

**DISERTASI**

**HUBUNGAN EKSPRESI mRNA, KADAR PROTEIN HMBG1, TLR4 DAN  
NILAI CYCLE THRESHOLD (CT) DENGAN TINGKAT KEPARAHAN  
PENDERITA COVID-19**

**CORRELATION BETWEEN mRNA EXPRESSION, PROTEIN LEVELS OF  
HMBG1, TLR4, AND CYCLE THRESHOLD VALUES WITH SEVERITY OF  
COVID-19 PATIENTS**



**EVA SRI DIANA**

**C013172022**

**PROGRAM STUDI DOKTOR ILMU KEDOKTERAN  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR**

**2023**

**HUBUNGAN EKSPRESI MRNA, KADAR PROTEIN HMBG1, TLR4 DAN  
NILAI CYCLE THRESHOLD (CT) DENGAN TINGKAT KEPARAHAN  
PENDERITA COVID-19**

**CORRELATION BETWEEN mRNA EXPRESSION, PROTEIN LEVELS OF  
HMBG1, TLR4, AND CYCLE THRESHOLD VALUES WITH SEVERITY OF  
COVID-19 PATIENTS**

**Disertasi**

**Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Mencapai Gelar Doktor  
Program Studi Ilmu Kedokteran**

**Disusun dan diajukan oleh**

**EVA SRI DIANA**

**NIM: C01317202**

**Kepada :**

**PROGRAM STUDI DOKTOR ILMU KEDOKTERAN  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR**

**2023**

**DISERTASI**

**HUBUNGAN EKSPRESI mRNA, KADAR PROTEIN HMBG1, TLR4 DAN  
NILAI CYCLE THRESHOLD (CT) DENGAN TINGKAT KEPARAHAN  
PENDERITA COVID-19**

**CORRELATION BETWEEN mRNA EXPRESSION, PROTEIN  
LEVELS OF HMBG1, TLR4, AND CYCLE THRESHOLD VALUES WITH  
COVID-19 PATIENTS SEVERITY**

Disusun dan diajukan  
Oleh

**Eva Sri Diana**  
C013172022

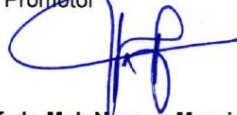
*Telah dipertahankan di hadapan Penilai Ujian yang dibentuk dalam rangka  
Penyelesaian Studi Program Studi Doktor Ilmu Kedokteran  
Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin  
pada tanggal, 13 April 2023  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan*

Menyetujui

Promotor,

  
**Prof. dr. Mochammad Hatta, Ph.D, Sp.MK(K)**  
Nip. 19570416 198503 1 001

Co. Promotor



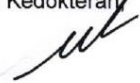
**Prof. dr. Muh Nasrum Massi, Ph.D, Sp.MK(K)**  
Nip.19670910 199603 1 001

Co. Promotor



**Dr. dr. Irawaty Djaharuddin, Sp.P(K)**  
Nip. 19720617 200012 2 001

Ketua Program Studi S3  
Ilmu Kedokteran



**Dr. dr. Irfan Idris, M.Kes**  
Nip.19671103 199802 1 001

Dekan Fakultas Kedokteran  
Universitas Hasanuddin,


**Prof. Dr. dr. Haerani Rasyid, M.Kes, Sp.PD-KGH, FINASIM Sp.GK**  
Nip.19680530 199603 2 001



KEMENTERIAN PENDIDIKAN, KEBUDAYAAN, RISET DAN TEKNOLOGI  
**UNIVERSITAS HASANUDDIN**  
**FAKULTAS KEDOKTERAN**  
Jl. Perintis Kemerdekaan Kampus Tamalanrea Km. 10 Makassar 90245  
Telp. ( 0411 ) 586010, 585836, 586200 Psw. 2767 Fax. (0411) 586297

### PERNYATAAN KEASLIAN DISERTASI

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : **Eva Sri Diana**  
Nomor Pokok : C013172022  
Program Studi : Doktor Ilmu Kedokteran  
Jenjang : S3

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulis saya berjudul : **Hubungan Ekspresi mRNA Gen High Mobility Grup Box1 (HMGB1), Tool-Like Receptor4 (TLR4) dan Nilai Cycle Thresold (Ct) dengan Tingkat Keparahan Penderita Covi-19**

Adalah karya tulis saya sendiri dan bukan merupakan pengambilan alihan tulisan orang lain, bahwa Disertasi yang saya tulis ini benar- benar merupakan hasil karya saya sendiri.

Apabila dikemudian hari terbukti bahwa sebagian atau keseluruhan Disertasi ini hasil karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 9 Desember 2022

Yang menyatakan,



**Eva Sri Diana**

## PRAKATA

Puji dan syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT karena atas rahmat dan karunia-Nya penulis dapat menyelesaikan disertasi ini tentang “Hubungan Ekspresi mRNA, Kadar Protein HMBG1, TLR4 dan Nilai Cycle Threshold (CT) Dengan Tingkat Keparahan Penderita COVID-19”. Disertasi ini merupakan persyaratan akhir pendidikan dari Sekolah Pascasarjana Program S3 Ilmu Kedokteran Universitas Hasanuddin Makassar. Penulis menyadari sepenuhnya bahwa keberhasilan penulis menyelesaikan pendidikan dan penyusunan tesis ini tidak terlepas dari bimbingan, bantuan dan kerjasama berbagai pihak terutama guru-guru yang penulis hormati, para teman sejawat asisten paru, pasien yang dengan sukarela mengikuti penelitian ini, para medis dan para nonmedis serta keluarga. Pada kesempatan ini penulis menyampaikan ucapan terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada yang terhormat :

1. Prof. dr. Mochammad Hatta, Ph.D, Sp.MK(K), selaku promotor yang dengan penuh perhatian dan kearifan senantiasa memotivasi, membuka wawasan, membimbing, mendorong dan meluangkan waktu di tengah kesibukan bagi penulis sejak awal penelitian ini hingga pada akhir penulisan disertasi ini.
2. Prof. dr. Muh. Nasrum Massi, Ph.D, Sp.MK, selaku ko-promotor dengan penuh perhatian dan penuh kesabaran memberi semangat, motivasi, ide-ide, merangkul dan membantu sejak awal penelitian hingga selesainya disertasi ini.
3. Dr. dr. Irawaty Djaharuddin, Sp.P (K), selaku ko-promotor dengan penuh perhatian dan penuh kesabaran memberi semangat, motivasi, ide-ide, merangkul dan membantu sejak awal penelitian hingga selesainya disertasi ini.
4. Prof. dr. Rosdiana Natzir, Ph.D, Sp.Biok, Dr. dr. Muhammad Fachri, Sp.P,FISR, dr.Agussalim Bukhari, M.Med, Ph.D, Sp.GK(K), dr. Arif Santoso, Ph.D, Sp.P(K), dr. Aminuddin, M.Nut & Diet, Ph.D, Sp.GK, Dr dr. Burhanuddin Bahar, M selaku penguji yang berkompeten dibidangnya yang tidak lelah memberikan masukan, saran-saran dan nasehat yang sangat berguna bagi penyempurnaan disertasi ini.
5. Dr. dr. Ilhamjaya Patellongi, M.Kes, selaku pembimbing statistik dengan penuh perhatian dan kesabaran memberi semangat, dan membantu penelitian hingga selesainya disertasi ini.
6. Khusus untuk suami tercinta Hanafi Putra, SE dan anakku, Olssaviella Pratami Habibullah, Shania Salsabilla Arifah Habibullah, Kylahaura Adzkie Habibullah,

Vallerie At Thahira Adzima Habibullah, yang selalu memberikan dukungan, semangat, dan doa serta pengorbanan yang sangat besar dengan penuh kesabaran dan pengertiannya mendampingi penulis menyelesaikan penelitian dan pendidikan ini.

7. Keluarga besar Ibu Mardiana dan Mama Ratna Juita yang terus memberikan dukungan moril, doa dan semangat untuk penulis menyelesaikan penelitian serta pendidikan ini.

Ucapan terimakasih dan penghargaan juga disampaikan kepada semua pihak yang tidak dapat saya sampaikan satu demi satu yang telah dengan tulus serta segenap hati membantu saya sejak awal hingga akhir terselesaikannya proses pendidikan dan penelitian ini. \

Saya juga menghanturkan maaf sebesar-besarnya apabila terdapat kesalahan dalam penyusunan disertasi ini. Semoga Disertasi ini dapat dijadikan panduan dan bermanfaat bagi banyak Semoga bekal yang penulis terima dapat berguna bagi sesama, bangsa dan negara, diridhai Allah SWT serta mendapat berkah bagi kita semua. Amin.

Jakarta, 12 April 2023



Eva Sri Diana



## ABSTRAK

EVA SRI DIANA. *Hubungan Ekspresi m-RNA, Kadar Protein HMGB 1, TLR-4, dan Nilai Cycle Threshold (CT) dengan Tingkat Keparahan Penderita Covid-19* (dibimbing oleh Mochammad Hatta, Muh. Nasrum Massi, dan Irawaty Djaharuddin).

Tujuan penelitian ini adalah mengetahui hubungan nilai CT dan tingkat keparahan penyakit, dengan menilai ekspresi m-RNA gen serta kadar solubel protein HMGB1 dan TLR-4 pada penderita Covid-19. *Coronavirus* disebut virus *zoonotic*, yaitu virus yang ditransmisikan dari hewan ke manusia. Secara umum, alur *Coronavirus* dari hewan ke manusia dan dari manusia ke manusia melalui transmisi kontak, transmisi droplet, *rute fekes*, dan oral. *High Motility Group Box 1* (HMGB-1) adalah protein yang diekspresikan secara konstitutif di hampir semua jenis sel sebagai tanggapan terhadap infeksi mikroba. Pemeriksaan molekuler dengan metode *real time reverse transcriptase polymerase chain reaction* atau yang selanjutnya disebut sebagai *real time* RT-PCR pada saat ini digunakan sebagai metode untuk mendeteksi SARS-Co-V-2 penyebab Covid-19. Penelitian ini merupakan penelitian potong lintang dengan mengambil sampel darah dari penderita Covid-19 terkonfirmasi yang dirawat di ruang isolasi Covid-19 RSUD Pasar Rebo dan RS Harapan Bunda Jakarta Timur. Hasil penelitian menunjukkan tidak ditemukan perbedaan kadar HMGB-1 serum yang bermakna ( $p>0.05$ ) berdasarkan kelompok usia (23-59 tahun vs 60-87 tahun) walaupun ekspresi m-RNA HMGB-1 sedikit lebih rendah pada kelompok usia yang lebih muda (23-60 tahun). Begitu pula berdasarkan jenis kelamin, walupun sedikit lebih tinggi pada laki-laki dibandingkan perempuan. Sedikit lebih rendah bila ditemukan komorbid dibandingkan bila tidak ada komorbid, tetapi tidak bermakna ( $p>0,05$ ). Berdasarkan tingkat keparahan, lebih tinggi secara bermakna ( $p<0,05$ ) pada keparahan berat dibandingkan sedang. Penelitian ini menyimpulkan bahwa peningkatan ekspresi m-RNA gen HMGB-1 sesuai dengan tingkat keparahan penderita Covid-19.

Kata kunci: HMBG-1, m-RNA, Covid-19, TLR-4, *cycle threshold* (CT)



## ABSTRACT

EVA SRI DIANA. *Correlation Between mRNA Expression, Protein Level of HMGB 1, TLR 4, and Cycle Threshold (CT) Value with the Severity of Covid-19 Patients* (supervised by Mochammad Hatta, Muh. Nasrum Massi, and Irawaty Djaharuddin)

The aim of this study is to determine the relationship between CT value and disease severity by assessing gene mRNA expression and the level of soluble protein High Motility Group Box1 (HMGB1) and TLR4 in patients with COVID-19. Coronavirus is called a zoonotic virus, i. e. a virus that is transmitted from animals to humans. In general, the transmission of coronavirus from animals to humans and from humans to humans is through contact, droplet, fecal, and oral routes. HMGB1 is a protein that is constitutively expressed in almost all cell types in response to microbial infection. Molecular examination using the real-time reverse transcriptase polymerase chain reaction method, hereinafter referred to as real-time RT-PCR is currently being used as a method to detect SARS- CoV2 that causes COVID-19. This research was a cross-sectional study by taking blood samples from confirmed COVID-19 sufferers who were being treated in the COVID-19 isolation room at Pasar Rebo Hospital and Harapan Bunda Hospital, East Jakarta. The results show that there is no significant difference ( $p>0.05$ ) in serum HMGB1 levels by age group (23-59 years vs 60-87 years), although HMGB1 mRNA expression is slightly lower in the younger age group (23-60 years). Likewise, although it is based on gender, it is slightly higher in men than in women. It is slightly lower if comorbidities are found than if there are no comorbidities, but it is not significant ( $p>0.05$ ). Based on the level of severity, it is significantly higher ( $p<0.05$ ) in severe than in moderate milking. In conclusion, the increase in HMGB1 gene mRNA expression corresponds to the severity of COVID-19 sufferers.

Keywords: HMBG1, mRNA, COVID-19, TLR4, cycle threshold (CT)





# DAFTAR ISI

## HALAMAN JUDUL

.....	<b>1</b>
<b>LEMBAR PENGESAHAN</b> .....	Error! Bookmark not defined.
<b>PERNYATAAN KEASLIAN DISERTASI</b> .....	Error! Bookmark not defined.
<b>PRAKATA</b> .....	<b>5</b>
<b>ABSTRAK</b> .....	Error! Bookmark not defined.
<b>ABSTRACT</b> .....	Error! Bookmark not defined.
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>7</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>12</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>14</b>
<b>DAFTAR GRAFIK</b> .....	<b>16</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	Error! Bookmark not defined.
<b>DAFTAR SINGKATAN</b> .....	<b>17</b>
<b>BAB I</b> .....	<b>20</b>
<b>PENDAHULUAN</b> .....	<b>20</b>
<b>1.1 Latar Belakang</b> .....	<b>20</b>
<b>1.2 Rumusan Masalah</b> .....	<b>20</b>
<b>1.3 Hipotesis</b> .....	<b>20</b>
<b>1.4 Tujuan Penelitian</b> .....	<b>20</b>
<b>1.4.1 Tujuan Umum</b> .....	<b>20</b>
<b>1.4.2 Tujuan Khusus</b> .....	<b>20</b>
<b>1.5 Manfaat</b> .....	<b>21</b>
<b>1.5.1 Manfaat Dari Segi Keilmuan</b> .....	<b>23</b>
<b>1.5.2 Manfaat Bagi Pelayanan</b> .....	<b>24</b>
<b>1.5.3 Novelitas</b> .....	<b>25</b>
<b>BAB II</b> .....	<b>26</b>
<b>TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>26</b>
<b>2.1 Coronavirus Disease 2019 (COVID-19)</b> .....	<b>27</b>
<b>2.2 Patofisiologi Covid-19</b> .....	<b>28</b>
<b>2.3 Gejala Klinis Covid-19</b> .....	<b>28</b>
<b>2.4 Diagnosis Covid-19</b> .....	<b>28</b>
<b>2.4.1 Anamnesa</b> .....	<b>31</b>
<b>2.4.2 Definisi Kasus</b> .....	<b>32</b>

2.4.3 Pemeriksaan Fisis.....	34
2.4.4 Pemeriksaan Penunjang .....	34
2.4.5 Diagnosis Banding.....	44
2.5 Pengobatan Covid-19 .....	45
2.5.1 Terapi dan Monitoring.....	45
2.6 Terapi atau Tindakan Lain Covid-19.....	50
2.6.1 AntiIL-1 (Anakinra) .....	51
2.6.2 Antibiotik.....	51
2.6.3 Intravenous Immunoglobulin (IVIg) .....	52
2.6.4 Anti IL-6 (Tocilizumab).....	52
2.6.5 Mesenchymal Stem Cell (MSCs)/ Sel Punca .....	53
2.6.6 Terapi Plasma Konvalesen.....	54
2.6.7 Bronkoskopi .....	57
2.6.8 Therapeutic Plasma Exchange (TPE).....	57
2.6.9 Vaksinasi .....	58
2.7 Sistem Imunitas Terhadap Infeksi .....	59
2.7.1 Pengenalan Mikroba oleh Imunitas Alami .....	64
2.7.2 Stimulasi Respon Imunitas Alami Melawan Mikroba .....	66
2.8 High Mobility Box Group 1 (HMGB1) .....	67
2.8.1 Aktivitas Sitokin HMGB1 .....	69
2.8.2 Peran MD-2 pada HMGB1-TLR4.....	74
2.8.3 Pengaturan Sekresi HMGB1 .....	74
2.9 Toll-Like Reseptor 4 (TLR4).....	76
2.9.1 TLR Dalam SARS-CoV dan MERS-CoV .....	82
2.9.2 Kerusakan Pulmoner dan TLR4 .....	86
2.9.3 Peran HMGB1 dan TLR4 dalam Infeksi COVID-19.....	87
2.10 Nilai Cycle Threshold (CT).....	89
2.11 Kerangka Teori.....	91
2.12 Kerangka Konsep .....	93
<b>BAB III.....</b>	<b>94</b>
<b>METODE PENELITIAN .....</b>	<b>94</b>
3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian.....	94
3.2 Kriteria Penelitian .....	94
3.2.1 Kriteria Inklusi .....	94

