative Real Time-Polymerase Chain Reaction* (qRT-PCR) dapat tetap menjadi gold standar untuk penegakan diagnosis kasus ini menurut dokter-dokter spesialis Mikrobiologi Klinik dan lab mikrobiologi di daerah makassar khususnya Balai Besar Laboratorium Kesehatan Makassar (BBLK). Pada pemeriksaan molekuler ini tidak hanya mampu mendeteksi keberadaan material genetik virus tetapi juga dapat memberikan gambaran jumlah virus (*viral load)* yang terdapat pada spesimen yang digunakan yang tergambar pada nilai CT.

Saat ini fasilitas pemeriksaan molekuler terus mengalami penambahan dan semakin berkembang serta mulai tersebar luas di Indonesia namun belum tersedia sebagai pemeriksaan rutin. Sementara itu, masyarakat sering terpapar mengenai hasil pemeriksaan PCR khususnya pada nilai CT. Secara teoritis nilai CT diduga berkaitan dengan manifestasi klinis. Namun banyak masyarakat yang beranggapan bahwa nilai CT yang tinggi tidak menjadi masalah dibandingkan dengan nilai CT yang rendah menurut beberapa pasien rawat jalan yangtelah melakukan skrining di Gerai Swab Satgas Covid-19 Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin. Oleh karena itu, peneliti merasa tertarik untuk melakukan analisis Perbandingan nilai CT antara pasien simptomatik dengan asimptomatik pada penderita Covid-19 di Gerai Swab Satgas Covid-19 Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Periode Agustus – September 2021. Dari penelitian ini saya harap dapat memberikan pemahaman lebih lanjut terhadap masyarakat mengenai perbandingan nilai CT pada pasien COVID-19 baik yang simptomatik maupun asimptomatik.

1.2 Rumusan Masalah

Adapun rumusan masalah pada penelitian ini, yaitu :

1. Apakah ada perbandingan kategori nilai CT antara pasien COVID-19 yang asimptomatik dan simptomatik di Gerai Swab Satgas Covid-19 Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin periode Agustus – September 2021?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Untuk mengetahui perbandingan nilai CT pada pasien COVID-19 di Gerai Swab Satgas Covid-19 Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin periode Agustus – September 2021.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Bagi Praktisi Kesehatan

Sebagai tambahan informasi berdasarkan data hasil penelitian bagi perkembangan ilmu pengetahuan dan ilmu kesehatan terutamanya.

2. Bagi Masyarakat

Diharapkan dapat menjadi informasi dan referensi tambahan tentang perbandingan CT pasien COVID-19 yang asimptomatik dan simptomatik.

3. Bagi Peneliti

Diharapkan dapat menambah pengetahuan, pengalaman, serta meningkatkan wawasan berpikir peneliti dalam menganalisa permasalahan di bidang penelitian utamanya tentang penyakit COVID-19.

BAB II
TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Penyakit COVID-19

2.1.1 Definisi

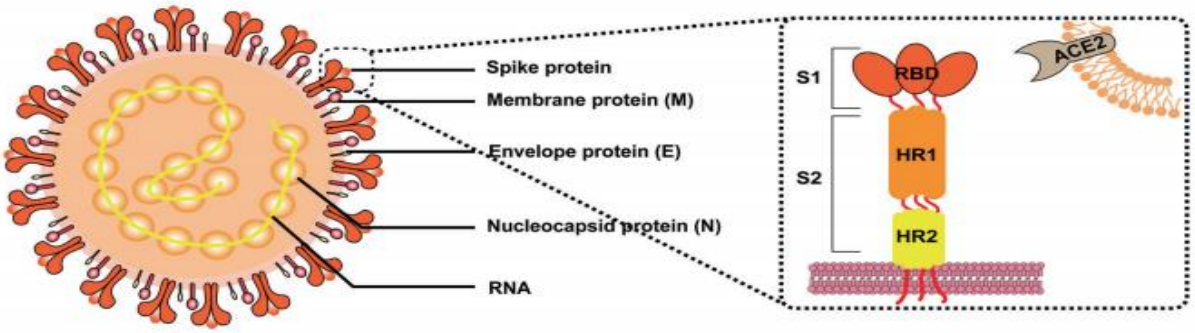
Coronavirus disease 2019 (COVID-19) adalah penyakit infeksi virus yang mudah menular disebabkan oleh virus corona jenis baru yang sekarang dikenal sebagai *severe acute respiratory syndrome coronavirus 2* (*SARS-CoV-2*), sebelumnya disebut 2019-nCoV yang pertama kali di temukan di Kota Wuhan, Provinsi Hubei, Cina kemudian menyebar ke seluruh dunia dan menyebabkan pandemik (Shereen et al., 2020).

2.1.2 SARS-CoV-2

SARS-CoV-2 adalah anggota genus coronavirus tipe baru, dengan ukuran genom antara 26.000 dan 32.000 basa dan mengandung *open reading frame* (ORFs) yang bervariasi. Struktural utama SARS-CoV-2 terdiri dari beberapa protein yaitu: glikoprotein spike (S), protein amplop (E), protein membran (M), dan protein nukleokapsid (N) (Wu et al., 2020). Berdasarkan analisis dari struktural protein (S), SARS-CoV-2 memiliki afinitas pengikatan yang signifikan kepada konversi *angiotensin converting enzyme 2* (ACE2) manusia (Xu et al., 2020). SARS-CoV-2 adalah jenis beta-coronavirus dengan protein spike. Virus ini langsung menyerang ke sel inang dengan cara mengikat *angiotensin converting enzyme 2* (ACE2). Virus ini bisa menyebabkan peradangan berlebihan dan kerusakan pada kekebalan tubuh manusia, contohnya menurunnya jumlah limfosit perifer, meningkatnya kadar sitokin, dan kerusakan pada paru-paru, jantung, hati, ginjal, dan organ-orga lain di tubuh manusia (Yi et al., 2021).

Coronavirus dinamakan berdasarkan bentuk strukturnya yaitu protein spike yang berbentuk mahkota di permukaannya. Terdapat empat subkelompok utama coronavirus, alfa, beta, gamma, dan delta. Subkelompok alfa dan beta dikatakan berasal dari kelelawar dan mamalia, sedangkan

subkelompok gamma dan delta berasal dari unggas. Ada empat coronavirus yang umum pada manusia, 229E (Alphacoronavirus), NL63 (Alphacoronavirus), OC43 (Betacoronavirus), dan HKU1 (virus betacorona). NL63 dan HKU1 baru-baru ini ditemukan pada sindrom pernafasan akut (SARS) saat pandemic (Pal et al., 2020). Saat ini ada tiga coronavirus yang telah muncul pada populasi manusia, coronavirus SARS (SARS-CoV), *Middle East respiratory syndrome related coronavirus* (MERS-CoV), dan SARS-CoV-2, mungkin terjadi setelah penularan dari hewan lain (Letko et al., 2020). Inang perantara SARS-CoV adalah luwak atau rakun dan untuk MERS-CoV adalah unta (Priestnall et al., 2020), tetapi inang untuk strain SARS-CoV-2 saat ini belum diketahui, meskipun diyakini pada BatCov RaTG13 (Lam et al., 2020).



Gambar 2.1 Struktur Virus SARS-CoV-2 (Cov, 2020).