3.2.2 Kriteria Eksklusi.....	96
3.3 Desain Studi .....	97
3.4 Alat dan Bahan Penelitian .....	97
3.5 Cara Kerja Pemeriksaan Realtime PCR .....	110
3.5.1 Ekstraksi Asam Nukleat.....	116
3.5.2 Cara Pemeriksaan Ekspresi Mrna gen HMGB1 dan gen TLR4 dengan Teknik Realtime PCR .....	117
3.6 Cara Kerja Pengukuran Kadar Solubel Protein HMGB1 dan TLR4 dengan Teknik ELISA ( <i>Enzyme-Link Immunosorbent Assay</i> ).....	117
3.7 Cara Perhitungan Sampel.....	117
3.8 Definisi Operasional .....	118
3.9 Analisa Statistik .....	118
3.9.1 Data Penelitian.....	118
3.9.2 Analisis Data .....	118
3.9.3 Persetujuan Etik.....	118
3.10 Alur Penelitian .....	118
3.11 Rencana Jadwal Kegiatan.....	118
3.12 Rincian Anggaran.....	118
BAB IV .....	119
HASIL PENELITIAN .....	119
4.1 Karakteristik Subjek.....	119
4.2 Hasil Analisis <i>Cycle Threshold</i> .....	119
4.3 Hasil Analisis Ekspresi mRNA HMGB1 dan Proteinnya .....	119
4.4 Hasil Analisis Ekspresi mRNA TLR4 dan Proteinnya .....	119
4.5 Hasil Analisis Korelasi Cycle Treshold, Biomarker pada Masing-Masing Tingkat Keparahan Penderita .....	119
4.6 Hasil Analisis Korelasi Cycle Treshold, Biomarker Pada Keluaran Pasien .....	119
BAB V .....	120
PEMBAHASAN .....	12020
5.1 Karakteristik Subjek.....	120
5.2 Analisis Usia .....	12321
5.3 Analisis Jenis Kelamin .....	12421
5.4 Analisis Komorbid .....	12421
5.5 Analisis Cycle Threshold.....	12623
5.6 Analisis Ekspresi mRNA HMGB1 dan Proteinnya .....	12723

<b>5.7 Perbedaan kadar solubel HMGB1 berdasarkan Karakteristik Pasien.....</b>	<b>128</b>
<b>5.8 Analisis Ekspresi mRNA TLR4 dan Proteinnya.....</b>	<b>129</b>
<b>5.9 Korelasi Cycle Threshold, Biomarker pada masing-masing Tingkat Keparahan Penderita.....</b>	<b>12930</b>
<b>BAB VI KESIMPULAN, SARAN DAN KETERBATASAN.....</b>	<b>133</b>
<b>5.10 Kesimpulan .....</b>	<b>133</b>
<b>5.11 Saran .....</b>	<b>133</b>
<b>5.12 Keterbatasan.....</b>	<b>133</b>
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>134</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>14141</b>
<b>Lampiran 1. Rekomendasi Persetujuan Etik .....</b>	<b>141</b>
<b>Lampiran 2. Data Hasil Penelitian .....</b>	<b>142</b>

## DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Tingkat keparahan penyakit COVID-19 (WHO, 2021)	20
Tabel 3.1 Rencana Jadwal kegiatan	93
Tabel 3.2 Rincian Anggaran	93
Tabel 4.1 Karakteristik Pasien	94
Tabel 4.2 Hasil Luaran pasien	95
Tabel 4.3 Perbedaan Cycle Threshold berdasarkan karakteristik pasien	96
Tabel 4.4 Perbedaan mRNA HMGB1 Berdasarkan Karakteristik Pasien (Fc)	98
Tabel 4.5 Perbedaan mRNA TLR4 Berdasarkan Karakteristik Pasien (Fc)	100
Tabel 4.6 Perbedaan kadar TLR4 serum berdasarkan karakteristik pasien (ng/mL)	101
Tabel 4.7 Korelasi CT, ekspresi HMGB1 dan Proteinnya Masing-Masing	103
Tabel 4.8 Korelasi CT, ekspresi HMGB1, TLR4 dan Proteinnya Masing-Masing	108

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Struktur Coronavirus	(Korsman SNJ, 2012)	25
Gambar 2.2	Siklus hidup Coronavirus (SARS)	(Du, et al., 2009)	26
Gambar 2.3	Pilihan terapi dan rencana pemeriksaan untuk pasien konfirmasi		45
Gambar 2.4	Algoritma penanganan pasien COVID-19		45
Gambar 2.5	Rangkuman alur penatalaksanaan pasien COVID-19 berdasarkan beratnya kasus		46
Gambar 2.6	Obat yang menghambat inflamasi COVID-19 melalui jalur HMGB1-DAMP/PAMP		46
Gambar 2.7	Mekanisme prinsip imunitas alami dan adaptif		55
Gambar 2.8	Struktur kimia High Mobility Group Box 1 (HMGB1),		63
Gambar 2.9	Fungsi HMGB1 intra seluler dan ekstra seluler		65
Gambar 2.10	Ekstraselular HMGB1 sebagai sitokin proinflamasi / kemokin		



66

Gambar 2.11 Fungsi HMGB1 dan infeksi COVID-19

70

Gambar 2.12 Jalur sinyal Tool like reseptors (TLRs)

73

Gambar 2.13 Gambaran umum jalur utama sinyal TLR4

73

Gambar 2.14 Abstrak grafis dimana SARS-Cov-2 dapat mengaktifkan TLR4 di jantung dan paru untuk menyebabkan penyimpangan TLR4 mendukung jalur pro-inflamasitergantungan MyD88 (canonical) daripada jalur alternatif anti inflamasi dan interferon tergantung-TRIF/TRAM

76

Gambar 2.15 Penunjukkan TLR1, 4 dan 6 dilibatkan dalam sel host infeksi SARS-CoV-2

81

Gambar 2.16 Kerangka Teori

84

Gambar 2.17 Kerangka Konsep

85

Gambar 3.1 Alur Penelitian

92

Gambar 5. 1 Mekanisme Patogenesis pada Pasien T2DM dan COVID-19

109

Gambar 5. 2 Hasil Keluaran Paian COVID-19 pada DM Tipe II

**DAFTAR GRAFIK**

Grafik 4.1 Box plot Perbedaan Cycle Treshold berdasarkan Tingkat Keparahan.....97

Grafik 4.2 Box plot Perbedaan mRNA HMGB1 berdasarkan Tingkat Keparahan.....99

Grafik 4.3 Box plot Perbedaan mRNA TLR4 berdasarkan Tingkat Keparahan.....102

Grafik 4.4 Box plot TLR4 Serum berdasarkan Tingkat Keparahan .....102

Grafik 4.5 Scatter plot antara Cycle Treshold dan ekspresi mRNA HMGB1 pada kedua kelompok penderita.....104

Grafik 4.6 Scatter plot antara Cycle Treshold dan ekspresi mRNA TLR4 pada kedua kelompok penderita.....104

Grafik 4.7 Scatter plot antara Cycle Treshold dan kadar HMGB1 serum pada kedua kelompok penderita.....105

Grafik 4.8 Scatter plot antara Cycle Treshold dan kadar TLR4 serum pada kedua kelompok penderita.....105

Grafik 4.9 Scatter plot antara Ekspresi mRNA HMGB1 dan kadar HMGB1 serum pada kedua kelompok penderita.....106

Grafik 4.10 Scatter plot antara Ekspresi mRNA TLR4 dan kadar TLR4 serum pada kedua kelompok penderita.....106

Grafik 4.11 Scatter plot antara Ekspresi mRNA HMGB1 dan kadar TLR4 pada kedua kelompok penderita.....107

Grafik 4.12 Scatter plot antara kadar HMGB1 serum dan kadar TLR4 serum pada kedua kelompok penderita.....107

## DAFTAR SINGKATAN

2019-nCoV	:	2019 <i>Novel Coronavirus</i>
ACE2	:	<i>angiotensin converting enzyme 2</i>
ARDS	:	<i>acute respiratory distress syndrome</i>
BMI	:	<i>body mass index</i>
BP	:	Tekanan darah
BPM	:	Denyut jantung per menit
CD14	:	cluster of differential 14
COVID 19	:	<i>Coronavirus Disease 2019</i>
CPAP	:	Tekanan saluran napas positif terus menerus
CRP	:	<i>C-reactive protein</i>
CRS	:	<i>cytokine release syndrome</i>
CT	:	Cycle Threshold
CT	:	computed tomography
DAMPs	:	<i>Damaged-Associated Molecular Patterns</i>
DCs	:	sel dendrit
DFPP	:	Double-Filtration Plasmapheresis
ECM	:	extracellular matrix
ECMO	:	<i>Extra Corporeal Membrane Oxygenation</i>
FiO <sup>2</sup>	:	fraksi oksigen inspirasi
GI	:	gastrointestinal
HFNO	:	<i>high-flow nasal oxygen</i>
HMGB 1	:	<i>High mobility group box 1</i>
HSP	:	heat shock proteins
IAV	:	Infeksi Virus Influenza-A
IF-3	:	<i>interferon- 3</i>
IFN I	:	<i>interferon type1</i>

IL 6	:	Interleukin 6
ILCs	:	<i>innate lymphoid Cells</i>
IRF	:	<i>interferon regulatory factor</i>
IVIg	:	Imunoglobulin intravena
JAK/STAT	:	<i>Janus kinase transducers</i>
KEPK	:	Komisi Etik Penelitian Kesehatan
LPS	:	Lipopolisakarida
MAP	:	tekanan arteri
MAPK	:	<i>mitogen-activated protein kinase</i>
MD-2	:	myeloid differential protein-2
MERS-CoV	:	<i>Middle East Respiratory Syndrome</i>
MIP	:	macrophage inflammatory proteins
MSCs	:	<i>Mesenchymal Stem Cell</i>
MyD88	:	<i>Myeloid differentiation primary</i>
NF – kB	:	<i>nuclear factor-kB</i>
NIV	:	Ventilasi non-invasif
NK	:	<i>Natural Killer</i>
NLS	:	Nuclear localization signal
OI	:	Oxygenation Index
OSI	:	Oxygenation Saturation Index
oxPL	:	oxidized phospholipid
oxLDL	:	oxidized low-density lipoprotein
PAMPs	:	<i>Pathogen-Associated Molecular Patterns</i>
PaO <sup>2</sup>	:	oksigen arteri tekanan parsial
PEEP	:	positif tekanan ekspirasi akhir
PKR	:	<i>dsRNA dependent protein kinase</i>
PPI	:	pencegahan dan pengendalian infeksi
PPR	:	<i>prototypical pattern recognition</i>
PRRs	:	<i>Pattern Recognition Receptors</i>
RAGE	:	receptor for advanced glycation end products
RT PCR	:	<i>Real time polymerase chain reaction</i>

RNS	:	spesies nitrogen reaktif
ROS	:	spesies oksigen reaktif
S	:	<i>Spike protein</i>
SAP	:	Serum amyloid P
SBP	:	Tekanan darah sistolik
SD	:	Deviasi standar
SARI	:	<i>Severe Acute Respiratory InfeCTion</i>
SARS-CoV	:	<i>Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus</i>
SIRS	:	<i>Systemic inflammatory response syndrome</i>
SIT	:	symptoms to test
SOFA	:	<i>sequential organ failure assesment score</i>
SRMs	:	<i>Soluble Recognition Molecules</i>
TC	:	T cycotoxic
TCR	:	T cell receptors
TH	:	T helper
TICAM1	:	<i>TIR-domain-containing adaptier- inducer interferon <math>\beta</math></i>
TIR	:	<i>toll interleukin-1 receptor</i>
TLR4	:	<i>Toll-like receptor 4</i>
TLRs	:	<i>human Toll-like receptors</i>
TNF- $\alpha$	:	<i>tumor necrosis factor-alpha</i>
TPE	:	<i>terapi plasma exchange</i>
TRAF	:	<i>Protein tumor necrosis faCTOR receptor-associated factor</i>

## BAB I

### PENDAHULUAN

Pada bab ini, dijelaskan mengenai gambaran umum tugas akhir yang diangkat. Gambaran umum tersebut meliputi latar belakang, perumusan masalah, batasan masalah, tujuan dan manfaat penelitian ini.

#### 1.1 Latar Belakang

Salah satu penyebab penyakit menular yang perlu diwaspadai adalah virus. Dalam 20 tahun terakhir, manusia telah mengalami tiga wabah virus corona, diantaranya , seperti Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus (SARS-CoV) pada tahun 2002-2003, Middle East Respiratory Syndrome (MERS-CoV) yang pertama kali teridentifikasi di Saudi Arabia pada tahun 2012, dan wabah penyakit corona virus yang sedang berlangsung yang terjadi mulai tahun 2019 (Tang D, 2010). Tiongkok melaporkan kasus pneumonia misterius yang tidak diketahui penyebabnya pada tanggal 31 Desember 2019. Pasien dengan kasus tersebut sudah berjumlah 44 pasien dalam tiga hari dan terus bertambah hingga saat ini berjumlah jutaan kasus (WHO, 2020). Data epidemiologi pada awalnya menunjukkan 66% pasien berkaitan dengan satu pasar seafood di Wuhan, Provinsi Hubei Tiongkok (Huang, et al., 2020).

Penelitian terhadap pasien menunjukkan adanya infeksi coronavirus jenis betacoronavirus tipe baru yang diberi nama 2019 Novel Coronavirus (2019-nCoV) (Huang, et al., 2020). World Health Organization pada tanggal 11 Februari 2020 memberi nama virus baru tersebut SARS-CoV-2 dan nama penyakitnya sebagai Coronavirus Disease 2019 pada tanggal 11 Februari 2019 (WHO, 2020). Virus corona ini adalah virus RNA rantai tunggal (single-stranded RNA) yang dapat diisolasi dari beberapa jenis hewan, terakhir virus ini diduga berasal dari kelelawar kemudian berpindah ke manusia. Pada mulanya transmisi virus ini belum dapat ditentukan apakah dapat melalui antara manusia-manusia. Akhirnya dikonfirmasi bahwa transmisi pneumonia ini dapat menular dari manusia ke manusia (Relman, 2020).

Virus corona ini menjadi patogen penyebab utama outbreak penyakit pernapasan. Pada tanggal 11 Maret 2020, WHO mengumumkan bahwa COVID-19 menjadi pandemic di dunia. Kasus COVID-19 dunia per tanggal 21 Mei 2021, kasus terkonfirmasi 165.158.285 kasus, meninggal 3.425.017 kasus (WHO, 2020). Indonesia



mengumumkan kasus COVID-19 pertama pada tanggal 2 Maret 2020, setelah 4 bulan kasus pertama di Cina. Kasus pertama di Indonesia pada bulan Maret 2020 sebanyak 2 kasus dan setelahnya pada tanggal 6 Maret ditemukan kembali 2 kasus. Kasus COVID-19 hingga kini terus bertambah. Penambahan kasus awalnya sebanyak ratusan kemudian melonjak jauh sampai ribuan hingga kini. Pada tanggal 21 Mei 2021 kasus terkonfirmasi 1.758.898 kasus, meninggal 48.887 kasus, dan sembuh 1.621.572 kasus. Propinsi dengan kasus COVID-19 terbanyak adalah DKI Jakarta (24,0%), Jawa Barat (17,2%) dan Jawa Tengah (210,9%) (Indonesia, 2021).

Patogenesis pasti SARS-CoV-2 dan peran masing-masing komponen sistem imun bawaan dan adaptif masih belum diketahui. Identifikasi genetik faktor-faktor yang mempengaruhi kerentanan alami terhadap penyakit infeksi pada manusia dapat memberikan wawasan baru mekanisme pertahanan terhadap infeksi. Respon inflamasi berlebihan bila dibiarkan berlangsung terus akan mengganggu sistem homeostasis tubuh, menimbulkan systemic inflammatory response syndrome, dan gagal multi organ. Target virus SARS-CoV-2 adalah jalan napas, alveolar dan endotel vaskular serta makrofag di paru-paru, mengikat enzim angiotensin converting enzyme 2 (ACE2) yang diekspresikan dalam sel-sel tersebut (M.Ibrahim, et al., 2020) (Zhou, 2020). Bagaimanapun tingkat keparahan dari patofisiologi COVID-19 ditandai tidak hanya oleh infeksi virus tetapi juga oleh respon inflamasi agresif dari host yang dapat menyebabkan kerusakan sistemik yang parah (WONG, et al., 2004).

Penyakit komorbid seperti hipertensi, diabetes, obesitas dan aterosklerosis berhubungan dengan tingkat keparahan penyakit, memiliki rata-rata kasus kematian yang lebih tinggi diantara semua pasien rawat inap (Richardson, et al., 2020) (Suleyman, et al., 2020) (Grasselli, et al., 2020) (Wu & McGoogan, 2020) (Du, et al., 2020) (Wang, et al., 2020) (I. Bispo, 2020). Tingkat keparahan penyakit ditandai dengan aktivasi berlebihan dari sistem kekebalan yang menyebabkan badai sitokin yang bertanggung jawab atas cytokine release syndrome (CRS) (Wang, et al., 2020) (Sun, et al., 2020).

Respon terhadap inflamasi dimulai dengan pelepasan sitokin lokal, seperti interleukin-6 (IL-6) dan tumor necrosis factor-alpha (TNF- $\alpha$ ), yang dapat menyebar secara sistemik menyebabkan acute respiratory distress syndrome (ARDS) dan kegagalan banyak organ, menyebabkan kematian pada kasus COVID-19 yang paling parah (Shimizu, et al., 2018) (EO Gubernur, 2020). Terlepas dari apa yang telah dijelaskan mengenai infeksi sel inang dan spike protein yang mengikat ACE2 (W. Li,

2004), faktor lain mungkin berkontribusi terhadap infektivitas dan patogenesis SARS-CoV-2 yang perlu diselidiki lebih lanjut (Wan Y, 2020). Spike Protein (S) berinteraksi kuat dengan human Toll-like receptors (TLRs), terutama TLR-4, yang diekspresikan secara berlebihan dalam kondisi inflamasi kronis, terjadi ketidakseimbangan respon pada COVID-19 berat dan komorbiditas kardiometabolik.