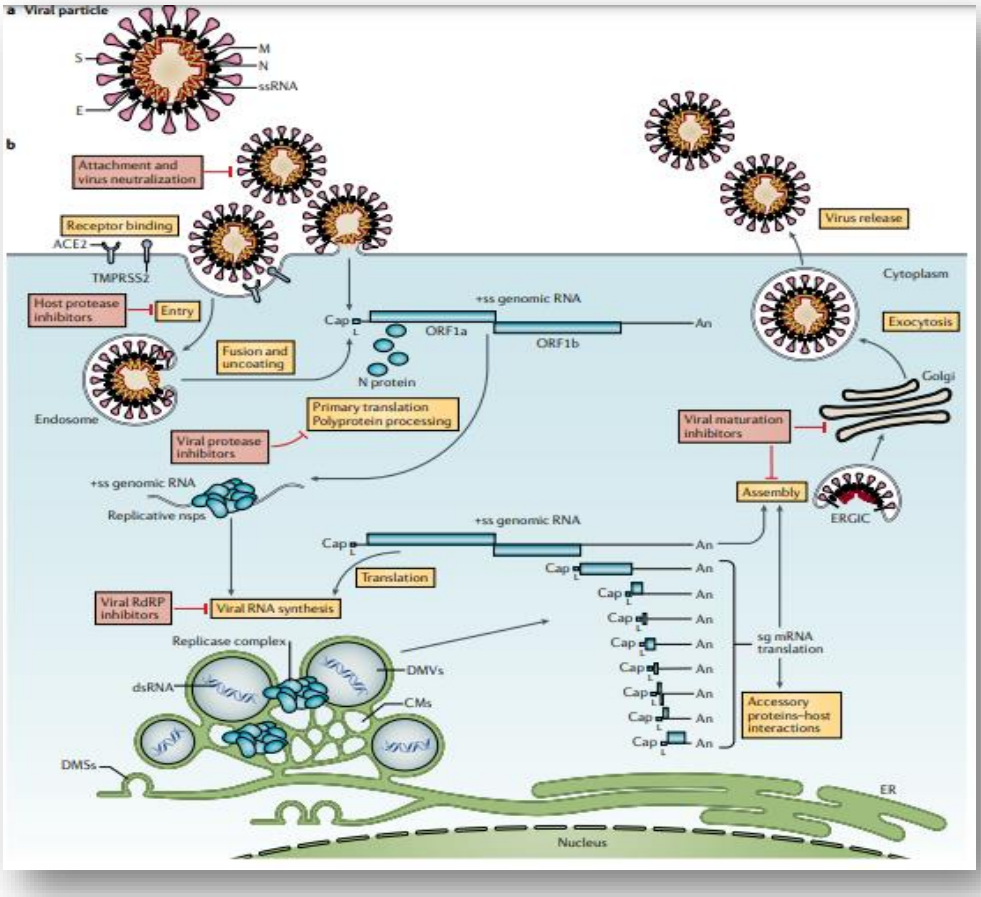
2.1.3 Faktor Virulensi Spesifik SARS-CoV-2

Peneliti mempunyai bukti kuat bahwa faktor virulensi spesifik SARS-CoV-2 berdampak pada infektivitas virus, penularan dan keparahan penyakit yang membuat meningkatnya kekebalan tubuh terhadap infeksi, termasuk respons terhadap vaksin. Faktor virulensi spesifik SARS-CoV-2 mempunyai keunggulan dari kemampuannya untuk lolos/menghindar dari deteksi oleh sel imun atau kemampuannya memanipulasi respons imun pada tubuh inangnya, termasuk terhambatnya perlindungan yang di perantarai interferon (IFN) dan

produksi antibodi (mencegah infeksi) yang efisien, atau mendorong perangkat sel inang mendukung terbentuknya replikasi virus (Kumar et al., 2021).

2.1.4 Tahap Replikasi Virus

Pada awal terjadinya infeksi virus corona melalui pengikatan spesifik protein spike (S) ke reseptor seluler, yang telah di identifikasi pada beberapa coronavirus dan juga *human aminopeptidase N* (APN; HCoV-229E), *angiotensin-converting enzim 2* (ACE2), SARS-CoV dan SARS-CoV-2 dan *dipeptidyl peptidase 4* (DPP4). Coronavirus mengekspresikan dan mereplikasi RNA genomiknya dan kemudian menghasilkan salinan lengkap yang masuk ke dalam partikel virus yang baru diproduksi. Genom RNA Coronavirus sangat besar diapit oleh daerah 5′ dan 3′ yang tidak diterjemahkan yang mengandung *cis-acting sekunder* struktur RNA yang berperan untuk sintesis RNA. Pada akhir 5′, RNA genomik memiliki dua *Open Reading Frame besar* (ORF; ORF1a dan ORF1b), ORF ini menempati dua pertiga dari genom tertutup dan polyadenylase. ORF1a dan ORF1b mengkodekan 15–16 protein non-struktural (nsp), di mana 15 berfungsi menyusun kompleks replikasi dan transkripsi virus (RTC) , seperti pemrosesan RNA dan enzim yang mengubah RNA dan fungsi proofreading RNA sangat di perlukan untuk menjaga integritas virus corona >30kb genom (V’kovski et al., 2021).



Gambar 2.2 Virus corona dan siklus hidupnya.**a).** Virus corona terdiri dari protein struktural, yaitu spike (S), envelope (E), membran (M), nukleokapsid (N) dan, untuk beberapa betacoronavirus, haemagglutinin-esterase (tidak ditampilkan). Genom RNA untai tunggal positif sense (+ssRNA) dienkapsidasi oleh N, sedangkan M dan E memastikan penggabungannya dalam partikel virus selama proses perakitan. Trimer S menonjol dari selubung virus yang diturunkan dari inang dan memberikan spesifisitas untuk reseptor masuk seluler. **b)** Partikel virus corona mengikat faktor perlekatan seluler dan interaksi S spesifik dengan reseptor seluler (seperti angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2)), bersama dengan host faktor (seperti protease serin permukaan sel TMPRSS2), mempromosikan penyerapan dan fusi virus pada membran seluler atau endosomal. Setelah masuk, pelepasan dan uncoating RNA genomik yang masuk membuatnya ditransalasi langsung dari dua Open Reading Frame besar, ORF1a dan ORF1b. Poliprotein yang dihasilkan pp1a

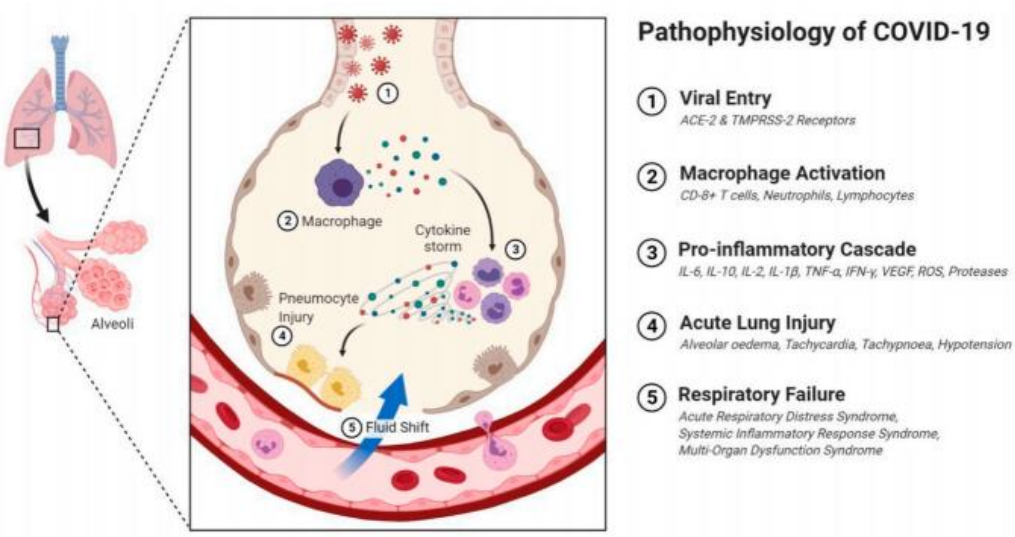
dan pp1ab adalah ko-translasi dan pasca-translasi diproses menjadi protein non-struktural individu (nsps) yang membentuk kompleks replikasi dan transkripsi virus. Sesuai dengan ekspresi nsps, biogenesis organel replikasi virus terdiri dari karakteristik vesikel membran ganda perinuklear (DMV), convoluted membrane (CM) dan small open double-membrane spherules (DMSs) menciptakan lingkungan mikro pelindung untuk replikasi RNA genom virus dan transkripsi mRNA subgenomik (sg mRNA) yang terdiri dari kumpulan karakteristik dari mRNA virus corona. Protein struktural yang diterjemahkan mentranslokasi ke dalam membran retikulum endoplasma (ER) dan transit melalui kompartemen perantara ER-ke-Golgi (ERGIC), di mana interaksi dengan N-enkapsidasi, baru menghasilkan RNA genomik menghasilkan tunas ke dalam lumen kompartemen vesikular sekretori. Akhirnya, virion disekresikan dari sel yang terinfeksi melalui eksositosis. Langkah-langkah kunci yang dihambat oleh senyawa yang saat ini sedang divalidasi dan yang mewakili target antivirus yang menarik ditandai dengan warna merah. 3′ sekuens poliA; struktur tutup 5′; dsRNA, RNA untai ganda; L, leader sekuens ; RdRP, RNA-dependent RNA polymerase (V'kovski et al., 2021).

2.1.5 Patofisiologi COVID-19

Setelah di teliti pada tingkat genom, ditemukan hubungan dekat antara SARS-CoV-2, kelelawar-SL-CoVZC45 dan kelelawar-SL-CoVZXC21, tapi pengikatan reseptornya identik dengan SARS-CoV. Setelah berikatan ke reseptor, respon imun innate muncul untuk melawan SARS-CoV-2 yang dating ke dalam sel inang. Di hambatnya sinyal imun innate diperlukan untuk menginfeksi sel inangnya dan meningkatkan produktivitas virus. Padahalpara peneliti belum mengetahui, bagaimana cara SARS-CoV-2 mendorong patogenesis serta menghambat respon imun inang masih belum diketahui. SARSCoV-2 sepertinya memiliki mekanisme patologis yang sama dengan SARS-CoV, karena SARS dan COVID-19 menunjukkan gejala klinis yang mirip. Saat merespon SARS-CoV-2 infeksi, untuk menghambat terjadinya

replikasi virus, ekspresi gen yang dirangsang IFN (ISG) akan dirangsang oleh sistem interferon tipe I (IFN) (Jha et al., 2021).

SARS-CoV-2 mengkodekan delapan atau lebih antagonis virus yang berfungsi menghindari efektor ISG dan memodulasi induksi sitokin dan IFN untuk menghindari aktivitas antivirus. Antivirus berperan untuk menghambat penyebaran dan replikasi virus, sel imun inang akan merespons melalui aktivitas antivirus seluler dan berperan dalam mengatasi peradangan. Studi telah mengidentifikasi beberapa gejala pada pasien penyakit COVID-19 yaitu seperti demam, batuk, sesak napas, hipoksia, dan pneumonia berat. Pada pasien progresi penyakit yang cepat disertai dengan *Ac ute Respiratory Distress Syndrome* (ARDS), *Systemic Inflammatory Response Syndrome* (SIRS), dan *Multi-Organ Dysfunction Syndrome* (MODS) menjadi komorbid yang menyebabkan kematian pada sekitar 10% karena adanya reseptor ACE 2 di jaringan jantung, ginjal, dan hati (Gambar 2.3) (Jha et al., 2021).



Gambar 2.3 Patomekanisme molekuler COVID-19 (Jha et al., 2021).

Evolusi alveolus difus kerusakan disebabkan oleh peningkatan kadar protein 10 (IP10) yang diinduksi IFN-γ, pro-inflamasi sitokin (IL-1, -2, -6, -8, -10, dan -12), interferon-gamma (IFN-γ), monosit chemoattractant protein-1 (MCP1), dan protein inflamasi makrofag-1A (MIP1A) , pada pasien didiagnosis dengan SARS (Gambar 3). Gambaran yang identic sama dari

imunopatologi pada pasienCOVID-19. Tingkat IP10, MCP1, yang jauh lebih tinggi GSCF, dan TNF-α ditemukan pada pasien yang dirawat di ICU (unit perawatan intensif) dibandingkan dengan pasien rawat jalan, ini menunjukkan penyebab keparahan penyakit karena terdapat badai sitokin (Jha et al., 2021).

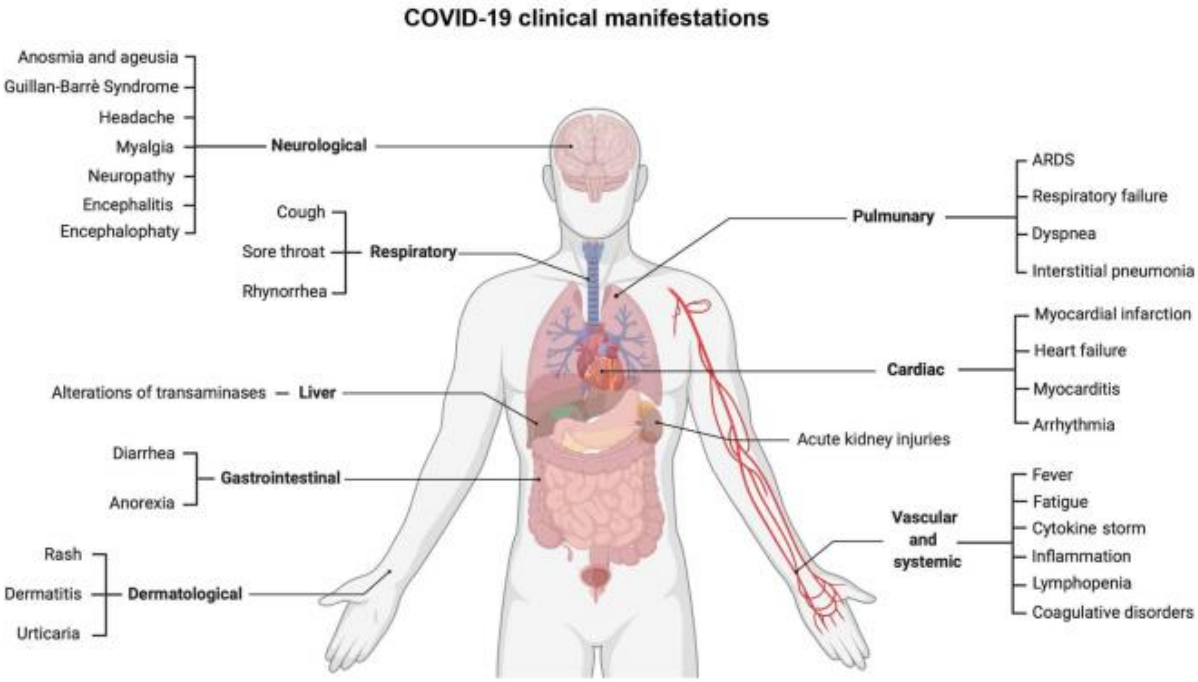
Beberapa fenomena pada fase akut infeksi virus dimana sitokin anti-inflamasi IL-10 dan IL-4 meningkat pada pasien. Terdaat penemuan menarik bahwa laki-laki usia lanjut lebih mudah terinfeksi SARS-CoV-2 dibandingkan dengan anak-anak. Pengamatan yang sama ditemukan pada hewan coba di mana kera cynomolgus yang tua rentan terinfeksi dibandingkan dengan dewasa muda. Identifikasi gen SARS-CoV-2 dan faktor virulensi yang membantu virus melintasi barrier khusus menyebabkan mudahnya manusia terinfeksi(Jha et al., 2021).