High mobility group box 1 (HMGB1) merupakan protein nukleus yang mengaktifasi sistem kekebalan tubuh bawaan dalam merespon inflamasi yang mengancam tubuh baik karena trauma steril dan infeksi. HMGB1 adalah protein nukleus faktor transkripsi, faktor pertumbuhan, dan telah diidentifikasi sebagai mediator sitokin proinflamasi dini pada trauma/cedera steril dan mediator sitokin proinflamasi lambat pada infeksi dan sepsis berat (Wang HL, 2014). Mekanisme molekuler mengungkapkan, ikatan HMGB1 dan sinyal Toll-like receptor 4 (TLR4) akan memediasi pelepasan sitokin dan kerusakan jaringan (Anderson U, 2011). Peningkatan kadar sitokin inflamasi seperti interleukin (IL-1, IL-6) dan tumor necrosis factor  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) akan memediasi respon sistemik dan memperburuk kerusakan organ (Harris HE, 2012).

HMGB1 mengandung komponen kromatin di berbagai tempat, berada dalam nukleus sel eukariotik dengan struktur nukleosom stabil serta berperan dalam kompleks nukleoprotein. HMGB1 diekspresikan secara konstitutif di hampir semua jenis sel dan disekresikan dari sel kekebalan yang diaktivasi untuk mengatur peradangan. HMGB1 disekresikan oleh aktivasi sel makrofag dan menyebabkan kematian pada percobaan model tikus sepsis (Anderson U, 2011). HMGB1 tidak hanya dilepas dari aktivasi sel makrofag tetapi juga bertindak sebagai mediator poten aktivasi makrofag. HMGB1 menginduksi tumor necrosis factor (TNF- $\alpha$ ), interleukin IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, dan IL-8, dan macrophage inflammatory proteins (MIP-1 $\alpha$  dan MIP-1 $\beta$ ) dalam monosit/makrofag manusia (Anderson U, 2011).

HMGB1 selalu dikaitkan dengan kegagalan fungsi berbagai organ dan menjadi penyebab kematian utama di ruang terapi intensif. Reseptor pertama yang terlibat sebagai partner pengikat HMGB1 adalah ligan receptor for advanced glycation end products (RAGE), transmembran, permukaan sel, dan anggota keluarga besar multi ligand immunoglobulin. Sinyal HMGB1 melalui RAGE memperantarai kemotaksis dan merangsang pertumbuhan sel, dan meningkatkan regulasi reseptor permukaan sel, termasuk RAGE dan TLR4. HMGB1 secara fisik berinteraksi dengan RAGE, tetapi

interaksi dengan TLR4 diperlukan untuk aktivasi HMGB1 melepas sitokin makrofag (Abusoglu S, 2013).

TLR4 ialah glikoprotein yang berfungsi sebagai reseptor permukaan sel dimana terlibat dalam respon imun alami pada infeksi yang disebabkan mikroorganisme baik bakteri maupun virus. TLR4 merupakan protein yang mengenal pathogen-associated molecular patterns (PAMPs) dimana dapat sebagai pemicu dalam sistem pertahanan tubuh terhadap infeksi (Liu, et al., 2021). Pada keadaan disfungsi paru yang berat terjadi kerusakan alveolar paru dan proses inflamasi yang disebabkan pelepasan HMGB1 dari sel makrofag akibat induksi TLR4 yang berikatan dengan molekul dari mikroorganisme (Zhou, et al., 2021).

Berdasarkan latar belakang diatas maka diperlukan penelitian yang berhubungan dengan infeksi COVID-19 sebagai salah satu pathway terjadinya sepsis dan keparahan penderita COVID-19. Penelitian ini dilakukan untuk menentukan biomarker COVID-19 dengan menilai CT dan tingkat keparahan penderita COVID-19, dihubungkan dengan dinamika profil ekspresi mRNA gen HMGB1, mRNA gen TLR4, kadar solubel protein HMGB1, dan kadar solubel protein TLR4.

## **1.2 Rumusan Masalah**

Apakah ekspresi mRNA gen serta kadar solubel protein dari HMGB1 dan TLR4 menunjukkan hubungan nilai CT dengan tingkat keparahan penderita COVID-19.

## **1.3 Hipotesis**

1. Terjadi peningkatan ekspresi mRNA gen HMGB1 sesuai dengan tingkat keparahan penderita COVID-19.
2. Terjadi peningkatan ekspresi mRNA gen TLR4 sesuai dengan tingkat keparahan penderita COVID-19.
3. Terjadi peningkatan kadar solubel protein HMGB1 sesuai dengan tingkat keparahan penderita COVID-19.
4. Terjadi peningkatan kadar solubel protein TLR4 sesuai dengan tingkat keparahan penderita COVID-19.
5. Terjadi peningkatan ekspresi mRNA gen HMGB1, TLR4 dan penurunan nilai CT sesuai tingkat keparahan penderita COVID-19.
6. Terjadi peningkatan kadar solubel protein HMGB1, TLR4 dan penurunan nilai CT sesuai tingkat keparahan penderita COVID-19.

7. Terjadi penurunan nilai CT sesuai dengan tingkat keparahan penderita COVID- 19.

## **1.4 Tujuan Penelitian**

### **1.4.1 Tujuan Umum**

Untuk mengetahui hubungan nilai CT dan tingkat keparahan penyakit, dengan menilai ekspresi mRNA gen serta kadar solubel protein HMGB1 dan TLR4 pada penderita COVID-19.

### **1.4.2 Tujuan Khusus**

1. Mengetahui hubungan antara ekspresi mRNA gen HMGB1 dengan tingkat keparahan penderita COVID-19.
2. Mengetahui hubungan antara ekspresi mRNA gen TLR4 dengan tingkat keparahan penderita COVID-19.
3. Mengetahui hubungan antara kadar solubel protein HMGB1 dengan tingkat keparahan penderita COVID-19.
4. Mengetahui hubungan antara kadar solubel protein TLR4 dengan tingkat keparahan penderita COVID-19.
5. Mengetahui hubungan antara ekspresi mRNA gen HMGB1, TLR4 dan Nilai CT dengan tingkat keparahan penderita COVID-19.
6. Mengetahui hubungan antara kadar solubel protein HMGB1, TLR4 dan Nilai CT dengan tingkat keparahan penderita COVID-19.
7. Mengetahui hubungan nilai CT dengan tingkat keparahan penderita COVID-19.

## **1.5 Manfaat**

### **1.5.1 Manfaat Dari Segi Keilmuan**

Dengan dilakukannya penelitian ini diharapkan dapat menambah pengetahuan tentang peran ekspresi mRNA gen serta kadar solubel protein HMGB1,TLR4 dan nilai CT dalam menentukan tingkat keparahan penderita COVID-19.

### **1.5.2 Manfaat Bagi Pelayanan**

Dari hasil penelitian ini diharapkan ekspresi mRNA gen serta kadar solubel protein HMGB1 dan TLR4 dapat dipakai sebagai biomarker dalam menentukan tingkat keparahan pada penderita COVID-19.

### **1.5.3 Novelitas**

Belum ada penelitian yang menghubungkan antara ekspresi mRNA dan kadar protein dari HMBG1, TLR4 dan nilai Cycle threshold (Ct) dengan tingkat keparahan penderita COVID-19.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

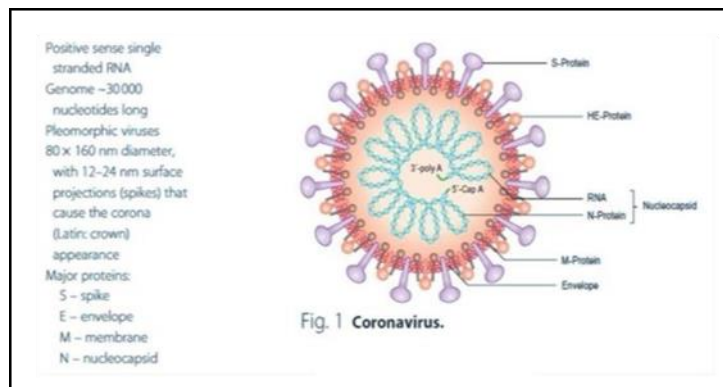
#### 2.1 Coronavirus Disease 2019 (COVID-19)

*Coronavirus* disebut virus *zoonotic* yaitu virus yang ditransmisikan dari hewan ke manusia. Kebanyakan *Coronavirus* menginfeksi hewan dan bersirkulasi di hewan. Hewan liar seperti kelelawar, unta, musang dan tikus bambu adalah host yang sering ditemukan pada *Coronavirus*. Secara umum, alur *Coronavirus* dari hewan ke manusia dan dari manusia ke manusia melalui transmisi kontak, transmisi droplet, rute feses dan oral (Wang Z, 2020). *Coronavirus* tergolong ordo Nidovirales, keluarga *Coronaviridae*. Terdapat empat genus yaitu alpha coronavirus, betacoronavirus, deltacoronavirus dan gamma coronavirus (Huang, et al., 2020) (Wang Z, 2020) (Fehr AR, 2015). *Coronavirus* memiliki tujuh tipe yang dapat menginfeksi manusia saat ini yaitu dua alphacoronavirus (229E dan NL63) dan empat betacoronavirus, yakni OC43, HKU1, Middle East respiratory syndrome-associated coronavirus (MERS-CoV), dan Severe acute respiratory syndrome-associated coronavirus (SARS-CoV), serta yang ketujuh yaitu Novel Coronavirus 2019 (2019-nCoV) (Huang, et al., 2020) (Wang Z, 2020) (Anon., 2020).

*Coronavirus* merupakan virus RNA strain tunggal positif, berkapsul dan tidak bersegmen. Virus ini sebagai ordo Nidovirales memiliki genom RNA sangat panjang serta karakteristik partikel berbentuk bulat atau elips, sering pleimorfik dengan diameter sekitar 50-200m (Wang Z, 2020). Struktur *coronavirus* seperti kubus, dengan protein S atau spike protein pada permukaannya yang berperan dalam penempelan serta masuknya virus ke dalam sel host (Gambar 0.1) (Korsman SNJ, 2012) . Protein S salah satu protein antigen utama virus dan merupakan struktur utama untuk penulisan gen (Wang Z, 2020) (Fehr AR, 2015). *Coronavirus* sensitif terhadap panas, dapat dinaktifkan oleh desinfektan mengandung klorin, formalin, eter, alkohol, asam perioksiasetat, detergen non-ionik, oxidizing agent, kloroform dan pelarut lipid dengan suhu 56°C selama 30 menit (Wang Z, 2020) (Korsman SNJ, 2012)



Gambar 2.1 Struktur Coronavirus (Korsman SNJ, 2012)



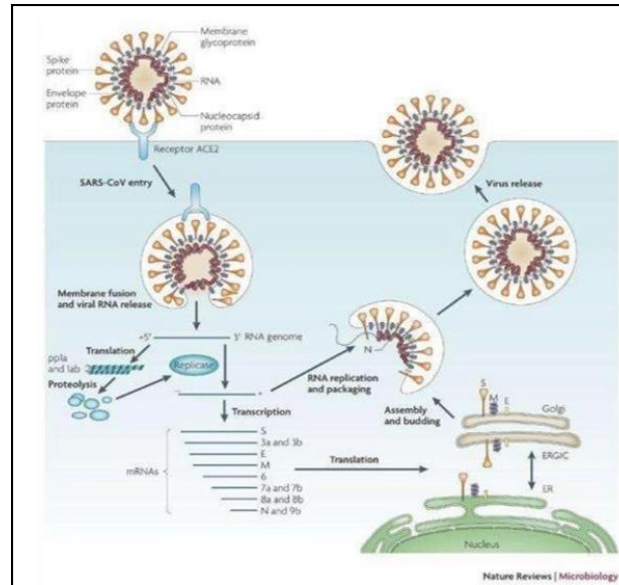
*Severe acute respiratory syndrome* (SARS) merupakan kejadian luar biasa yang terjadi pada tahun 2002-2003 di provinsi Guangdong, Tiongkok. SARS-CoV dari grup 2b betacoronavirus merupakan agen virus Coronavirus pada kasus SARS ini. SARS tersebar cepat sehingga dalam waktu 6 bulan sudah mencapai 32 negara dimana total kasus 8098 dengan total kematian 774 kasus. Virus SARS diduga sangat mudah dan cepat menyebar antar manusia. Demam, batuk, nyeri kepala, nyeri otot, dan gejala infeksi saluran napas lain merupakan gejala yang muncul dari SARS. Pasien kebanyakan sembuh sendiri, dengan tingkat kematian sekitar 10-14% terutama pasien dengan usia lebih dari 40 tahun dengan penyakit penyerta seperti penyakit jantung, asma, penyakit paru kronik dan diabetes (Wang Z, 2020) (Fehr AR, 2015). *Coronavirus* jenis baru kembali ditemukan pada tahun 2012 di Timur Tengah, diberi nama MERS-CoV (grup 2c  $\beta$ - coronavirus). MERS cenderung tidak bersifat infeksius dibandingkan SARS, total kasus MERS ditemukan mulai tahun 2012 sampai 2015 hanya 1143. Namun MERS lebih tinggi tingkat kematiannya yaitu mencapai sekitar 40% sedangkan SARS hanya sekitar 10% (Wang Z, 2020) (Fehr AR, 2015).

Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) adalah penyakit yang disebabkan oleh virus *Severe acute Respiratory Syndrome Corona Virus 2* (SARS-CoV-2), nama penyakit penyebab pandemi ini ditetapkan oleh WHO tanggal 11 februari 2020 (WHO, 2020). Virus SARS-CoV-2 merupakan coronavirus jenis baru pertama kali dilaporkan Wuhan Tiongkok pada tanggal 31 desember 2021 (WHO, 2020). Coronavirus tipe baru ini merupakan tipe ketujuh, dari genus betacoronavirus yang ditemukan dari analisis isolat saluran respirasi bawah pasien (Wang Z, 2020) (Anon., 2020). Sekuensing pertama genom SARS-CoV-2 teridentifikasi dengan 5 subsekuens dari sekuens genom

virus dirilis pada 10 Januari 2020. Sekuens genom dari SARS-CoV-2 diketahui hampir mirip dengan SARS-CoV dan MERS-CoV. Pohon evolusi SARS-CoV dan MERS-CoV tidak tepat sama (Huang, et al., 2020) (Wan Y, 2020). Kejadian COVID-19 di Wuhan mirip dengan SARS di Guangdong pada tahun 2002 dan keduanya terjadi di musim dingin. Angka kematian COVID-19 paling rendah, dimana SARS mencapai 10% dan MERS 37% (Wang Z, 2020). Namun saat ini tingkat efektivitas virus COVID-19 ini diketahui setidaknya setara atau lebih tinggi dari SARS-CoV (Guan, 2003) (Kan, 2005) (Cao, et al., 2020)

## **2.2 Patofisiologi Covid-19**

Pemahaman mengenai COVID-19 secara patofisiologi masih memerlukan studi lanjut. Sel target pada SARS-CoV-2 ditemukan kemungkinan berlokasi di saluran napas bawah (Huang, et al., 2020). Sama seperti virus SARS-CoV, Virus SARS-CoV-2 juga menggunakan ACE-2 sebagai reseptor. Coronavirus tidak bisa hidup tanpa sel host dan hanya bisa memperbanyak diri melalui sel host-nya. Protein S penentu utama dalam menginfeksi spesies host-nya serta penentu tropisnya. Coronavirus setelah menemukan sel host sesuai tropismenya, maka dengan perantara protein S yang ada di atas permukaannya akan menempel dan masuk ke sel host (Wang Z, 2020). Protein S berikatan dengan reseptor di sel host yaitu enzim ACE-2 (angiotensin converting enzyme 2). Enzim ACE-2 ini dapat ditemukan di mukosa oral, 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 (I Hamming, 2004). Virus masuk ke saluran napas atas kemudian melakukan siklus hidupnya yaitu bereplikasi di sel epitel saluran napas atas dan kemudian menyebar ke saluran napas bawah. Virus di saluran napas akan meluruh pada infeksi akut dan berlanjut meluruh beberapa waktu di sel gastrointestinal setelah penyembuhan. Masa inkubasi virus sampai muncul penyakit sekitar 3-7 hari (Wang Z, 2020) (Korsman SNJ, 2012). Virus setelah berhasil masuk sel selanjutnya translasi replikasi gen dari RNA genom virus. Kemudian replikasi dan transkripsi dimana sintesis virus RNA melalui translasi dan perakitan dari kompleks replikasi virus. Tahap selanjutnya adalah perakitan dan rilis virus (Fehr AR, 2015). Gambar siklus hidup virus (Gambar 0.2) (Du, et al., 2009).



Gambar 2.2 Siklus hidup Coronavirus (SARS) (Du, et al., 2009)

Has ran napas bawah diikuti dengan respons sistem imun bawaan dan spesifik. Faktor yang berperan penting dalam patogenesis SARS ini adalah virus dan sistem imun. Tahap awal dimulai dengan kerusakan difus alveolar, makrofag serta terjadi infiltrasi sel T dan proliferasi pneumosit tipe 2. Tahap awal infeksi terlihat gambaran infiltrat pulmonary seperti bercak- bercak pada rongent thorak. Selanjutnya terjadi organisasi pada tahap kedua sehingga terjadi perubahan infiltrat atau konsolidasi luas di paru. Virus menyebabkan infeksi juga ditempat lain selain saluran napas. Virus juga sudah bereplikasi di enterosit sehingga menyebabkan diare dan luruh di feses, juga terdapat di urin dan cairan tubuh lainnya (Wang Z, 2020). Studi terbaru pasien SARS yang terdapat inflamasi di paru dan kerusakan luas jaringan paru, menunjukkan peningkatan sitokin proinflamasi seperti IL6, IL12, IFN $\gamma$ , IL1B, MCP1 dan IP10. Patofisiologi dari tingginya patogenitas yang tidak biasa dari SARS-CoV dan MERS-CoV sampai saat ini belum sepenuhnya dipahami (Huang, et al., 2020).

Infeksi Coronavirus biasanya sering terjadi pada musim dingin dan semi yang cenderung banyak perjalanan atau perpindahan, juga terkait dengan karakteristik Coronavirus yang lebih menyukai suhu dingin dan kelembaban tidak terlalu tinggi (Wang Z, 2020; Fehr AR, 2015; Korsman SNJ, 2012). Semua orang secara umum rentan terinfeksi. Infeksi Coronavirus terutama pada dewasa atau anak usia lebih tua dengan gejala klinis ringan seperti common cold dan faringitis sampai berat seperti MERS atau SARS, dan terjadi diare akibat beberapa strain pada dewasa. Pneumonia Coronavirus jenis baru dapat terjadi pada pasien immunocompromis dan populasi

normal, bergantung paparan jumlah virus. Penyakit tetap terjadi walau sistem imun tubuh berfungsi normal jika kita terpapar virus dalam jumlah besar dalam satu waktu. Penyakit secara progresif lebih cepat dan lebih parah jika terjadi pada orang-orang dengan sistem imun lemah seperti orang tua, wanita hamil, dan kondisi lainnya. Re-infeksi dapat terjadi karena infeksi Coronavirus menimbulkan sistem kekebalan tubuh yang lemah terhadap virus ini lagi (Wang Z, 2020).

Studi epidemiologi dan virologi menunjukkan bahwa penularan terutama terjadi dari orang yang bergejala dan tidak bergejala kepada orang lain, melalui droplet saluran napas saat kontak langsung dengan orang yang terinfeksi atau kontak dengan permukaan benda yang terkontaminasi virus (Somsen, et al., 2020) (Burke, et al., 2020) (Lauer, et al., 2020) (Sean Wei Xiang Ong, et al., 2020) (Liu, et al., 2020). Penularan juga bisa melalui aerosol yaitu selama prosedur yang menimbulkan aerosol, atau saat orang terinfeksi dengan orang lain berada dalam satu ruangan tertutup tanpa ventilasi memadai dalam waktu lama seperti di restoran, kursus paduan suara, kelas kebugaran, klub malam, kantor dan tempat ibadah (WHO, 2020). Studi klinis dan virologi yang melakukan pengumpulan berulang sampel pasien COVID-19 yang terkonfirmasi positif menemukan bahwa virus SARS-CoV-2 di awal perjalanan penyakit terbanyak di saluran pernapasan bagian atas seperti hidung dan tenggorokan (Yu, et al., 2020) (Huang, et al., 2020) (Pan, et al., 2020), dalam 3 hari pertama sejak timbulnya gejala (Pan, et al., 2020) (Tong, et al., 2020) (Kimball, et al., 2020) (WHO, 2020).

### **2.3 Gejala Klinis Covid-19**

Penelitian terhadap 77 pasangan penularan infeksi yang mengamati viral load tertinggi di usap tenggorokan pada saat timbulnya gejala, menunjukkan puncak penularan pada atau sebelum timbulnya gejala dengan perkiraan 44% dari infeksi yang terjadi selama fase pra-gejala dari indeks kasus (He X dkk, 2020) Masa inkubasi COVID-19 yaitu waktu antara terpapar virus hingga timbulnya gejala, rata-rata 5-7 hari dan bisa sampai 14 hari. Selama periode ini yang dikenal juga sebagai periode pre-symptomatik, beberapa orang yang terinfeksi dapat menular dari 1-3 hari sebelum onset gejala (Kimball, et al., 2020). Penularan pada pre-symptomatik masih memerlukan virus untuk disebarkan melalui tetesan infeksi atau melalui kontak langsung atau tidak langsung dengan cairan tubuh dari orang yang terinfeksi.

Kasus asimtomatik adalah orang yang terinfeksi SARS-CoV-2 yang tidak menunjukkan gejala (Wei WE dkk, 2020 ; Gandhi RT dkk, 2020). Durasi penyebaran virus menular diantara pasien bergejala diperkirakan 8 hari sejak timbulnya gejala apa pun (Wölfel, et al., 2020) (Jeroen J.A. van Kampen, 2020). Proporsi orang yang terinfeksi SARS-CoV-2 tidak bergejala masih harus dipelajari. Studi meta-analisis terbaru terhadap tujuh penelitian dengan populasi skrining yang telah ditentukan, melaporkan perkiraan keseluruhan sebesar 31% dengan interval prediksi berkisar antara 26-37% (Buitrago, et al., 2020). Satu tinjauan sistematis dari 79 studi menemukan bahwa 20% (17-25%) orang tetap asimtomatik selama perjalanan infeksi (Buitrago, et al., 2020). Tinjauan sistematis lainnya yang mencakup 13 studi yang dianggap berisiko rendah bias, memperkirakan bahwa 17% kasus tetap asimtomatik (14-20%) (Byambasuren, et al., 2020). Sebuah meta-analisis lebih lanjut termasuk 28 studi. Terdapat perbedaan yang besar antara dua penelitian populasi umum dengan proporsi infeksi asimtomatik pada saat pengujian masing-masing 20% dan 75%, pada kontak proporsinya adalah 8,2-50% dan 59% (49-68%) pasien kebidanan tetap. Asimtomatik di seluruh sementara 54% (42% -65%) penghuni panti jompo asimtomatik pada pengujian dimana 28% (13-50%) tetap asimtomatik melalui tindak lanjut (Yanes LM dkk, 2020). Pengujian kohort secara keseluruhan seperti di kapal pesiar Diamond Princess menemukan proporsi asimtomatik di antara semua kasus yang terinfeksi sebesar 17,9% (95% CI: 15,5-20,2%) (Mizumoto K dkk, 2020). Penelitian cohort dari 356 pasien dialysis didapatkan 52 pasien (40,3%) memiliki penyakit asimtomatik atau penyakit yang tidak terdeteksi menggunakan RT- PCR ketika pengujian serologis untuk antibodi dilakukan (Clarke, et al., 2020).

Pada pasien COVID-19 yang bergejala didapatkan gejala ringan (40%), gejala sedang (40%), gejala berat yang membutuhkan dukungan oksigen sekitar 15% dan gejala berlanjut kritis sebanyak 5%. Penyakit dengan komplikasi seperti gagal napas, acute respiratory distress syndrome (ARDS), sepsis dan syok septik, tromboemboli dan kegagalan multiorgan, termasuk cedera ginjal akut dan cedera jantung (China CDC Weekly, 2020). Usia yang lebih tua, merokok (Alqahtani JS dkk, 2020 ; WHO, 2020) dan penyakit tidak menular yang mendasari (NCD), seperti diabetes, hipertensi, penyakit jantung, penyakit paru-paru kronis dan kanker, telah dilaporkan sebagai faktor risiko untuk penyakit parah dan kematian, dan analisis multivariabel telah mengkonfirmasi usia yang lebih tua, sequential organ failure assesment score (SOFA ) skor dan D-dimer  $> 1 \mu\text{g} / \text{L}$  saat masuk dikaitkan dengan mortalitas yang lebih tinggi

(Huang, et al., 2020)(Zhou F dkk, 2020). Penelitian ini juga mengamati durasi median deteksi RNA virus 20,0 hari (IQR 17-24 hari) pada orang yang selamat, tetapi RNA virus COVID-19 dapat dideteksi sampai kematian pada non-penyintas.

Dalam sebuah penelitian terhadap 20 pasien hemokologi immunocompromised RNA virus terdeteksi hingga 78 hari setelah timbulnya gejala (IQR 24-64 hari). Virus yang layak terdeteksi hingga 61 hari setelah timbulnya gejala (Aydillo T dkk, 2020). COVID-19 dikaitkan dengan manifestasi mental dan neurologis, termasuk kecemasan, depresi, masalah tidur, sakit kepala, pusing, gangguan indra penciuman atau perasa (Spinato G dkk, 2020), mialgia, delirium / ensefalopati, agitasi, stroke, cedera otak iskemik hipoksia, kejang, koma, meningo-ensefalitis dan sindrom Guillain-Barré (Favas TT dkk, 2020 ; Abdullahi A dkk, 2020 ; Kantonen J dkk, 2020 ; Koutromanidis M dkk, 2020). Kecemasan dan depresi tampaknya umum di antara orang-orang yang dirawat di rumah sakit karena COVID-19, dengan satu kelompok yang dirawat di rumah sakit dari Wuhan, Cina, mengungkapkan lebih dari 34% orang mengalami gejala kecemasan dan 28% mengalami gejala depresi (Mao L dkk, 2020). Temuan awal dari studi kohort retrospektif terhadap lebih dari 60.000 kasus COVID-19 di Amerika Serikat menunjukkan 18,1% kejadian diagnosis kejiwaan (termasuk gangguan kecemasan dan insomnia) dalam 2 minggu pertama hingga 3 bulan setelah diagnosis COVID-19, 5,8% di antaranya merupakan diagnosis baru (Taquet M dkk, 2020).

Dalam banyak kasus, manifestasi neurologis telah dilaporkan bahkan tanpa gejala pernapasan. Lebih dari 80% pasien COVID-19 di kohort Amerika Serikat yang dirawat di rumah sakit mengalami gejala neurologis selama penyakit mereka dan manifestasi ini dikaitkan dengan risiko COVID-19 parah empat kali lipat lebih tinggi dalam kohort ini (Liotta EM dkk, 2020). Serangkaian kasus pengamatan dari Prancis menemukan bahwa 65% orang dengan COVID-19 di ICU menunjukkan tanda-tanda kebingungan (atau delirium) dan 69% mengalami agitasi (Helms J dkk, 2020). Delirium, khususnya, telah dikaitkan dengan peningkatan risiko kematian dalam konteks COVID-19 (Chen T dkk, 2020). Selain itu, COVID-19 telah dikaitkan dengan penyakit serebrovaskular akut (termasuk stroke iskemik dan hemoragik) dengan laporan dari beberapa seri kasus dan / atau seri kohort dari Cina, Prancis, Belanda, Inggris, dan Amerika Serikat (Mao L dkk, 2020 ; Helms J dkk, 2020 ; Chen T dkk, 2020 ; Klol FA dkk, 2020 ; Varatharaj A dkk, 2020). Laporan kasus sindrom Guillain-Barré dan meningo-ensefalitis di antara orang dengan COVID-19 juga telah dilaporkan (Zhao dkk, 2020 ; Poyiadji N dkk ; 2020 ; Nanda S dkk, 2020).

Manifestasi klinis COVID-19 umumnya lebih ringan pada anak-anak dibandingkan dengan orang dewasa (Ludvigsson JF dkk, 2020 ; Verity R dkk, 2020 ; Liguoro I dkk, 2020). Relatif sedikit kasus bayi yang telah dilaporkan; bayi juga mengalami penyakit ringan dikonfirmasi dengan COVID (Liguoro I dkk, 2020 : Riphagen S dkk, 2020). Namun, presentasi akut dengan sindrom hiperinflamasi yang menyebabkan kegagalan multi organ dan syok telah dilaporkan (Riphagen S dkk, 2020 ; Kaushik A dkk, 2020), digambarkan sebagai sindrom inflamasi multisistem yang secara temporer terkait dengan COVID-19 pada anak-anak dan remaja. Kondisi yang mendasari penyakit parah pada anak-anak tampaknya serupa dengan orang dewasa. Di antara 655 anak dengan COVID-19 yang dikonfirmasi di laboratorium dan informasi lengkap tentang kondisi yang mendasarinya, 23% memiliki kondisi yang mendasari, dengan obesitas, penyakit paru-paru kronis (termasuk asma), penyakit kardiovaskular, dan immunosupresi yang paling sering dilaporkan (Kaushik A dkk, 2020).

Hasil tinjauan sistematis hidup (per 6 Oktober 2020) menunjukkan bahwa wanita hamil dan baru hamil dengan COVID-19 tampaknya cenderung tidak bergejala (0,28, 95% CI 0,13-0,62; 4 penelitian; 462.051 wanita) , atau gejala umum yang nyata seperti demam, dispnea dan mialgia, dibandingkan dengan wanita tidak hamil pada usia reproduksi (Allotey J dkk, 2020). Temuan ini sebagian besar dipengaruhi oleh penelitian terhadap wanita hamil yang dirawat di rumah sakit karena alasan apa pun, dengan data terbatas tentang wanita selama awal kehamilan atau pascapartum. Wanita hamil atau baru hamil dengan COVID-19 parah berisiko lebih tinggi untuk memerlukan perawatan di ICU (OR = 2.13, 95% CI 1.53–2.95; 7 studi, 601.108 wanita), ventilasi invasif (OR = 2.59, 95% CI 2.28-2.94; 6 studi, 601.044 wanita) atau *extra corporeal membrane oxygenation* (ECMO) (OR = 2.02, 95% CI 1.22-3.34; 2 studi, 461936 wanita). Usia ibu yang lebih tua, body mass index (BMI) yang tinggi, etnis non-kulit putih, penyakit penyerta yang sudah ada sebelumnya, hipertensi kronis, diabetes yang sudah ada sebelumnya, merupakan faktor risiko untuk mengembangkan COVID-19 yang parah.

Pemahaman tentang gejala sisa jangka menengah dan jangka panjang COVID-19 mulai muncul. Kondisi baru ini yang digambarkan sebagai sindrom pasca-COVID atau COVID panjang (Greenhalgh T dkk, 2020) masih kurang konsensus di seluruh dunia tentang terminologi dan definisi klinis. Sindrom perawatan pasca-intensif (PICS) telah dijelaskan dengan baik pada pasien sakit kritis lainnya dan tampaknya juga diamati pada pasien COVID-19. Namun, pasien yang tidak dirawat di rumah sakit (atau mereka

dengan COVID-19 ringan dan sedang) dan anak-anak juga melaporkan pengelompokan gejala yang menetap dan gejala sisa jangka menengah dan panjang, dan anak-anak. Data terkini (sedang dicetak pada Lancet oleh Bin Cao et al.) tentang konsekuensi jangka panjang COVID-19 untuk pasien di Wuhan, memperingatkan bahwa disfungsi dan komplikasi dapat bertahan pada beberapa pasien yang dipulangkan selama setidaknya 6 bulan ( The Lancet, 2020).

## **2.4 Diagnosis Covid-19**

### **2.4.1 Anamnesa**

Diagnosis COVID-19 berdasarkan anamnesa didapatkan tiga gejala klinis utama yaitu demam, batuk kering (sebagian kecil berdahak) dan sulit bernapas atau sesak. Gejala tambahan lainnya seperti nyeri kepala, nyeri otot, lemas, diare, dan batuk darah. Pada beberapa kondisi dapat terjadi tanda dan gejala infeksi saluran napas akut berat (Severe Acute Respiratory Infection) SARI. Definisi SARI yaitu infeksi saluran napas akut dengan riwayat demam (suhu  $\geq 38^{\circ}$  C) dan batuk dengan onset dalam 10 hari terakhir serta perlu perawatan di rumah sakit. Namun demam kadang tidak didapati pada beberapa keadaan seperti pada pasien geriatri atau pasien imunokompromis. Tidak adanya demam tidak mengeksklusikan infeksi virus (Huang C dkk, 2020 ; WHO, 2020 ; PDPI, 2020). Gejala COVID-19 yang muncul berbeda-beda. Kebanyakan orang mengalami demam (83–99%), batuk (59–82%), kelelahan (44–70%), anoreksia (40–84%), sesak napas (31– 40%), mialgia (11–35 %). Gejala nonspesifik lainnya, seperti sakit tenggorokan, hidung tersumbat, sakit kepala, diare, mual dan muntah, juga telah dilaporkan ( Huang C dkk, 2020; Chen N dkk, 2020; Wang D dkk, 2020; Guan WJ dkk, 2020). Kehilangan penciuman (anosmia) atau hilangnya rasa (ageusia) sebelum timbulnya gejala pernapasan juga telah dilaporkan (Giacomelli A dkk, 2020; Tong JY dkk, 2020). Manifestasi neurologis tambahan yang dilaporkan termasuk pusing, agitasi, kelemahan, kejang, atau temuan sugestif stroke termasuk masalah dengan bicara atau penglihatan, kehilangan sensorik, atau masalah dengan keseimbangan dalam berdiri atau berjalan (Favas TT dkk, 2020; Abdullahi A dkk, 2020). Orang tua dan pasien dengan immunosupresi khususnya mungkin datang dengan gejala atipikal seperti kelelahan, berkurangnya kewaspadaan, berkurangnya mobilitas, diare, kehilangan nafsu makan, kebingungan, dan tidak adanya demam. (Arons MM dkk, 2020; McMichael TM dkk, 2020; Tay HS dkk, 2020). Gejala seperti dispnea, demam, gejala



gastrointestinal (GI) atau kelelahan akibat adaptasi fisiologis pada wanita hamil, kejadian buruk pada kehamilan, atau penyakit lain seperti malaria, dapat tumpang tindih dengan gejala COVID-19 ( Elshafeey F dkk,2020). Anak- anak mungkin tidak melaporkan demam atau batuk sesering orang dewasa (CDC, 2020).

#### **2.4.2 Definisi Kasus**

Definisi Kasus Definisi operasional pada bagian ini, dijelaskan definisi operasional kasus COVID-19 yaitu kasus suspek, kasus probable, kasus konfirmasi, kontak erat (Burhan E dkk, 2020).