2.1.6 Menifestasi klinis

Selama tahap awal infeksi, sulit untuk mengetahui apakah pasien itu terinfersi SARS-CoV-2, diagnosis SARS-CoV-2 biasa ketika terdapat gejala klinis seperti gejala pernapasan pasien dan ekstra-pernapasan serta penggunaan teknik pencitraan radiologis. Sebagai catatan, fraksi yang signifikan (~50%-75%) dari pasien COVID-19 adalah asimtomatik atau simptomatik. Sementara pasien lainnya (~10%) menunjukkan gejala sindrom gangguan pernapasan akut (ARDS) sehingga dapat terjadinya dispnea, pneumonitis interstisial, disfungsi multiorgan dan dalam beberapa kasus, bahkan kematian. Kasus pasien seperti ini biasa didapat dengan komorbiditas, seperti diabetes, penyakit jantung, hipertensi dan kanker (Falzone et al., 2021).

Pada pasien COVID-19 tidak hanya gejala pernapasan, tetapi juga gejala sistemik lainnya. Menurut tinjauan komprehensif baru-baru ini, tetapi tidak terbatas pada dispnea, (19-64%), batuk (69-82%), rinore (4-24%) dan nyeri tenggorokan (5-14%). Gejala umum lainnya adalah demam (44-98%), sakit kepala (5-14%) dan diare (2-5%). Namun, gejala paling umum yang dilaporkan oleh pasien dengan COVID-19 adalah anosmia dan ageusia (Falzone et al., 2021).

Terlepas dari gejala yang sering dilaporkan ini, banyak manifestasi klinis telah dilaporkan, mulai dari kardiovaskular hingga gangguan neurologis dan dari gejala gastrointestinal ringan hingga sistemik (Gambar 4). Secara khusus, SARS-CoV-2 menunjukkan perilaku neuroinvasif melalui invasi transsinaptik transkripsi retrograde sistem saraf pusat. SARS-CoV-2 mampu mengikat reseptor spesifik dalam sel yang merupakan bulbus olfaktorius atau reseptor sensorik paru dan saluran napas. Di antara gejala neurologis yang paling sering, ada : sakit kepala, neuropati, mialgia, ensefalitis, ensefalopati, dan lain-lain (Falzone et al., 2021).



Gambar 2.4 Manifestasi klinis pulmonar dan ekstra-pulmonar infeksi COVID-19 (Falzone et al., 2021)

2.1.7 Diagnosis Laboratorium

Beberapa tes diagnostik saat ini tersedia untuk identifikasi infeksi SARS-CoV-2, untuk skrining dan memantau tingkat keparahan infeksi serta untuk evaluasi remisi pasien COVID-19 (Falzone et al., 2021).

Beberapa indikator harus dipertimbangkan untuk tes diagnostik yang optimal. Tes diagnostik harus memiliki tingkat sensitivitas dan spesifisitas

yang baik. Namun, parameter ini bukan satu-satunya fitur yang harus dipertimbangkan. Dalam kasus pandemi COVID-19, tes yang efektif harus cepat, dapat diulang, berdasarkan pada teknologi yang tersedia di banyak pusat layanan kesehatan dan menjaga agar biaya tetap terbatas agar dapat dilakukan pada sebagian besar populasi (Falzone et al., 2021).

Oleh karena itu, pemilihan diagnostik tes harus dilakukan dengan mempertimbangkan klinis atau tujuan pengawasan dari penyelidikan serta kemungkinan kemampuan untuk mengulang tes beberapa kali sampai pasien tidak lebih lama reaktif SARS-CoV-2. Untuk semua kebutuhan klinis dan epidemiologis ini, tiga jenis tes utama untuk diagnosis COVID-19 tersedia : i) Tes swab RT-PCR molekuler; ii) Tes serologis; iii) Tes rapid antigen atau antibodi (Falzone et al., 2021).

Meskipun karakteristik molekuler dan struktural dari SARS-CoV-2 awalnya tidak diketahui, dalam waktu yang sangat singkat, laboratorium penelitian dan perusahaan biomedis meneliti fitur utama virus, sehingga membantu para peneliti di seluruh dunia dalam mengembangkan berbagai solusi diagnostik untuk diagnosis COVID-19. Di antara solusi tersebut, metode yang paling umum digunakan dan divalidasi adalah tes rapid antigen atau antibodi, tes serologis imunoenzimatik dan tes molekuler berbasis RT-PCR. Masing-masing dari ketiga jenis tes diagnostik ini dapat diterapkan pada saat yang tepat dari infeksi. Sebagai catatan, hanya kit, reagen, dan probe molekuler yang divalidasi oleh Pusat Pengendalian dan Pencegahan Penyakit (CDC) dan Organisasi Kesehatan Dunia (WHO) dan disetujui di tingkat Amerika dan Eropa oleh FDA dan EMA yang dapat digunakan untuk tujuan diagnostik (Falzone et al., 2021).

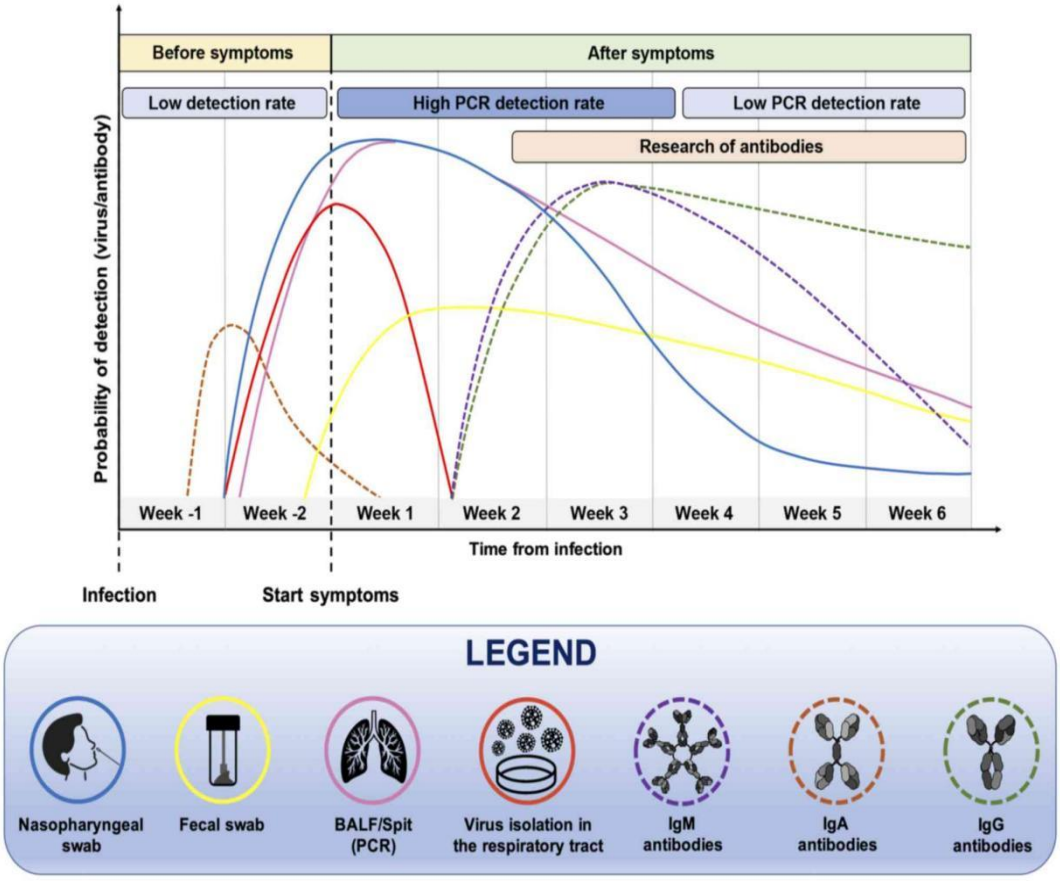
Dalam uji molekuler, untuk hasil positif atau negatif harus dipertimbangkan, karena alat diagnostik komersial tidak ada yang memiliki sensitivitas 100%, terutama pada pasien dengan *viral load* rendah seperti individu asimptomatik atau paucisymptomatic (Falzone et al., 2021). Pemilihan dan penanganan spesimen yang benar untuk analisis molekuler dan serologis sangat penting untuk diagnosis infeksi COVID-19. Secara khusus,

pengumpulan spesimen dan fase pra-analisis sangat penting untuk hasil positif dari prosedur diagnostik. Studi yang berbeda telah menunjukkan bahwa tingkat kepositifan tes molekuler secara signifikan tergantung pada kualitas spesimen awal yang dipengaruhi oleh pengambilan spesimen, bahan berkualitas buruk, transportasi atau penyimpanan yang salah, adanya inhibitor. (Falzone et al., 2021).