##### **2.4.2.1 Kasus Suspek**

Seseorang yang memiliki salah satu dari kriteria berikut:

- a. Seseorang yang memenuhi salah satu kriteria klinis DAN salah satu kriteria epidemiologis: Kriteria Klinis: Demam akut ( $\geq 380$  C)/riwayat demam dan batuk; ATAU Terdapat 3 atau lebih gejala/tanda akut berikut: demam/riwayat demam, batuk, kelelahan (fatigue), sakit kepala, myalgia, nyeri tenggorokan, coryza/ pilek/ hidung tersumbat, sesak nafas, anoreksia/mual/muntah, diare, penurunan kesadaran DAN Kriteria Epidemiologis:
  - Pada 14 hari terakhir sebelum timbul gejala memiliki riwayat tinggal atau bekerja di tempat berisiko tinggi penularan ATAU,
  - Pada 14 hari terakhir sebelum timbul gejala memiliki riwayat tinggal atau bepergian di negara/wilayah Indonesia yang melaporkan transmisi local ; ATAU,
  - Pada 14 hari terakhir sebelum timbul gejala bekerja di fasilitas pelayanan kesehatan, baik melakukan pelayanan medis, dan non-medis, serta petugas yang melaksanakan kegiatan investigasi, pemantauan kasus dan kontak; ATAU,
- b. Seseorang dengan ISPA Berat.
- c. Seseorang tanpa gejala (asimtomatik) yang tidak memenuhi kriteria epidemiologis dengan hasil rapid antigen SARSCoV-2 positif.

##### **2.4.2.2 Kasus Proable**

Seseorang yang memiliki salah satu dari kriteria berikut:

- a. Seseorang yang memenuhi kriteria klinis DAN memiliki riwayat kontak erat dengan kasus probable; ATAU terkonfirmasi; ATAU berkaitan dengan cluster COVID19.
- b. Kasus suspek dengan gambaran radiologis sugestif ke arah COVID-19.

- c. Seseorang dengan gejala akut anosmia (hilangnya kemampuan indra penciuman) atau ageusia (hilangnya kemampuan indra perasa) dengan tidak ada penyebab lain yang dapat diidentifikasi.
- d. Orang dewasa yang meninggal dengan distres pernapasan DAN memiliki riwayat kontak erat dengan kasus probable atau terkonfirmasi, atau berkaitan dengan cluster COVID-19.

#### **2.4.2.3 Kasus Konfirmasi**

Seseorang yang dinyatakan positif terinfeksi virus COVID-19 dengan kriteria sebagai berikut:

- a. Seseorang dengan hasil RT-PCR positif.
- b. Seseorang dengan hasil rapid antigen SARS-CoV-2 positif DAN memenuhi kriteria definisi kasus probable ATAU kasus suspek (kriteria A atau B).
- c. Seseorang tanpa gejala (asimtomatik) dengan hasil rapid antigen SARS-CoV-2 positif DAN Memiliki riwayat kontak erat dengan kasus probable ATAU terkonfirmasi.

Kasus konfirmasi dibagi menjadi 2:

- a. Kasus konfirmasi dengan gejala (simtomatik).
- b. Kasus konfirmasi tanpa gejala (asimtomatik).

#### **2.4.2.4 Kontak Erat**

Orang yang memiliki riwayat kontak dengan kasus probable atau konfirmasi COVID-19. Riwayat kontak yang dimaksud antara lain:

- a. Kontak tatap muka/berdekatan dengan kasus probable atau kasus konfirmasi dalam radius 1 meter dan dalam jangka waktu 15 menit atau lebih.
- b. Sentuhan fisik langsung dengan kasus probable atau konfirmasi (seperti bersalaman, berpegangan tangan, dan lain-lain).
- c. Orang yang memberikan perawatan langsung terhadap kasus probable atau konfirmasi tanpa menggunakan APD yang sesuai standar.
- d. Situasi lainnya yang mengindikasikan adanya kontak berdasarkan penilaian risiko lokal yang ditetapkan oleh tim penyelidikan epidemiologi setempat.

Berdasarkan beratnya kasus, COVID-19 dibedakan menjadi tanpa gejala, ringan, sedang, berat dan kritis (Burhan E dkk, 2020) :

1. Tanpa gejala

Kondisi ini merupakan kondisi paling ringan. Pasien tidak ditemukan gejala.

## 2. Ringan

Pasien dengan gejala tanpa ada bukti pneumonia virus atau tanpa hipoksia. Gejala yang muncul seperti demam, batuk, fatigue, anoreksia, napas pendek, mialgia. Gejala tidak spesifik lainnya seperti sakit tenggorokan, kongesti hidung, sakit kepala, diare, mual dan muntah, penghidu (anosmia) atau hilang pengecapan (ageusia) yang muncul sebelum onset gejala pernapasan juga sering dilaporkan. Pasien usia tua dan immunocompromised gejala atipikal seperti fatigue, penurunan kesadaran, mobilitas menurun, diare, hilang nafsu makan, delirium, dan tidak ada demam.

## 3. Sedang

Pada pasien remaja atau dewasa : pasien dengan tanda klinis pneumonia (demam, batuk, sesak, napas cepat) tetapi tidak ada tanda pneumonia berat termasuk  $SpO_2 > 93\%$  dengan udara Pedoman Tatalaksana COVID-19 7 ruangan ATAU Anak-anak : pasien dengan tanda klinis pneumonia tidak berat (batuk atau sulit bernapas + napas cepat dan/atau tarikan dinding dada) dan tidak ada tanda pneumonia berat).  
Kriteria napas cepat : usia 5 tahun,  $\geq 30x$ /menit.

## 4. Berat /Pneumonia Berat

Pada pasien remaja atau dewasa : pasien dengan tanda klinis pneumonia (demam, batuk, sesak, napas cepat) ditambah satu dari: frekuensi napas  $> 30$  x/menit, distress pernapasan berat, atau  $SpO_2 < 93\%$  pada udara ruangan. ATAU Pada pasien anak : pasien dengan tanda klinis pneumonia (batuk atau kesulitan bernapas), ditambah setidaknya satu dari berikut ini: • sianosis sentral atau  $SpO_2$  5 tahun,  $\geq 30x$ /menit.

## 5. Kritis

Pasien dengan *Acute Respiratory Distress Syndrome* (ARDS), sepsis dan syok sepsis. Berikut Tabel 2.1 adalah kriteria tingkat keparahan penyakit COVID-19 yang ditentukan oleh WHO (WHO, 2021):

**Tabel 2.1 Tingkat keparahan penyakit COVID-19 (WHO, 2021)**

Derajat Ringan		Pasien bergejala (Tabel 1) yang memenuhi definisi kasus COVID-19 tanpabukti virus pneumonia atau hipoksia. Lihat situs web WHO untuk definisi kasus terbaru ( 1).
Derajat Sedang	Pneumonia	Remaja atau dewasa dengan tanda klinis pneumonia (demam, batuk, dispnea, napas cepat) tetapi tidak ada tanda

		<p>pneumonia berat, termasuk SpO<sub>2</sub> <math>\geq</math> 90% di udara kamar.</p> <p>Anak dengan tanda klinis pneumonia tidak berat (batuk atau sesak napas + napas cepat dan / atau dada terengah-engah) dan tidak ada tanda pneumonia berat. Napas cepat (dalam napas / menit): &lt;2 bulan: <math>\geq</math> 60; 2 –11 bulan: <math>\geq</math> 50; 1 –5 tahun: <math>\geq</math> 40.</p> <p>Sedangkan diagnosis dapat ditegakkan atas dasar klinis; pencitraan dada (radiograf, CT scan, ultrasound) dapat membantu diagnosis dan mengidentifikasi atau menyingkirkan komplikasi paru.</p> <p>Peringatan: Ambang saturasi oksigen 90% untuk menentukan COVID-19 yang parah adalah sewenang-wenang dan harus ditafsirkan dengan hati-hati.</p> <p>Misalnya, dokter harus menggunakan penilaian mereka untuk menentukan apakah oksigen rendah kejenuhan adalah tanda keparahan atau normal untuk pasien tertentu dengan penyakit paru-paru kronis. Demikian pula, saturasi &gt; 90– 94% pada udara ruangan adalah abnormal (pada pasien dengan paru-paru normal) dan dapat menjadi tanda awal penyakit parah, jika pasien dalam tren menurun. Umumnya, jika ada keraguan, panel menyarankan untuk melakukan kesalahan dengan menganggap penyakitnya sebagai penyakit yang parah.</p>
Derajat Berat	Severe Pneumonia	Remaja atau dewasa dengan tanda klinis pneumonia (demam, batuk, dispnea, napas cepat) ditambah salah satu dari berikut ini: frekuensi napas > 30 napas / menit; gangguan pernapasan parah; atau SpO <sub>2</sub> < 90% di udara kamar.

		<p>Anak dengan tanda klinis pneumonia (batuk atau kesulitan bernapas) + setidaknya salah satu dari yang berikut: Sianosis sentral atau <math>SpO_2 &lt; 90\%</math>; gangguan pernapasan berat (misalnya napas cepat, mendengus, dada tertarik sangat berat);</p> <p>tanda bahaya umum: ketidakmampuan untuk menyusui atau minum, lesu atau tidak sadar, atau kejang.</p> <p>Napas cepat (dalam napas / menit):  <math>&lt;2</math> bulan: <math>\geq 60</math>; 2 –11 bulan: <math>\geq 50</math>; 1 –5 tahun: <math>\geq 40</math>.</p> <p>Sedangkan diagnosis dapat ditegakkan atas dasar klinis; pencitraan dada (radiograf, CT scan, ultrasound) dapat membantu diagnosis dan mengidentifikasi atau menyingkirkan komplikasi paru.</p>
Penyakit Kritis	Acute Respiratory Distress Syndrome (ARDS)	<p>Serangan: dalam waktu 1 minggu setelah gangguan klinis yang diketahui (yaitu pneumonia) atau gejala pernapasan baru atau yang memburuk.</p> <p>Pencitraan dada: ( radiografi, CT scan, atau USG paru): kekeruhan bilateral, tidak sepenuhnya dijelaskan oleh kelebihan volume, kolaps lobar atau paru, atau nodul.</p> <p>Asal infiltrat paru: gagal pernafasan tidak sepenuhnya dijelaskan oleh gagal jantung atau kelebihan cairan.</p> <p>Perlu penilaian yang obyektif (misalnya ekokardiografi) untuk menyingkirkan penyebab hidrostatis infiltrat / edema jika tidak ada faktor risiko.</p> <p>Gangguan oksigenasi pada orang dewasa :</p> <p>ARDS ringan: <math>200 \text{ mmHg} &lt; PaO_2 / FiO_2 \leq 300 \text{ mmHg}</math> (dengan PEEP atau CPAP <math>\geq 5 \text{ cmH}_2\text{O}</math>).</p> <p>ARDS sedang: <math>100 \text{ mmHg} &lt; PaO_2 / FiO_2 \leq 200 \text{ mmHg}</math> (dengan PEEP <math>\geq 5 \text{ cmH}_2\text{O}</math>).</p> <p>ARDS Parah: <math>PaO_2 /</math></p>

		<p><math>FiO_2 \leq 100</math> mmHg (dengan PEEP <math>\geq 5</math> cmH<sub>2</sub>O HAI). b</p> <p>Gangguan oksigenasi pada anak-anak: perhatikan OI dan OSI. c</p> <p>Gunakan OI saat tersedia. Jika PaO<sub>2</sub> tidak tersedia, menyapih FiO<sub>2</sub> untuk mempertahankan SpO<sub>2</sub> <math>\leq 97\%</math> untuk menghitung OSI atau SpO<sub>2</sub> / FiO<sub>2</sub> perbandingan:</p> <p>Bilevel (NIV atau CPAP) <math>\geq 5</math> cmH<sub>2</sub>O melalui masker wajah penuh: PaO<sub>2</sub> / FiO<sub>2</sub> <math>\leq 300</math> mmHg atau SpO<sub>2</sub> / FiO<sub>2</sub> <math>\leq 264</math>. ARDS ringan (ventilasi invasif): <math>4 \leq OI &lt; 8</math> atau <math>5 \leq OSI &lt; 7.5</math>.</p> <p>ARDS sedang (ventilasi invasif): <math>8 \leq OI &lt; 16</math> atau <math>7.5 \leq OSI &lt; 12.3</math>. ARDS parah (ventilasi invasif): <math>OI \geq 16</math> atau <math>OSI \geq 12.3</math>.</p>
	Sepsis	<p>Dewasa: disfungsi organ akut yang mengancam jiwa yang disebabkan oleh respon host yang tidak teratur terhadap infeksi yang dicurigai atau terbukti. Tanda-tanda disfungsi organ antarlain: perubahan status mental (delirium), sulit atau cepat bernapas, saturasi oksigen rendah, output urin berkurang, denyut jantung cepat, denyut nadi lemah, ekstremitas dingin atau tekanan darah rendah, bintik-bintik kulit, bukti laboratorium koagulopati, trombositopenia, asidosis, laktat tinggi, atau hiperbilirubinemia.</p> <p>Anak-anak: infeksi yang dicurigai atau terbukti dan <math>\geq 2</math> kriteria sindrom respons inflamasi sistemik berbasis usia (SIRS), d yang salah satunya pasti suhu abnormal atau jumlah sel darah putih.</p>
	Septic shock	<p>Dewasa: hipotensi persisten meskipun resusitasi volume, membutuhkan vasopresor untuk mempertahankan MAP <math>\geq 65</math> mmHg dan kadar laktat serum <math>&gt; 2</math> mmol / L.</p>

		Anak-anak: setiap hipotensi (SBP <5 persentil atau> 2 SD di bawah normal untuk usia) atau dua atau tiga dari berikut ini: perubahan status mental; bradikardia atau takikardia (HR <90 bpm atau> 160 bpm pada bayi dan detak jantung <70 bpm atau> 150 bpm pada anak-anak); pengisian kapiler berkepanjangan (> 2 detik) atau denyut nadi lemah; pernapasan cepat; kulit berbintik-bintik atau dingin atau ruam petekie atau purpura; laktat tinggi; output urin berkurang; hipertermia atau hipotermia.
	Acute thrombosis	Tromboemboli vena akut (yaitu emboli paru), sindrom koroner akut, stroke akut.
	MIS-C	Definisi kasus awal: anak-anak dan remaja usia 0–19 tahun dengan demam > 3 hari DAN dua dari berikut ini: ruam atau konjungtivitis non-purulen bilateral atautanda peradangan mukosa kulit (mulut, tangan atau kaki); hipotensi atau syok; gambaran disfungsi miokard, perikarditis, valvulitis, atau kelainan koroner (termasuk temuan ECHO atau peningkatan troponin / NT-proBNP); bukti koagulopati (oleh PT, PTT, peningkatan D-dimer), masalah gastrointestinal

		<p>akut (diare, muntah, atau nyeri perut); DAN peningkatan penanda peradangan seperti ESR, protein C-reaktif, atau prokalsitonin. DAN tidak ada penyebab peradangan mikroba lain yang jelas, termasuk sepsis bakterial, sindrom syok stafilokokus atau streptokokus. DAN keberadaan COVID-19 (RT-PCR, tes antigen atau serologi positif), atau kemungkinan kontak dengan pasien dengan COVID-19.</p> <p>Lihat ringkasan ilmiah, 15 Mei 2020 WHO: Sindrom inflamasi multisistemik pada anak-anak dan remaja yang secara temporer terkait dengan COVID-19</p>
--	--	---

Keterangan:

- Sebuah Jika ketinggian lebih dari 1000 m, maka faktor koreksi harus dihitung sebagai berikut:  $PaO_2 / FiO_2 \times \text{tekanan barometrik} / 760$ .
- Saat  $PaO_2$  tidak tersedia,  $SpO_2 / FiO_2 \leq 315$  menyarankan ARDS (termasuk pada pasien tanpa ventilasi).
- Oxygenation Index (OI) adalah pengukuran invasif dari tingkat keparahan gagal napas hipoksemia dan dapat digunakan untuk memprediksi hasil pada pasien anak. Ini dihitung sebagai berikut: persentase fraksi oksigen yang dihirup dikalikan dengan tekanan jalan napas rata-rata (dalam mmHg), dibagi dengan tekanan parsial oksigen arteri (dalam mmHg). Oxygen Saturation Index (OSI) adalah pengukuran non-invasif dan telah terbukti menjadi penanda pengganti yang andal dari OI pada anak-anak dan orang dewasa dengan gagal napas. OSI menggantikan  $PaO_2$  dengan oksigen saturasi yang diukur dengan oksimetri nadi ( $SpO_2$ ) dalam persamaan OI.
- Kriteria SIRS: suhu abnormal ( $> 38,5^\circ C$  atau  $< 36^\circ C$ ); takikardia untuk usia atau



bradikardia untuk usia jika <1 tahun; takipnea untuk usia atau kebutuhan ventilasi mekanis; jumlah sel darah putih abnormal untuk usia atau > 10% band.

- Singkatan: tekanan darah BP; bpm denyut per menit; Tekanan saluran napas positif terus menerus CPAP; CT computed tomography; FiO<sub>2</sub> fraksi oksigen inspirasi; MAP berarti tekanan arteri; Ventilasi non-invasif NIV; Indeks Oksigenasi OI; Indeks Oksigenasi OSI menggunakan SpO<sub>2</sub>; PaO<sub>2</sub> oksigen arteri tekanan parsial; PEEP positif tekanan ekspirasi akhir; Tekanan darah sistolik SBP; Deviasi standar SD; Sindrom respons inflamasi sistemik SIRS; Penilaian kegagalan organ sekuensial SOFA; SpO<sub>2</sub> saturasi oksigen.

### 2.4.3 Pemeriksaan Fisis

Pada pemeriksaan fisik dapat ditemukan tergantung ringan atau beratnya manifestasi klinis. Tingkat kesadaran bisa kompos mentis atau penurunan kesadaran. Tanda vital bisa menunjukkan frekuensi nadi meningkat, frekuensi napas meningkat, tekanan darah normal atau menurun, suhu tubuh meningkat, saturasi oksigen dapat normal atau turun yang dapat disertai retraksi otot pernapasan. Pemeriksaan fisis paru didapatkan inspeksi dapat tidak simetris statis dan dinamis, fremitus raba mengeras, redup pada daerah konsolidasi, suara napas bronkovesikuler atau bronkial dan ronki kasar (PDPI, 2020).

### 2.4.4 Pemeriksaan Penunjang

Pemeriksaan penunjang yang dilakukan diantaranya pemeriksaan radiologi, pemeriksaan spesimen saluran napas atas dan bawah, bronkoskopi, pungsi pleura sesuai kondisi, pemeriksaan kimia darah serta biakan mikroorganisme dan uji kepekaan dari bahan saluran napas (sputum, bilasan bronkus, cairan pleura) dan darah (WHO, 2020; PDPI, 2020). Kultur darah untuk bakteri dilakukan, idealnya sebelum terapi antibiotik. Namun, jangan menunda terapi antibiotik dengan menunggu hasil kultur darah (PDPI, 2020). Pemeriksaan feses dan urin (untuk investigasi kemungkinan penularan (WHO, 2020).

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. Pada stage awal, terlihat bayangan multiple plak kecil dengan perubahan interstisial yang jelas menunjukkan di perifer paru dan

kemudian berkembang menjadi bayangan multiple ground-glass dan infiltrate di kedua paru. Pada kasus berat, dapat ditemukan konsolidasi paru bahkan “white-lung” dan efusi pleura (jarang) (Huang C dkk, 2020; Wang Z dkk, 2020). Pemeriksaan RT-PCR SARS-CoV-2, untuk spesimen saluran napas dari swab tenggorok (nasofaring dan orofaring) sedangkan saluran napas bawah dari sputum, bilasan bronkus, Pada pasien dengan curiga infeksi COVID-19 terutama pneumonia atau sakit berat, sampel tunggal saluran napas atas tidak cukup untuk eksklusi diagnosis dan tambahan saluran napas atas dan bawah direkomendasikan. Klinisi dapat hanya mengambil sampel saluran napas bawah jika langsung tersedia seperti pasien dengan intubasi. Jangan menginduksi sputum karena meningkatkan risiko transmisi aerosol. Kedua sampel (saluran napas atas dan bawah) dapat diperiksa jenis patogen lain (WHO, 2020). Bila tidak terdapat Real time polymerase chain reaction (RT-PCR) dilakukan pemeriksaan serologi. Pada kasus terkonfirmasi infeksi COVID-19, ulangi pengambilan sampel dari saluran napas atas dan bawah untuk petunjuk klirens dari virus. Frekuensi pemeriksaan 2- 4 hari sampai 2 kali hasil negatif dari kedua sampel serta secara klinis perbaikan, setidaknya 24 jam. Jika sampel diperlukan untuk keperluan pencegahan infeksi dan transmisi, specimen dapat diambil sesering mungkin yaitu harian (WHO, 2020). Pemeriksaan kimia darah yang perlu dilakukan adalah darah perifer lengkap, analisis gas darah, fungsi hepar (Pada beberapa pasien, enzim liver dan otot meningkat), fungsi ginjal, gula darah sewaktu, elektrolit, faal hemostasis ( PT/APTT, d Dimer), prokalsitonin (bila dicurigai bakterialis), laktat (Untuk menunjang kecurigaan sepsis) (Huang C dkk, 2020; PDPI, 2020; WHO, 2020).

#### **2.4.5 Diagnosis Banding**

1. Pneumonia bakterial Gejala umum yang muncul diantaranya batuk, batuk berdahak, atau memberat seperti muncul dahak purulen, dahak berdarah, dengan atau tanpa adanya nyeri dada. Pada umumnya tidak bersifat infeksius, dan bukan penyakit infeksius (Wang Z dkk, 2020).
2. SARS/MERS Jenis virus baru ini memiliki kemiripan dengan virus SARS dan MERS namun analisis genetik menunjukkan serupa tetapi tidak sama. Virus jenis baru ini sudah mengalami evolusi. Studi menunjukkan virus baru ini kemampuan penyebaran dan patogenitasnya lebih rendah daripada SARS (Wang Z dkk, 2020).
3. Pneumonia Jamur.
4. Edema paru kardiogenik (gagal jantung) (PDPI, 2020).

## 2.5 Pengobatan Covid-19

Deteksi dini dan pemilahan pasien yang berkaitan dengan infeksi COVID-19 harus dilakukan dari mulai pasien datang ke Rumah Sakit. Triase merupakan garda terdepan dan titik awal bersentuhan dengan Rumah Sakit sehingga penting dalam deteksi dini dan penangkapan kasus. Pada saat pasien pertama kali teridentifikasi, isolasi pasien di rumah atau isolasi rumah sakit untuk kasus yang ringan (Johns Hopkins University, 2020). Pada kasus yang ringan mungkin tidak perlu perawatan di rumah sakit, kecuali ada kemungkinan perburukan cepat. Semua pasien yang dipulangkan diinstruksikan untuk kembali ke rumah jika sakit memberat atau memburuk (Wang Z dkk, 2020; WHO, 2020).

### 2.5.1 Terapi dan Monitoring

Semua kasus dilakukan isolasi sesuai dengan gejala klinis yang muncul, baik ringan maupun sedang. Pasien bed-rest dan hindari perpindahan ruangan atau pasien. Penting adanya implementasi pencegahan dan pengendalian infeksi (PPI). Serial foto toraks dilakukan untuk menilai perkembangan penyakit. Pemberian terapi oksigen segera kepada pasien dengan SARI, 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. Tidak ada napas atau obstruksi, distress respirasi berat, sianosis sentral, syok, koma dan kejang merupakan tanda gawat pada anak. Kondisi tersebut harus diberikan terapi oksigen selama resusitasi dengan target SpO<sub>2</sub> ≥ 94%, jika tidak dalam kondisi gawat target SpO<sub>2</sub> ≥ 90%. Semua area pasien SARI ditatalaksana harus dilengkapi dengan oksimetri, sistem oksigen yang berfungsi, disposable, alat pemberian oksigen seperti nasal kanul, masker simple wajah, dan masker dengan reservoir. Perhatikan pencegahan infeksi atau penularan droplet atau peralatan ketika mentatalaksana atau memberikan alat pemberian oksigen kepada pasien (Burhan E dkk, 2020).

Kenali kegagalan napas hipoksemia berat seperti pasien dengan distress napas yang gagal dengan terapi standar oksigen termasuk gagal napas hipoksemia berat, dan pasien yang masih menunjukkan usaha napas yang berat walaupun sudah diberikan oksigen dengan masker dengan reservoir (kecepatan aliran 10-15 liter/menit). Gagal napas hipoksemia pada ARDS biasanyaagalnya ventilasi-perfusi intrapulmonar dan

biasanya harus mendapatkan ventilasi mekanik. Penggunaan high-flow nasal oxygen (HFNO) atau noninvasive ventilation (NIV) hanya digunakan untuk pasien tertentu. Pada kasus MERS banyak kasus gagal dengan NIV dan pasien dengan HFNO atau NIV harus dimonitoring ketat terkait perburukan klinis. Jika membandingkan terapi oksigen standar dengan HFNO, HFNO mengurangi kebutuhan ventilasi mekanik atau intubasi. HFNO seharusnya tidak diberikan kepada pasien dengan hiperkapnia, hemodinamik tidak stabil, kegagalan multiorgan, atau status mental abnormal. HFNO mungkin aman untuk pasien dengan derajat ringan-sedang dan hiperkapni tidak perburukan. Jika pasien digunakan HFNO, perlu dimonitor ketat serta peralatan intubasi yang siap jika perburukan atau tidak ada perbaikan dengan percobaan diberikan (1 jam). Bukti terkait penggunaan HFNO belum ada dan laporan dari kasus MERS terbatas. Oleh karena itu pemberian HFNO perlu dipertimbangkan.

Berdasarkan panduan NIV, NIV tidak direkomendasikan digunakan pada pasien gagal napas hipoksemia atau kesakitan virus pandemi (berdasarkan studi kasus SARS dan pandemic influenza). Adapun beberapa risiko terkait penggunaan NIV yaitu delay intubasi, volume tidal luas, dan injury tekanan transpulmonar. Jika pasien digunakan NIV, perlu dimonitor ketat serta peralatan intubasi yang siap jika perburukan atau tidak ada perbaikan dengan percobaan diberikan (1 jam). NIV tidak diberikan kepada pasien hemodinamik tidak stabil, gagal multiorgan, atau status mental abnormal. Jenis HFNO dan NIV baru dikatakan menurunkan risiko transmisi melalui udara. Intubasi endotrakeal Intubasi dilakukan dengan memperhatikan pencegahan penularan via udara. Intubasi dipasang sesuai dengan panduan. Rapid sequence intubation perlu dilakukan segera. Sangat direkomendasikan ventilasi mekanik menggunakan volume tidal yang lebih rendah (4-8 ml / kg prediksi berat badan, predicted body weight) dan tekanan inspirasi yang lebih rendah (tekanan plateau 12 jam per hari (perlu sumber daya yang terlatih). Kombinasi Awake Prone Position + NIV 2 jam 2 kali sehari dapat memperbaiki oksigenasi dan mengurangi kebutuhan akan intubasi pada ARDS ringan hingga sedang

Pada pasien dengan ARDS sedang atau parah, PEEP yang lebih tinggi lebih disarankan dibandingkan PEEP yang lebih rendah. Titirasi PEEP membutuhkan pertimbangan manfaat (mengurangi atelektotrauma dan meningkatkan rekrutmen alveolar) vs. Risiko (overdistensi endinspirasi yang menyebabkan cedera paru-paru dan resistensi vaskular paru yang lebih tinggi). Intervensi manuver perekrutan (RM) diberikan melalui periode episodik dari tekanan jalan napas positif yang tinggi terus

menerus [30-40 cm H<sub>2</sub>O], peningkatan progresif bertahap dalam PEEP dengan driving pressure konstan, atau driving pressure yang tinggi; pertimbangan manfaat vs risiko serupa. Pemantauan pasien diperlukan untuk mengidentifikasi mereka yang merespons aplikasi awal PEEP yang lebih tinggi atau protokol RM yang berbeda, dan menghentikan intervensi ini pada non-responder. Blockade neuromuscular melalui infus continuous tidak disarankan untuk rutin dilakukan. Hindari melepas ventilator dari pasien. Hal ini dapat menyebabkan hilangnya PEEP dan atelektasis. Gunakan in-line catheter untuk melakukan suCTIONing dan klem endotrakeal pipa jika ventilasi perlu dilepas (misalnya untuk memindahkan ke transport ventilator).

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. Kenali syok sepsis Pada orang dewasa saat infeksi dicurigai atau dikonfirmasi DAN vasopressor diperlukan untuk mempertahankan mean arterial pressure (MAP)  $\geq 65$  mmHg dan kadar laktat  $\geq 2$  mmol/L tanpa hipovolemi merupakan tanda syok sepsis.\

Pasien COVID-19 dapat menerima terapi Extra Corporeal Membrane Oxygenation (ECMO) di RS tipe A yang memiliki layanan dan sumber daya sendiri untuk melakukan ECMO. Pasien COVID-19 kritis dapat menerima terapi ECMO bila memenuhi indikasi ECMO setelah pasien tersebut menerima terapi posisi prone (kecuali dikontraindikasikan) dan terapi ventilator ARDS yang maksimal menurut klinisi. Indikasi ECMO yaitu ; PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub> < 60 mmHg selama > 6 jam, PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub> < 50mmHg selama > 3 jam, pH <7,20 + Pa CO<sub>2</sub> > 80mmHg selama >6 jam. Kontraindikasi relatif ECMO; usia  $\geq 65$  tahun, obesitas BMI  $\geq 40$ , status imunokompromis, tidak ada ijin informed consent yang sah, penyakit gagal jantung sistolik kronik, dan terdapat penyebab yang berpotensi reversibel (edema paru, sumbatan mucus bronkus, abdominal compartment syndrome). Komplikasi berat sering terjadi pada terapi ECMO seperti perdarahan, stroke, pneumonia, infeksi septikemi, gangguan metabolik hingga matorak.

Terapi farmakologis yang diberikan seperti vitamin C, B1 dan D, antibiotik seperti Azitromisin 500 mg atau Levofloksasin 750 mg bila ada dugaan infeksi oleh bakteri. Bila sepsis yang diduga kuat oleh karena ko-infeksi bakteri, pemilihan antibiotik disesuaikan dengan kondisi klinis, fokus infeksi dan faktor risiko yang ada pada pasien. Pemeriksaan kultur darah harus dikerjakan dan pemeriksaan kultur sputum

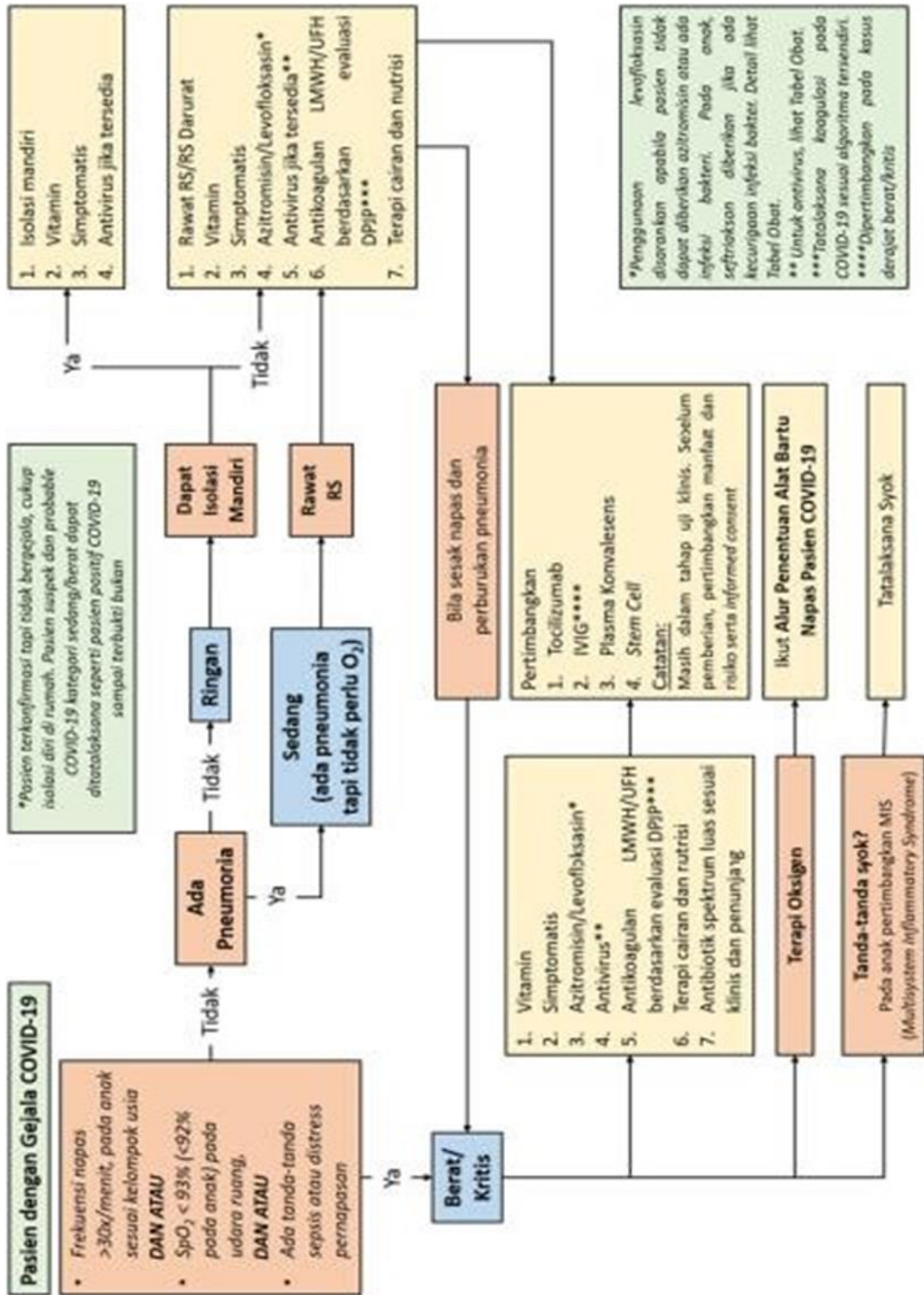
(dengan kehati-hatian khusus) patut dipertimbangkan. Pemberian antivirus yang bisa diberikan adalah Favipiravir (Avigan sediaan 200 mg) loading dose 1600 mg/12 jam/oral hari ke-1 dan selanjutnya 2 x 600 mg (hari ke 2-5) Atau Remdesivir 200 mg IV drip (hari ke-1) dilanjutkan 1x100 mg IV drip (hari ke 2-5 atau hari ke 2-10). Antikoagulan LMWH/UFH bisa diberikan berdasarkan evaluasi DPJP. Deksametason dengan dosis 6 mg/24 jam selama 10 hari atau kortikosteroid lain yang setara seperti hidrokortison pada kasus berat yang mendapat terapi oksigen atau kasus berat dengan ventilator.

Penting sekali pengobatan komorbid dan komplikasi yang ada. Apabila terjadi syok, lakukan tatalaksana syok sesuai pedoman tatalaksana syok yang sudah ada. Obat suportif lainnya dapat diberikan sesuai indikasi. Pertimbangkan untuk diberikan terapi tambahan, sesuai dengan kondisi klinis pasien dan ketersediaan di fasilitas pelayanan kesehatan masing-masing apabila terapi standar tidak memberikan respons perbaikan. Pemberian dengan pertimbangan hati-hati dan melalui diskusi dengan tim COVID-19 rumah sakit. Contohnya anti-IL 6 (tocilizumab), plasma konvalesen, IVIG atau *Mesenchymal Stem Cell* (MSCs) / Sel Punca, terapi plasma exchange (TPE) dan lain-lain.

Rangkuman terapi COVID-19 dapat dilihat pada Gambar 0.3 berikut, algoritma penanganan pada Gambar 0.4 serta alur penatalaksanaan pasien COVID-19 pada Gambar 0.5.