2.1.7.1 Tahap Pre-Analitik

A. Pengambilan specimen

Waktu pengambilan dan gejala klinis yang menyerta pasien sangat penting untuk menentukan jenis spesimen Covid-19 yang perlu diambil (Falzone et al., 2021).



Gambar 2.5 Waktu dan jenis spesimen yang harus dianalisis untuk deteksi efektif dari RNA SARS-CoV-2 atau antibodi anti SARS-CoV-2 pada tubuh manusia (Falzone et al., 2021).

B. Jenis-jenis specimen untuk pemeriksaan COVID-19

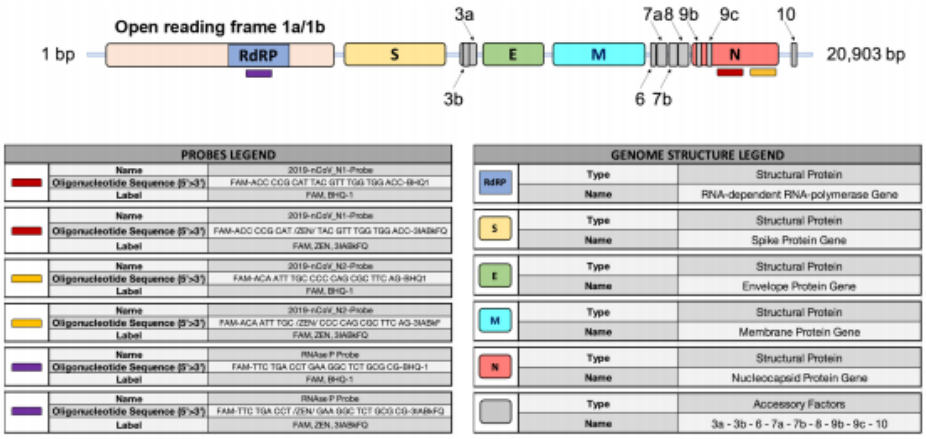
Spesimen adalah sampel yang digunakan laboratorium. Spesimen diperiksa untuk mendapatkan hasil suatu penyakit untuk keperluan diagnostik. Untuk Covid-19 kita harus memahami semua pedomen internasional dan nasional dengan benar mengerti jenis, waktu pengambilan, pelabelan, penyimpanan, pengemasan dan pengiriman spesimen agar dapat mengonfirmasi kasus Covid-19 (Falzone et al., 2021).

Spesimen utama yang digunakan untuk analisis molekuler adalah: diperoleh dari saluran pernapasan. Secara khusus, kedua swab orofaringeal dan nasofaring mewakili baik sampel untuk ekstraksi dan amplifikasi RNA virus melalui RT-PCR; namun, penelitian sebelumnya telah menyoroti bahwa BALF adalah sampel yang paling tepat untuk deteksi molekuler SARS-CoV-2(Falzone et al., 2021).

2.1.7.2 Nucleic Acid Amplification Tets (NAAT)

Tes Amplifikasi Asam Nukleat (NAAT) dalam hal ini adalah tes reaksi rantai polimerase transkripsi balik (rRT-PCR) real-time, tes "standar emas" yang direkomendasikan oleh WHO untuk diagnosis COVID-19. Teknik PCR adalah teknik yang menggunakan proses sintesis enzimatik untuk mengamplifikasi atau memperbanyak DNA secara in vitro. Materi genetik, seperti asam nukleat virus, yaitu RNA, diperoleh dengan mengisolasi atau mengekstrak RNA virus dari sampel klinis. Teknik PCR mendeteksi materi genetik virus SARS-CoV-2, sehingga metode ini sangat sensitif, spesifik dan cepat. Sebelum memasuki fase PCR, diperlukan fase sample generation yaitu ekstraksi asam nukleat dari spesimen Clinical airway dalam bentuk swab nasofaring/orofaringeal atau sputum di fasilitas laboratorium. Tingkat Keamanan Hayati 2 (BSL-2). Analisis virus SARS-Cov-2 dapat menggunakan RT-PCR (Falzone et al., 2021).

Saat ini, beberapa bagian dari genom SARS-CoV-2 digunakan untuk desain primer dan probe tertentu, termasuk bagian genom yang mengkode gen RdRP, untuk protein yang membentuk nukleokapsid (gen N) dan spike molekul (gen S), untuk protein selubung (gen E), untuk membran, dll. (**Gambar 2.6**) (Falzone et al., 2021).



Gambar 2.6 Struktur genome SARS-CoV-2 dan probe untuk deteksi molekuler RNA SARS-CoV-2 pada sampel manusia (Falzone et al., 2021).

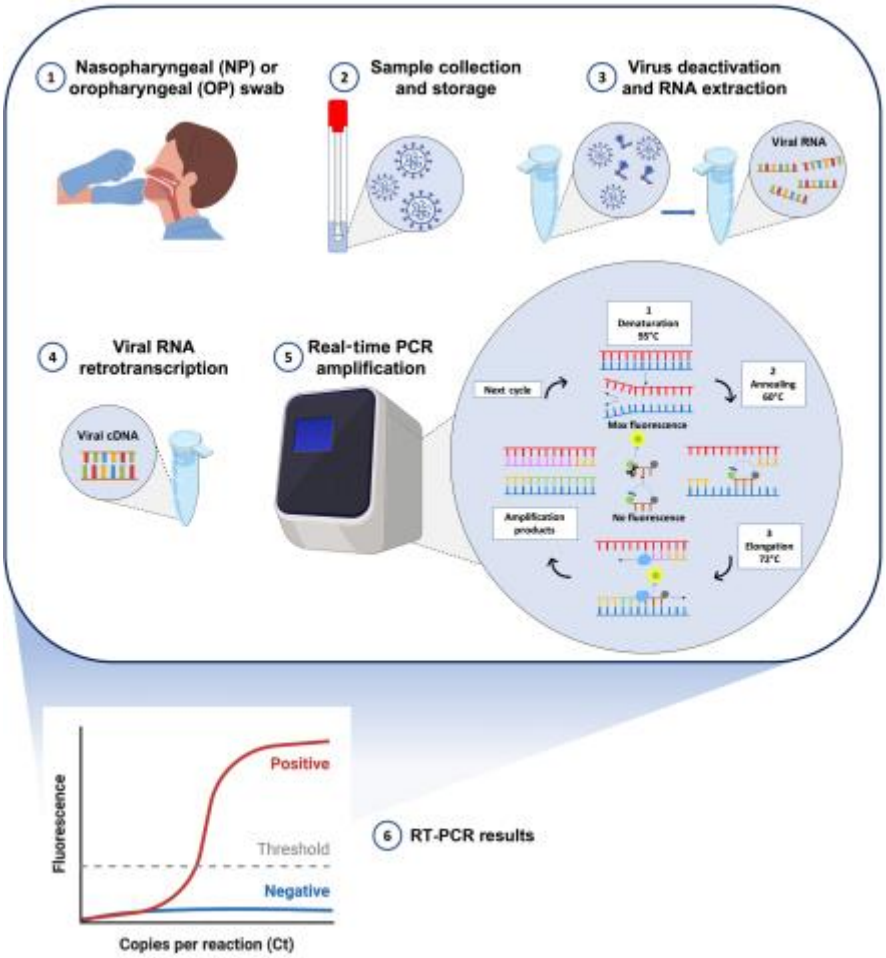
CDC menyediakan daftar kit dan reagen yang divalidasi untuk diagnosis infeksi Covid-19. Demikian pula, CDC juga menyediakan daftar pasangan primer yang dapat digunakan untuk penelitian, masing-masing bekerja dengan dua probe molekuler yang berbeda,spesifik bagian gen N (nukleokapsid) dan gen encoding virus RdRP, masing-masing (Falzone et al., 2021).

Tes molekul RT-PCR dianggap sebagai opsi diagnostik terbaik untuk metode pembayaran biaya yang relatif rendah dan kesediaan siklus termal RT-PCR di rumah sakit. Keuntungan lain dari prosedur RT-PCR dibandingkan dengan metode diagnosis lain adalah sensitif dan spesifik (tergantung pada desain utama, eksplorasi dan enzim); Penyimpanan waktu kerja yang relatif cepat sekitar 4-6 jam tergantung pada jumlah spesimen. Selain itu, jumlah set RT-PCR yang tersedia didasarkan pada metode amplifikasi, di mana buffer swab nasofaring dimasukkan ke dalam plate dan mesin secara mandiri menyediakan untuk ekstraksi, transkripsi balik, amplifikasi dan analisis sampel. Prosedur ini menjamin hasil yang cepat dan produktifitas serta standarisasi (Falzone et al., 2021).

Beberapa kelemahan metode ini adalah:

1) Memerlukan tahapan persiapan sampel;
2) Memerlukan fasilitas laboratorium minimal BSL-2; dan
3) Memerlukan staf yang sudah terlatih.

Secara singkat, setelah pengambilan swab nasofaring dari individu yang diduga terinfeksi COVID-19, RNA virus diekstraksi menggunakan kit komersial dan larutan pelisis dengan protokol ekstraksi manual atau otomatis. Kemudian, diperoleh RNA, yang mengandung RNA manusia dan virus, lalu langsung dianalisis oleh RT-PCR dalam protokol satu langkah atau harus ditranskripsi ulang menjadi DNA komplementer (cDNA) sebelum amplifikasi RT-PCR. Kemudian didapatkan cDNA, target SARS-CoV-2 diamplifikasi melalui RT-PCR menggunakan probe spesifik TaqMan untuk dua-tiga target virus. Khususnya, aktivitas eksonuklease dari Taq polymerase (arah 5'→3') memotong *probe annealed* dengan virus target yang memungkinkan emisi dan deteksi sinyal fluoresen secara real-time. Semua protokol RT-PCR terlihat pada **Gambar 2.7** (Falzone et al., 2021).



Gambar 2.7 Skema alur kerja metode diagnostik berbasis RT-PCR. 1) Pengambilan sampel dari pasien suspek COVID-19 melalui swab nasofaring atau orofaringeal; 2) penyimpanan dan penanganan swab untuk

menjaga integritas RNA virus; 3) Inaktivasi panas SARS-CoV-2 dan ekstraksi RNA melalui protokol custom atau komersial; 4) transkripsi-retro RNA virus menjadi cDNA untai ganda; 5) amplifikasi RT-PCR dan deteksi sinyal fluoresen Real time; 6) interpretasi sinyal amplifikasi dan pengaturan ambang batas positif (Falzone et al., 2021).

2.1.7.3 Tahapan PCR

1. **Ekstraksi RNA**

   Ekstraksi asam nuklat menjadi RNA adalah proses awal tahapan studi biomolekuler. Proses ekstraksi asam nukleat yang efektif harus memperhatikan beberapa hal,seperti: keamanan, sensitivitas dan spesifikasi, reprodusibilitas dan keamanan, pengerjaan dan biaya yag dikeluarkan (Agustiningsih et al., 2020).

   Prinsip Dasar

   Secara umum, prinsip dalam ekstraksi genetic berupa DNA dan RNA adalah dengan pemecahan sel dan memisahkan material genetic di dalam sel, berupa DNA maupun RNA dari komponen selular lain. Komponen lain tersebut sebagaimana dijelaskan sesuai dengan tahapan berikut (Agustiningsih et al., 2020).

   a. **Memecahkan jaringan**

      Memecahkan jaringan dilakukan dengan metode enzimatik, kimia, dan mekanik. Metode ekstraksi RNA dengan kit komersil adalah menggunakan bahan kimia, seperti Tris, MgCl2, EDTA, SDS, CTAB, dan Triton X100(Agustiningsih et al., 2020).

   b. **Pemurnian RNA dari Kontaminan**

      Kontaminan merupakan factor yang mempengarusi dan merusak asam nukleat yang diekstraksi seperti protein/enzim, lemak, dan kontaminan lainnya. Bahan-bahan yang digunakan untuk memisahkan asam nukleat dari kontaminan adalah sebagai berikut (Agustiningsih et al., 2020).

      1) Agen Proteolisis

         Berupa bahan kimia seperti *CTAB, SDS, phenol, chloroform, Nonidet P40, different chaotropic, urea,*

guanidium isothiocyanate, guanidium thiocyanate, N-lauroyl, sarcosine.

2) Agen presipitasi yaitu berupa *Isopropanol, etanol, methanol,* NaCl, *Sodium asetat.*
3) Bahan "washing", yaitu berupa alcohol (Agustiningsih et al., 2020).

c. Penyimpanan asam Nukleat

Setelah pemisahan asam nukleat dari kontaminan, asam nukleat akan ditransfer ke dalam larutan buffer tertentu yang dapat mengawetkannya (eluen). Eluen yang banyak digunakan dalam menyimpan asam nukleat adalah TE Buffer dan air distilled. Penggunaan eluen ini tergantung pada tujuan penggunaan asam nukleat ini (Agustiningsih et al., 2020).

Secara umum, tahapan ekstraksi asam nukleat adalah sebagaimana dijelaskan di atas. Namun, beberapa modifikasi dapat dilakukan sampel apa yang akan diekstraksi (Agustiningsih et al., 2020).

Berdasarkan teknologi yang digunakan, metode ekstraksi dibedakan antara metode ekstraksi manual dan metode ekstraksi otomatis dengan menggunakan robot (Agustiningsih et al., 2020).

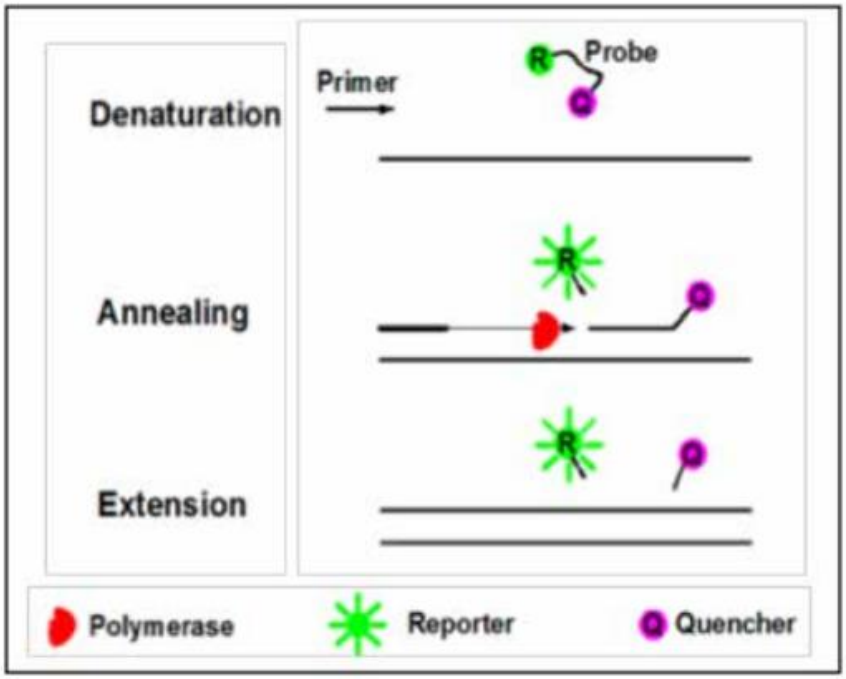
2. Reverse Transciption-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR)

rRT-PCR adalah teknik amplifikasi DNA yang produknya dapat dianalisis pada setiap siklusnya menggunakan *fluorogenic probe*. Pada rRT-PCR digunakan alat *thermal cycler* yang dilengkapi dengan detector untuk membaca sinyal fluoresensi dan mengubahnya menjadi sinyal digital sehingga dapat dianalisis oleh computer. Akibatnya, proses elektroforesis untuk interpretasi hasil tidak diperlukan. Kelebihan rRT-PCR adalah memiliki sensitivitas tinggi dan waktu pengerjaan cepat sedangkan kekurangan rRT-PCR memerlukan thermal cycler yang dilengkapi kamera detector serta bahan yang lebih mahal (Agustiningsih et al., 2020).