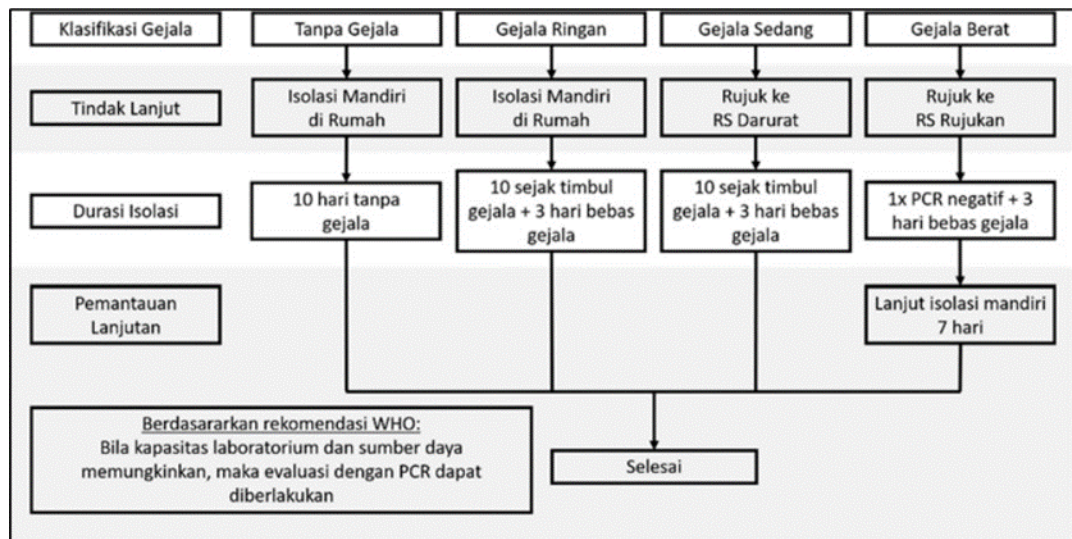
**Gambar 2.3 Pilihan terapi dan rencana pemeriksaan untuk pasien konfirmasi**

Klasifikasi (WHO)	Pemeriksaan	Antiviral	Anti-inflamasi	Vitamin & Suplemen	Pengobatan Lain
Ringan	DPL, Swab PCR	Oseltamivir ATAU Favipiravir		Vitamin C Vitamin D Vitamin E	Terapi O <sub>2</sub> : arus rendah
Sedang	DPL, PCR, AGD, GDS, SGOT/SGPT, Ureum, Kreatinin, D-Dimer, Ferritin,	Favipiravir ATAU Remdesivir	Kortikosteroid, antiinterleukin-6 (jika sangat dipertimbangkan)	Vitamin C Vitamin D Vitamin E	Plasma konvalesens, sel punca  Terapi O <sub>2</sub> : Noninvasif: arus sedang-
	Troponin, IL-6, k/p NT proBNP, XRay Thorax (k/p CT scan)				tinggi (HFNC)
Berat	DPL, PCR, seri AGD, GDS, SGOT/SGPT, Ureum, Kreatinin, D-Dimer, Ferritin,	Favipiravir ATAU Remdesivir	Kortikosteroid, antiinterleukin-6	Vitamin C Vitamin D Vitamin E	Plasma konvalesens, sel punca  IVIG HFNC/ Ventilator
Kritis	Troponin, IL-6, k/p NT proBNP, k/p CK-CKMB, CT scan	Favipiravir ATAU Remdesivir	Kortikosteroid, antiinterleukin-6	Vitamin C Vitamin D Vitamin E	Sel punca  IVIG Ventilator/ ECMO



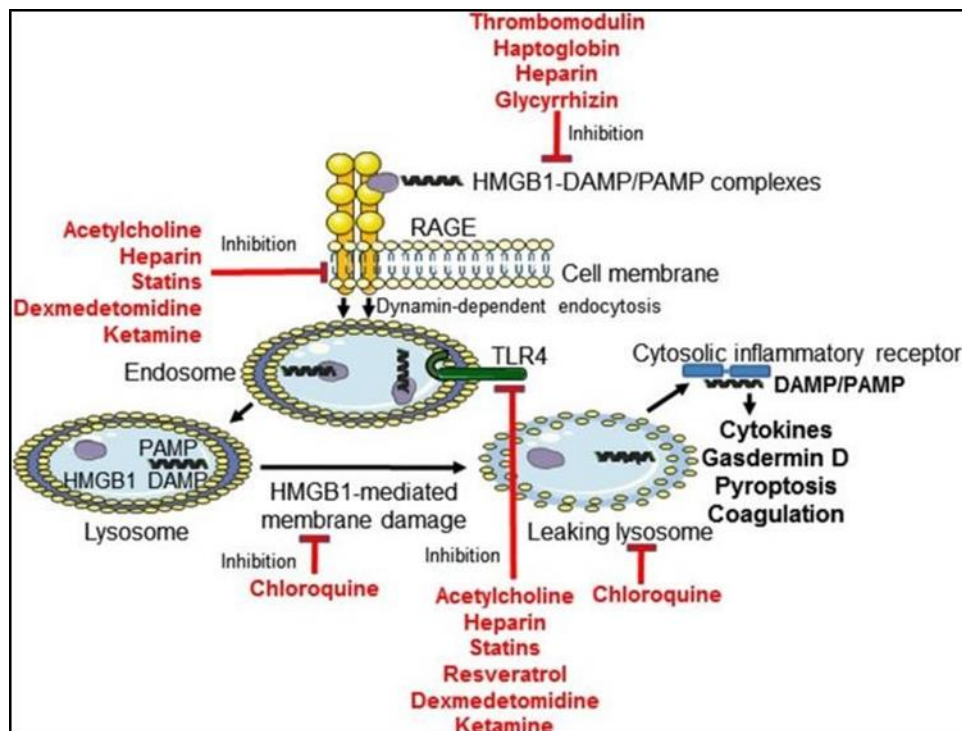
Gambar 2.4 Algoritma penanganan pasien COVID-19





**Gambar 2.5 Rangkuman alur penatalaksanaan pasien COVID-19 berdasarkan beratnya kasus**

## 2.6 Terapi atau Tindakan Lain Covid-19



**Gambar 2.6 Obat yang menghambat inflamasi COVID-19 melalui jalur HMGB1- DAMP/PAMP**



### **2.6.1 AntiIL-1 (Anakinra)**

Infeksi SARS-COV-2 mengakibatkan kondisi ARDS yang menimbulkan reaksi hiperinflamasi. Reaksi tersebut dapat dinetralisir menggunakan anakinra yang merupakan antagois reseptor IL-1 rekombinan. Anakinra teruji mampu menurunkan angka pasien yang membutuhkan pemakaian ventilasi mekanis invasif melalui studi klinis yang melibatkan 52 pasien. Serta Anakinra juga terbukti menurunkan angka kematian pasien COVID-19 tanpa menimbulkan efek samping yang serius. Pemberian dosis obat ini ialah 100 mg/12 jam dalam kurun waktu 72 jam, lalu dilanjutkan dengan 100 mg/24 jam selama 7 hari.

### **2.6.2 Antibiotik**

Pada era pandemik COVID-19 ini, pemakaian antibiotik berlebihan meningkatkan kejadian bakteri multiresisten. Hal ini menimbulkan potensi ancaman global yang baru. Hubungan antara pandemik dengan peningkatan angka bakteri multiresisten belum sepenuhnya dipahami hingga saat ini. Namun, dari hasil telaah beberapa data kasus covid-19 di seluruh dunia, khususnya asia, pasien yang mendapatkan terapi antimikroba sebanyak 70% dari total seluruhnya. Walaupun kenyataannya kurang dari 10% terbukti mengalami ko-infeksi oleh bakteri ataupun jamur.

Alasan penggunaan antibiotik pada COVID-19 mengacu kepada sejarah kejadian superinfeksi bakteri pada infeksi influenza. Pada saat itu 11-35% kasus pasien influenza yang dirawat, teruji mengalami ko-infeksi bakteri sekunder inisial. Pada umumnya kejadian tersebut dikarenakan olehn infeksi dari bakteri *Streptococcus pneumoniae* dan *Staphylococcus aureus* Salah satu faktor predisposisi dari ko-infeksi bakteri maupun jamur ialah infeksi virus di saluran pernapasan. Hal ini berdampak buruk terhadap derajat keparahan kondisi pasien bahkan hingga kematian.

Sampai saat ini angka spesifik dari kasus ko-infeksi bakteri pada COVID-19 belum diketahui. Probabilitas kasus ko-infeksi pneumonia bakteri dan jamur menjadi lebih besar pada pasien yang memakai ventilator. Perekomendasi dalam pemberian antibiotik bervariasi di masing masing negara dan cenderung menjadi opsi terapi yang dipilih Pedoman Tatalaksana COVID-19 dikarenakan mengalami kesulitan untuk membedakan secara dini kausa dari infeksi pernapasan yang dialami, adanya

kemungkinann ko-infeksi yang tidak pasti hingga perolehan hasil konfirmatif yang lambat. Usaha untuk menjaga pemakaian antibiotic di era pandemic COVID-19 ini memperoleh tantangan yang semakin besar dikarenakan keterbatasan serta disabilitas yang timbul terkait dengan infeksi COVID-19 itu sendiri. Berdasarkan data dan fakta yang tersedia, WHO mengusulkan pemberian antibiotik pada kondisi COVID-19 yang berat dan tidak mengusulkan untuk memberikan antibiotik pada kasus covid yang ringan secara rutin. Kemudian untuk usaha agar tetap berpegang pada prinsip Penatagunaan Antimikroba ( Antimicrobias Stewardship) wasib terus dilakukan.

### **2.6.3 Intravenous Immunoglobulin (IVIg)**

Imunoglobulin intravena (IVIg) adalah konsentrat immunoglobulin G yang diisolasi dari plasma donor yang normal. Terapi IVIG menjadi satu alternatif pilihan terapi, terutama pada kasus COVID-19 yang berat. Penelitian untuk IVIG pada COVID-19 belum terlalu banyak, dan sebagian besar adalah laporan kasus tunggal maupun serial, serta studi observasional. Dari berbagai publikasi yang telah ada saat ini, tampaknya terapi dengan IVIg memberikan hasil yang baik, tapi dengan bukti yang masih sangat sedikit dianjurkan penggunaannya terbatas pada kondisi yang berat dan kritis, dan lebih bersifat live saving. Dosis IVIg yang digunakan pada berbagai studi ini sangat beragam, tapi sebagian besar studi ini menggunakan IVIG dosis besar yaitu sekitar 0,3-0,5 gram/kgBB/hari selama 3 atau 5 hari berturut-turut.

### **2.6.4 Anti IL-6 (Tocilizumab)**

Badai sitokin merupakan respon sistem imunitas yang berlebihan yang diakibatkan oleh infeksi maupun penyebab lain yang ditandai dengan lepasnya sitokin yang tidak dapat dikontrol. Fenomena ini menyebabkan inflamasi sistemik dan rusaknya multi-organ. Studi melakukan analisis terhadap manifestasi klinis pasien COVID-19 dengan konsisten membuktikan jumlah limfosit yang turun secara signifikan pada pasien pneumonia. Serta terjadi peningkatan drastis pada sebagian besar sitokin, khususnya IL6. Pada pasien COVID-19, terjadi peningkatan tajam kadar IL-6 yang bertindak dalam menginduksi diferensiasi limfosit B dan produksi antibodi, proliferasi dan diferensiasi limfosit T. Badai sitokin pada COVID-19 mampu menambah permeabilitas vaskuler, cairan dan sel darah dalam alveolus berpindah lalu mengakibatkan ARDS bahkan kematian. Maka dari itu, perlambatan pada kerja IL-6 ialah salah satu terapi

yang sangat berpotensi untuk pasien COVID-19 dengan pneumonia yang berat atau kritis. Tocilizumab yang biasa dipakai pada kasus pasien arthritis rheumatoid telah diuji sebagai antibodi monoclonal yang mampu menghambat IL-6. Menurut hasil dari beberapa studi, disimpulkan sementara bahwa terapi tocilizumab memiliki kemungkinan untuk memberikan hasil baik pada pasien COVID-19 yang berat, walaupun masih memerlukan publikasi dari clinical trial lain yang masih dan telah berlangsung untuk memperkuat kesimpulan yang valid. Namun, penggunaan tocilizumab saat ini masih perlu digunakan dengan selektif dan belum menjadi acuan tetap di setiap kasus COVID-19 yang berat. Obat ini berguna untuk menekan efek dari IL-6 terhadap peradangan paru dan sistemik, namun efek immunosupresan mampu mengakibatkan infeksi sekunder. Maka dari itu, terlambatnya pemberian terapi pada pasien yang telah menggunakan ventilator dalam waktu yang lama mungkin seharusnya dihindari karena risiko VAPnya.

Dampak immunosupresi tocilizumab juga mampu memperlambat persistensi virus, maka waktu pemberian yang dini Ketika virus masih berkembang juga memiliki risiko. Oleh karena itu, penentuan ketepatan waktu penting untuk kesuksesan terapi Tocilizumab. Pemberian Tocilizumab bisa diberikan ketika pasien mulai masuk ke keadaan COVID-19 yang berat, biasanya terjadi  $\geq 1$  minggu setelah sakit, puncaknya jumlah virus, atau bisa dibidang adanya potensi tidak bertambahnya jumlah virus. Dosis pemberian tocilizumab di berbagai studi sangat bervariasi, namun sebagian besar memakai dosis 8 mg/kgBB dosis tunggal atau bisa diberikan 1 kali lagi dosis tambahan jika gejala memburuk atau tanpa perbaikan dengan dosis yang sama. Jarak penggunaan dosis pertama dan kedua minimal 12 jam. Maksimal pemakaian 800 mg per dosis.

### **2.6.5 Mesenchymal Stem Cell (MSCs)/ Sel Punca**

Proses inflamasi yang terjadi pada keadaan ALI/ARDS pada prinsipnya dapat diseimbangkan dengan cara memberikan MSCs, proses ini ditandai oleh eksudat fibromixoid seluler, inflamasi paru yang meluas, edema paru, dan terbentuknya membran hyalin. MSCs dapat bekerja dengan menekan proliferasi sel T menjadi immunoregulasi. Kemudian, sel punca dapat melakukan interaksi dengan sel-sel dendritik sehingga dapat mengakibatkan bergesernya sel Th-2 proinflamasi menjadi Th anti-inflamasi, serta mengubah profil sitokin menjadi anti-inflamasi. Sampai sekarang, tidak ada MSCs yang direkomendasikan oleh FDA Amerika untuk dijadikan obat

COVID-19, dan hanya digunakan untuk kepentingan uji klinis, expanded access programs, serta emergency investigational new drug application.

Pada saat ini, dinyatakan terdapat 62 uji klinis yang terdaftar pada [clinicaltrials.gov](https://clinicaltrials.gov). Salah satu penelitian yang dipublikasikan hasilnya adalah pilot study oleh Leng Z dkk. Penelitian MSCs dilaksanakan di Beijing YouAn Hospital, dimana terdapat 7 pasien yang terkonfirmasi COVID-19 (1 diantaranya pasien dalam kategori kritis, 4 kategori berat, dan 2 gejala umum) diberikan terapi implantasi MSCs sebanyak 1 juta sel/KgBB dengan 1x pemberian saat klinis mengalami pemburukkan kemudian diobservasi selama 14 hari. Didapatkan bahwa sebanyak 7 pasien yang diterapi MSC dinyatakan sembuh dalam waktu 1-2 minggu setelah adanya inisiasi terapi. Kemudian setelah 2 hari inisiasi diperoleh adanya perbaikan klinis, meningkatnya imfosit, membaiknya infiltrat dari CT scan, serta diperoleh hasil PCR negatif pasca 1-2 minggu inisiasi terapi. Terdapat 4 RS di Indonesia yang telah dilakukan uji klinis MSCs yaitu di RSCM, RS Persahabatan, RS UI, dan RS Sulianti Saroso. Di mana uji klinis ini diberikan pada pasien kategori kritis sebanyak 40 pasien. Kelompok MSC lebih baik dalam menyembuhkan dibandingkan dengan kelompok kontrol yaitu 71,4% vs 28,6%, kemudian pada subjek dengan komorbid kurang dari 2. Kemudian dari subjek yang meninggal pada kelompok MSC sebanyak 26 orang, menunjukkan bahwa kelompok MSC memiliki angka kematian 62,5% lebih rendah daripada kelompok kontrol.

#### **2.6.6 Terapi Plasma Konvalesen**

Terapi plasma konvalesen adalah terapi untuk antibodi dengan sifatnya yang pasif, dengan cara pemberian antibodi terhadap penyakit infeksi tertentu yang ditujukan pada individu untuk mengobati atau memberikan pencegahan agar orang tersebut mampu terlindungi terhadap penyakit itu, ini dilakukan dengan pemberian imunitas bersifat cepat. Plasma konvalesen didapatkan dari orang yang sebelumnya telah sembuh dari paparan COVID-19, plasma ini didapat dengan metode plasmaferesis, selanjutnya diberikan pada pasien yang terkonfirmasi COVID-19 dengan kategori berat atau dalam kondisi dapat mengancam jiwa pasien. Terapi plasma konvalesen dapat dikombinasikan dengan terapi standar COVID-19 (terapi anti virus dan berbagai terapi suportif lain), ini ditujukan agar angka kematian dapat ditekan dengan cara pemberian antibodi yang lebih spesifik. Sampai sekarang, terapi plasma konvalesen masih dalam tahap uji klinis dengan prosedur dan standar yang bermacam di berbagai negara.