Perbedaan komponen rRT-PCR dengan RT-PCR konvensional adalah penambahan probe fluorogenic dalam rRT-PCR. Probe fluorogenic merupakan sekuens oligonukloeotida pendek yang didesain untuk berhibridisasi dengan sekuen target. Terdapat 2 jenis probe dalam rRT-PCR yang sering digunakan, yaitu:

1) Strand-Spesific Probe, sebagai contoh yaitu Taqman Probe/hidrolisis probe

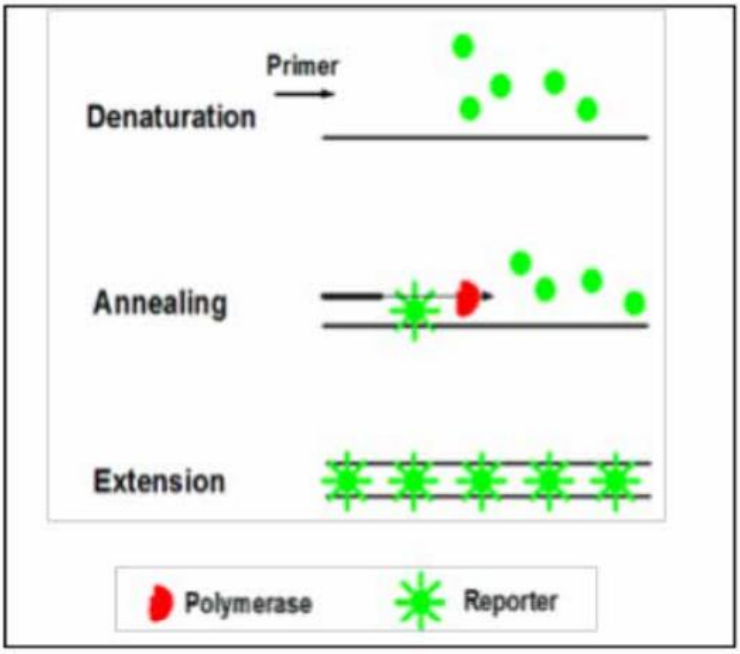
   Taqman probe dilabel oleh 2 macam dye, yaitu Reporter (R) dan Quencher (Q). Pada saat tahap annealing, Taqman probe akan berikatan dengan template DNA dan proses elongasi DNA untai baru, ikatan hydrogen antar basa penyusun Taqman probe akan terputus (terhidrolisis) oleh enzim Taq Polymerase. Hidrolisis Taqman Probe menyebabkan adanya pendaran fluorogenic dari Reporter dye yang akan ditangkap oleh kamera. Proses ini berlangsung berulang sesuai dengan jumlah siklus proses rRT-PCR (Agustiningsih et al., 2020).



Gambar 2.8 Taqman Probe/hidrolisis probe (Agustiningsih et al., 2020).

2) Non-Spesific Probe yaitu sebagai contoh adalah SYBR Green I

SYBR Green I merupakan intercalating dye yang akan berpendar jika berikatan dengan DNA untai ganda dan tidak berikatan serta berpendar pada DNA untai tunggal. Pada tahapan denaturasi, SYBR Green I tidak berikatan dan berpendar. Pendaran SYBR Green I akan tertangkap oleh kamera detector pada setiap siklus PCR (Gambar 9). Proses ini akan berlangsung berulang-ulang sesuai dengan jumlah siklus proses rRT-PCR (Agustiningsih et al., 2020).



Gambar 2.9 Sybr Green I (Agustiningsih et al., 2020).

Proses rRT-PCR:

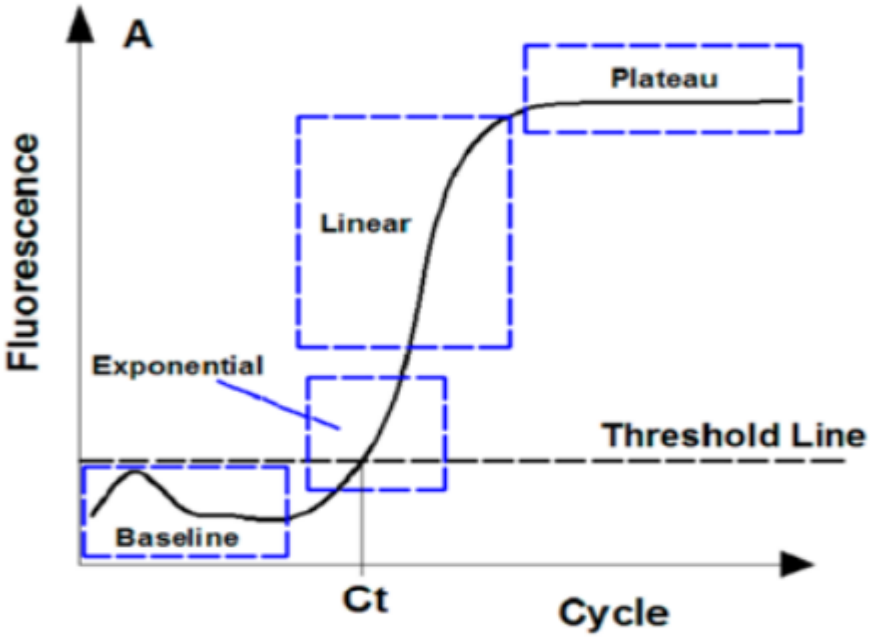
1) Persiapan spesimen : Ekstraksi RNA
2) RT-PCR pada *thermal cycler*
   A. RT
   B. Siklus PCR yang terdiri atas tahap denaturasi, annealing, dan elongasi/extension
      1. Pada tahap elongasi terjadi deteksi fluoresens dan proses ini berlangsung berkali-kali sesuai dengan

jumlah siklus PCR. Sinyal fluoresens berbanding lurus dengan siklus PCR akan direkam dalam bentuk kurva amplifikasi.

2. Proses PCR dan perkembangan kurva amplifikasi dapat dilihat kapanpun. Namun analisis hasil hanya dapat dilakukan setelah proses PCR selesai (Agustiningsih et al., 2020).

Analisis data dan interpretasi nilai *Cycle threshold (*CT)

Kurva amplifikasi PCR yang berbentuk sigmoid terdiri atas 3 fase, yaitu *eksponensial, linear,* dan *plateau,* seperti pada gambar 24. Hasil akhir rRT-PCR berupa nilai CT yang merupakan perpotongan antara garis *threshold* dan kurva amplifikasi. Garis *Threshold* adalah garis yang berada di atas *baseline* sinyal *fluorescence* sehingga sinyal *fluorescence* yang terdeteksi di atas *threshold* adalah sinyal yang digunakan dalam menentukan nilai CT (Gambar 10)(Agustiningsih et al., 2020).



Gambar 2.10 Kurva amplifikasi dan Threshold cycle (CT) (Agustiningsih et al., 2020).

Interpretasi hasil

1) **Analisa kualitatif**

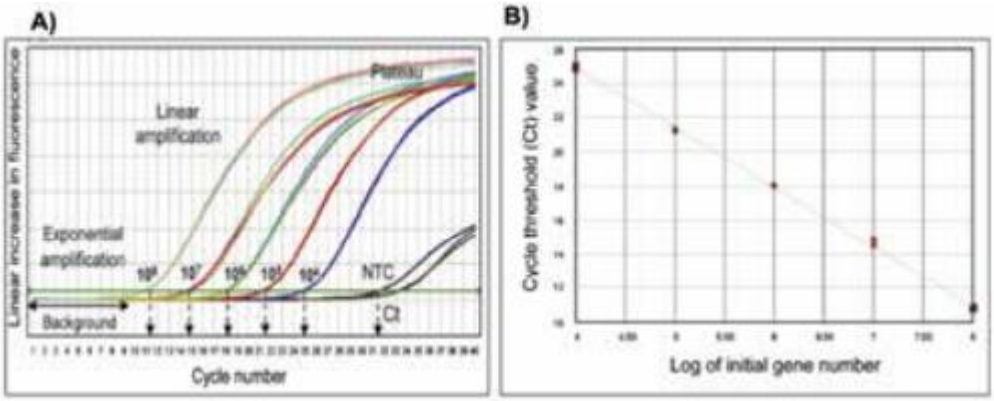
Meskipun rRT-PCR diartikan kuantitatif, ini tidak sepenuhnya benar. Dalam beberapa kondisi, rRT-PCR masih bersifat kualitatif, seperti dalam menentukan hasil positif atau negative dari nilai CT yang terdeteksi. Sampel dengan hasil nilai CT di bawah *cut off* menandakan target antigen dari virus target ada di dalam sampel, sedangkan sampel dengan nilai CT di atas *cut off* atau tidak mempunyai kurva amplifikasi menandakan tidak ditemukan target antigen virus target di dalam sampel tersebut. Makin banyak DNA template (cetakan), makin awal sinyal terdeteksi dan makin rendah nilai CT (*Life-Technologies)* (Agustiningsih et al., 2020).

Validasi hasil rRT-PCR kualitatif:

a) Tidak terbentuk kurva amplifikasi pada control negative.
b) Terbentuk kurva amplifikasi pada control positif dan nilai CT dalam kisaran yang diharapkan.
c) Kurva amplifikasi harus berbentuk sigmoid untuk hasil positif.
d) Pemeriksaan *housekeeping gene* merupakan den yang terdapat di dalam sel epitel manusia.
e) Hasil *housekeeping* positif menunjukkan bahwa proses ekstraksi asam nukleat dan pengambilan spesimen telah dilakukan dengan benar (Agustiningsih et al., 2020).

2) **Analisa kuantitatif**

Analisis kuantitatif dilakukan menggunakan Real Time PCR dengan menyertakan *serial dilution* (pengenceran bertingkat) dari larutan standar yang konsentrasinya sudah ditentukan dan divalidasi sehingga terbentuk kurva amplifikasi, seperti pada Gambar 11 berikuti ini (Agustiningsih et al., 2020).



Gambar 2.11 Ilustrasi analisa kuantitatif (Agustiningsih et al., 2020).

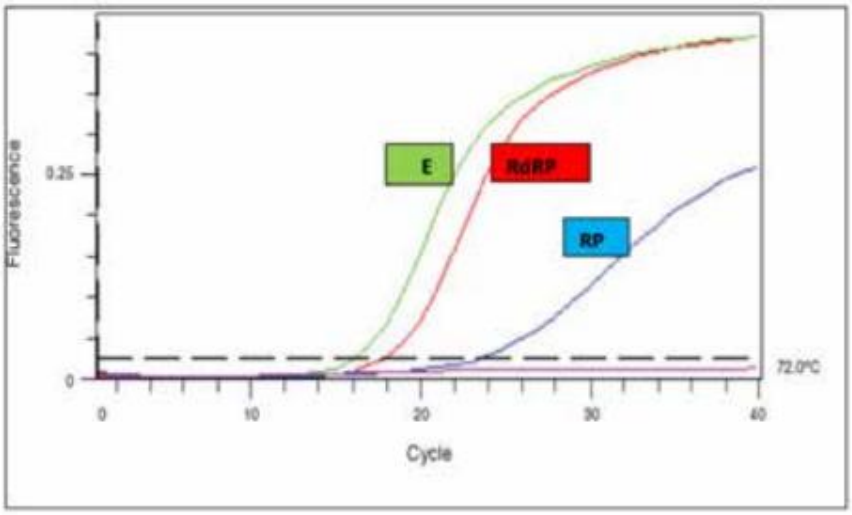
Variasi konsentrasi larutan standar berkisar 10 hingga >1.000.000 DNA salinan. Ketika larutan standar dan sampel dilakukan amplifikasi melalui proses PCR, saat analisis hasil, kurva regresi linear dari larutan standar akan terbentuk gambar 29B diatas sehingga konsentrasi sampel dihitung berdasarkan kurva tersebut (*Life-Technologies)*(Agustiningsih et al., 2020).

Tabel 2.1 Interpretasi hasil rRT-PCR dengan protocol CDC (Agustiningsih, 2020).

RdRP	E	RP	Interpretasi Hasil
+	+	+	Positif SARS-CoV-2
+	-	+	*Inconclusive*: lakukan pemeriksaan ulang
-	+	+	
-	-	+	Negatif SARS-CoV-2
-	-	-	Invalid

**Cut off value* untuk nilai positif berbeda untuk setiap protokol.
*Berdasarkan Protokol Real-Q 2019-nCoV detection Kit (*BioSewoom*), hasil dinyatakan positif SARS-CoV-2 bila Ct ≤ 38, RP gene Ct ≤ 35.

Berikut Kurva amplifikasi jika sampel uji positif SARS-CoV-2



Gambar 2.12 Kurva amplifikasi positif untuk ketiga gen dalam satu sampel (RdRP=FAM, E= HEX, RP=Cy5) (Agustiningsih et al., 2020).

2.1.8 Nilai CT dalam aspek klinis

Menurut Chung (2021), Dalam penelitiannya yang berbasis studi cross-sectional dimana ditemukan bahwa pasien simptomatik memiliki tingkat RNA SARS-CoV-2 atau *viral load* yang lebih tinggi dibandingkan dengan pasien asimptomatik, hal ini dibuktikan melalui tes RT-PCR Cts (Chung et al., 2021). Sama seperti pada penelitian Tian (2021), menurutnya populasi dengan nilai CT rendah, menunjukkan *viral load* yang tinggi pada pasien simptomatik dari pada pada non-penyebar yang tidak bergejala. Namun, Tian menambahkan bahwa nilai CT atau *viral load*, pada tingkat individu tidak dapat memprediksi penularan (Tian et al., 2021).

Sedangkan pada penelitian Manurung J.J & Sukohar A. (2021) untuk nilai CT dalam menentukan apakah pasien asimptomatik atau simptomatik yang dialami pada pasien COVID - 19 belum bisa digunakan sebagai standar, dikarenakan banyaknya faktor perancu pada hasil qRT-PCR yakni nilai CT seperti pada saat, pengambilan sampel,cara yang digunakan, alat dan bahan yang digunakan,cara penyimpanan, ketrampilan dari tenaga Kesehatan, jangka wktu pengambilan dan tes PCR dan bahkan saat di lakukan tes apakah perlakuan pada sampel sama atau tidak itu dapat mempengaruhi hasil dari PCR

itu sendiri. Sehingga perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai hubungan antara nilai CT pada pasien COVID -19 dan prosedur pengambilan hingga prosedur pemeriksaan sampel (Manurung and Sukohar, 2021).