Terapi plasma konvalesen dalam berbagai uji klinis diberikan untuk pasien COVID-19 kategori berat, namun di beberapa uji klinis di dunia terapi plasma konvalesen telah atau sedang berlangsung pada pasien COVID-19 dengan kondisi sedang atau berisiko menjadi berat. Kemudian terapi plasma konvalesen memiliki kontra indikasi yaitu adanya riwayat alergi terhadap produk plasma, kehamilan, ibu menyusui, defisiensi IgA, menderita trombosis akut dan gagal jantung berat dengan risiko overload cairan. Selain itu juga terdapat kontraindikasi dengan sifat yang relatif, seperti menderita syok septik, gagal ginjal dalam hemodialisis, koagulasi intravaskular diseminata atau kondisi komorbid yang berisiko untuk meningkatkan trombosis pada pasien.

Pemberian dosis plasma konvalesen di berbagai uji klinis memiliki bermacam-macam. Shenzhen Third People's Hospital, China memberikan plasma dari donor dengan titer antibodi paling sedikit 1:640, diberikan satu kali sebanyak 200 ml. Di 7 rumah sakit di China dilakukan juga penelitian terhadap pasien COVID-19 dengan kategori berat atau berpotensi mengancam jiwa pasien yaitu dengan pemberian plasma konvalesen dosis 4 - 13 ml/kgBB yang diperoleh dari donor dengan titer antibodi yang bervariasi dari 1:160 sampai 1: 1280. Pemberian plasma dari donor dengan titer antibodi lebih dari 1:320, ini direkomendasikan oleh The European Commission Directorate-General for Health and Food Safety, namun tetap dicantumkan bahwa kadar yang lebih rendah dapat efektif. Kemudian beberapa rumah sakit yang beroperasi di Paris, Marseille dan Sorbonne Perancis melakukan pemberian 1 unit @ 200-250 ml plasma konvalesen untuk pasien COVID-19 yang berat badannya berkisar 50-80 kg, ini diberikan pada awal atau 0-10 hari sejak onset penyakit. Jika dibutuhkan maka dosis ini diberikan kembali pada 24-48 jam kemudian yaitu dengan pemberian 2 unit plasma konvalesen.

Di RS Cipto Mangunkusumo Jakarta juga sedang berjalan penelitian randomized trial dengan pemberian plasma konvalesen 2 kali sebanyak 200 ml pada hari yang sama, namun pada uji klinis multisenter yang dibawah oleh Kementerian Kesehatan melakukan pemberian plasma konvalesen 2 kali pada hari yang berbeda. Penelitian mengenai terapi plasma konvalesen masih terus berlangsung, namun telaah sistematik (systematic review) pada Cochrane Library mengungkapkan ketidakyakinannya ('very uncertain'), tidak yakin bahwa plasma dari pasien yang telah sembuh adalah terapi yang efektif untuk diberikan pada pasien COVID-19 yang sedang dirawat dan sembuhnya pasien memiliki kaitan dengan proses perjalanan alamiah penyakit, karena terapi lain atau karena plasma konvalesen yang diberikannya. Oleh karena itu hasil dari uji klinis

yang dilakukan di berbagai negara diharapkan mampu menjawab pertanyaan terkait efektivitas, serta dapat memperoleh dosis dan titer antibodi yang lebih optimal, pemberian yang tepat waktu hingga menentukan pasien yang akan diberikan manfaat klinis yang lebih bermakna dari pemberian terapi plasma konvalesen ini. 1 unit plasma konvalesen terdiri dari 200 mL. Plasma konvalesen ini dapat ditambahkan apabila disetujui oleh dokter dan berdasarkan kondisi klinis pasien. Jika pasien memiliki gangguan fungsi jantung maka volume yang diperlukan lebih sedikit dengan waktu transfusi yang lebih lama. Pemberian dosis plasma konvalesen untuk anak dengan berat badan lebih dari 40 kg direkomendasikan oleh IDAI sebanyak 200-500 ml. Sedangkan dari 1:160 hingga 1: 1280. untuk anak dan yang berasal dari donor dengan titer antibodi yang bermacam-macam.

The European Commission Directorate-General for Health and Food Safety memberikan rekomendasi bahwa pemberian plasma dari donor dengan titer antibodi lebih dari 1:320, dengan dicantumkan juga bahwa kadar yang lebih rendah dapat dengan efektif. Kemudian beberapa rumah sakit yang beroperasi di Paris, Marseille dan Sorbonne Perancis memberikan 1 unit @ 200-250 ml plasma konvalesen untuk pasien terkonfirmasi COVID-19 yang berat badan 50-80 kg kemudian diberikan terapi pada saat awal atau 0-10 hari sejak onset penyakit. Apabila diperlukan maka dosis ini dapat diberikan kembali pada saat 24-48 jam kemudian sebanyak 2 unit plasma konvalesen. Di RS Cipto Mangunkusumo Jakarta terdapat penelitian randomized trial yang sedang berlangsung dengan pemberian plasma konvalesen 2 kali sebanyak 200 ml pada saat hari yang sama, sedangkan pada uji klinis multisenter yang dibawah oleh Kementerian Kesehatan melakukan pemberian plasma konvalesen 2 kali pada hari yang berbeda-beda. Penelitian mengenai terapi plasma konvalesen pada COVID-19 terus berlangsung di berbagai negara di dunia. Namun telaah sistematik (systematic review) pada Cochrane Library mengungkapkan ketidakyakinannya ('very uncertain') terhadap plasma dari pasien yang sembuh adalah terapi yang efektif untuk pasien menangani pasien COVID- 19, dan apakah pasien COVID-19 yang sembuh memiliki kaitan dengan proses perjalanan alamiah penyakit, karena terapi lain atau karena plasma konvalesen yang telah dijalankan. Oleh karena itu hasil dari uji klinis yang dilakukan di berbagai negara diharapkan mampu menjawab pertanyaan terkait efektivitas, serta dapat memperoleh dosis dan titer antibodi yang lebih optimal, pemberian yang tepat waktu hingga menentukan pasien yang akan diberikan manfaat klinis yang lebih bermakna dari pemberian terapi plasma konvalesen ini. 1 unit plasma konvalesen terdiri

dari 200 mL. Plasma konvalesen ini dapat ditambahkan apabila disetujui oleh dokter dan berdasarkan kondisi klinis pasien. Jika pasien memiliki gangguan fungsi jantung maka volume yang diperlukan lebih sedikit dengan waktu transfusi yang lebih lama. Berdasarkan rekomendasi yang diberikan oleh IDAI maka pemberian dosis plasma konvalesen untuk anak dengan berat badan lebih dari 40 kg yaitu 200-500 ml dan untuk anak yang beratnya kecil dari 40 kg maka diberikan dosis 10-15 mL/Kg.

### **2.6.7 Bronkoskopi**

Penggunaan bronkoskopi dibatasi untuk dijadikan tindakan di bidang respirasi, serta bronkoskopi belum bisa menjadi rekomendasi pasti untuk menegakkan diagnosis pneumonia viral mengingat COVID-19 ialah penyakit yang sangatlah infeksius. Bronkoskopi juga menciptakan media baru berbentuk aerosol ataupun droplet yang bersifat sangat menular. Oleh karena itu, tindakan ini lebih baik ditunda dahulu untuk mempertimbangkan hal lainnya, khususnya keselamatan dari tenaga kesehatan juga indikasi bronkoskopi diagnostic maupun terapeutik. Kondisi gawat darurat pada pasien atau suspek COVID-19 yang membutuhkan tindakan bronkoskopi terapeutik, seperti : mucuous plug pada pasien atau suspek COVID-19 ialah salah satu indikasi dari tindakan bronkoskopi. Sulitnya intubasi juga membutuhkan panduan bronkoskopi maupun indikasi penting lainnya sebagai pertimbangan DPJP atau tim terapi. Bronkoskopi juga perlu dilakukan di ruang isolasi yang memiliki tekanan negatif dan APD yang lengkap untuk semua tenaga medis.

### **2.6.8 Therapeutic Plasma Exchange (TPE)**

Hingga saat ini pengobatan yang diberikan untuk pasien COVID-19 pada dasarnya adalah supportif terapi, di mana ini mengakibatkan beberapa modalitas terapi yang diduga dapat mengatasi masalah hipersitokemia/ cytokine storm menjadi hal yang harus dipikirkan, salah satunya yaitu therapeutic plasma exchange (TPE)/Plasmapheresis, terapi ini merupakan pengeluaran antibodi, kompleks imun, lipoptotein, macromolecules, juga toksin dan molekul inflamasi yang ada dalam plasma oleh therapeutic plasma exchange (TPE) dengan cara memisahkan plasma dari komponen darah lain. Kemudian TPE tidak dibutuhkan pada infeksi virus karena sifatnya yang self limiting. Namun, hal ini masih diperlukan untuk menangani masalah badai sitokin yang kerap terjadi pada beberapa kasus autoimun, walaupun level of

evidenc-nya lemah. Terapi tambahan diberikan pada kasus virus hepatitis C Double-Filtration Plasmapheresis (DFPP) untuk mengurangi viral load agar tingkat keberhasilan terapi menjadi lebih tinggi, juga pada pasien yang menderita artritis rematoid untuk mengurangi inflamasi pada kondisi yang aktif. DFPP ini dapat melakukan penyaringan terhadap partikel yang lebih besar dari 55-60 nm dan lebih besar dari SARS COV2 berukuran 60-140 nm. Secara pathogenesis, tindakan TPE dapat dipertimbangkan pada sebagai pemberian terapi tambahan pasien Covid 19 dengan tujuan untuk dapat mengurangi sitokin dan mediator inflamasi lainnya, namun hingga sekarang hanya terdapat beberapa laporan kasus saja dan belum ada perluasan penelitian terkait kasus ini. Oleh karena itu, pemberian TPE pada pasien Covid 19 harus dipertimbangkan dengan seksama sebelum diberikan pada pasien COVID-19.

### **2.6.9 Vaksinasi**

Cara yang paling efektif untuk mencegah penyakit karena infeksi salah satunya adalah vaksinasi. Situasi pandemik COVID-19 saat ini, terdapat adanya pengurangan pelaksanaan vaksinasi yang bersifat wajib dikarenakan peningkatan beban sistem kesehatan terhadap COVID serta minat masyarakat untuk menjalankan social distancing yang kurang yang dikhawatirkan mampu menimbulkan outbreak baru dari vaccine preventable disease, misalnya hepatitis A. Maka dari itu, dilaksanakannya vaksinasi wajib diatur sedemikian rupa yang nantinya diterapkan pada kondisi yang aman. Tanpa menimbulkan risiko penularan COVID-19 terhadap tenaga kesehatan dan masyarakat. Pengembangan vaksinasi COVID-19 saat ini tengah berlangsung. Beberapa pre vaksin telah teruji klinis fase 3 dan diedarkan dengan kisaran waktu 3-4 bulan mendatang. WHO menganjurkan pemberian rutin vaksinasi influenza setiap tahun, terutama bagi individu berisiko tinggi semisal lansia, anak-anak, wanita hamil, orang penderita penyakit kronis tertentu serta tenaga kesehatan. Perlindungan secara langsung dari infeksi COVID-19 memang tidak spesifik dilakukan oleh vaksinasi influenza. Tetapi, terdapat berbagai alasan mengapa WHO menganjurkan pemberian vaksin influenza di masa pandemik COVID-19. Pertama, mengontrol penyebaran infeksi influenza pada orang berisiko tinggi yang rentan terjadi infeksi COVID-19 berat. Hal ini dapat menurunkan angka rawat inap serta paparan dari virus SARS CoV-2 selama perawatan.



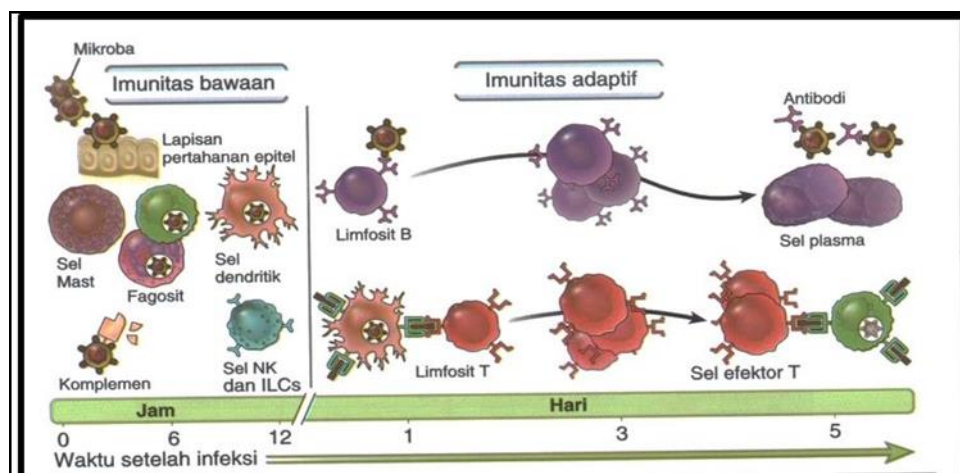
Kedua untuk menurunkan beban sistem pelayanan kesehatan dari setiap pasien yang terinfeksi influenza. Ketiga untuk menurunkan angka tenaga kesehatan yang tidak hadir dalam penanganan COVID-19. Menurut American College of Cardiology (ACC), pemberian vaksinasi influenza dan pneumonia dianjurkan untuk pasien dengan komorbid penyakit kardiovaskuler dan serebrovaskuler. Alasan dianjurkan pemberian vaksin influenza oleh ACC, tidak jauh dari penjelasan WHO yaitu untuk menurunkan angka komplikasi pada pasien dan beban pelayanan kesehatan akibat influenza. Infeksi sekunder yang diakibatkan bakteri dari penderita COVID-19 bisa dicegah dengan vaksinasi pneumonia.

## **2.7 Sistem Imunitas Terhadap Infeksi**

Sistem imun adalah gabungan sel, molekul dan jaringan yang berperan dalam pertahanan infeksi, sedangkan respon imun adalah reaksi terkoordinasi sel-sel dan molekul tersebut dalam pertahanan terhadap infeksi ( Julia dkk, 2020 ). Sistem imunitas terdiri atas sistem imunitas alamiah atau nonspesifik (natural/innate/native) dan didapat atau spesifik (adaptive/acquired) (Kresno dkk, 2013). Respon imun diperantarai oleh berbagai sel dan molekul larut yang disekresi oleh sel-sel tersebut. Reaksi imun melibatkan sel-sel utama seperti sel limfosit (sel B, sel T, dan sel NK), fagosit (neutrofil, eosinofil, monosit, dan makrofag), sel asesori (basofil, sel mast, dan trombosit), sel-sel jaringan dan lain-lain. Bahan larut yang disekresi dapat berupa antibodi, komplemen, mediator radang, dan sitokin. Sel-sel lain dalam jaringan juga dapat berperan serta dengan memberi isyarat pada limfosit atau berespons terhadap sitokin yang dilepaskan oleh limfosit dan makrofag walau bukan merupakan bagian utama dari respon imun (Julia dkk, 2014).

Sistem imun berfungsi dalam mempertahankan kondisi tubuh terhadap benda asing dan patogen di lingkungan hidup sekitar seperti bakteri, virus, fungus dan parasit. Sistem ini merupakan gabungan sel, molekul dan jaringan yang berperan dalam resistensi terhadap infeksi. Pertahanan imun terdiri atas sistem imun alamiah atau non spesifik (natural/innate/native) dan didapat atau spesifik (adaptive/acquired) (Abbas dkk, 2014) Mekanisme pertahanan inang terdiri dari imunitas alami, yang memberikan perlindungan segera terhadap infeksi, dan imunitas adaptif yang berkembang lebih lambat namun memberikan perlindungan yang lebih spesialisik terhadap infeksi. Pada Gambar 0.7 menggambarkan mekanisme prinsip imunitas alami dan adaptif.

Mekanisme imunitas alami memberikan pertahanan awal terhadap infeksi. Sebagian mekanisme (misalnya hambatan epithelial) mencegah infeksi, dan mekanisme lain (misalnya fagosit, Sel Natural killer dan sel limfoid alami lainnya (innate lymphoid Cells (ILCs)), sistem komplemen memberantas mikroba. Respon imun adaptif berkembang kemudian dan di mediasi oleh sel limfosit serta produk mereka. Antibodi memblokir infeksi dan menghilangkan mikroba, dan limfosit T membasmi mikroba seluler. Kinetika respons imun alami dan adaptif hanya perkiraan kasar saja dan dapat bervariasi pada infeksi yang berbeda.



**Gambar 2.7 Mekanisme prinsip imunitas alami dan adaptif**

Imunitas alami (juga disebut natural immunity dan native immunity) selalu ada pada individu-individu sehat, dan disiapkan untuk menghambat masuknya mikroba dan untuk mengeliminasi mikroba yang berhasil memasuki jaringan inang (host) secara cepat. Imunitas adaptif (disebut juga imunitas spesifik atau imunitas daptan) memerlukan ekspansi dan diferensiasi limfosit sebagai respon terhadap mikroba sebelum memberikan pertahanan yang efektif. Imunitas ini beradaptasi terhadap adanya infeksi mikroba (Abbas dkk, 2014). Keseluruhan mekanisme imunitas alami ini secara spesifik mengenali dan bereaksi terhadap mikroba. Selain memberikan pertahanan awal terhadap infeksi, respon imun alami meningkatkan respon imun adaptif terhadap agen-agen infeksius (Abbas dkk, 2014).

Sistem imun adaptif terdiri atas limfosit dan produk-produknya, misalnya antibodi. Respon imun adaptif terutama penting terhadap pertahanan mikroba infeksius yang bersifat patogenik terhadap manusia (yaitu dapat menyebabkan penyakit) dan mampu melawan imunitas alami. Sementara mekanisme imunitas alami mengenali struktur-

struktur yang sama-sama dimiliki oleh berbagai kelas mikroba, sel-sel imunitas adaptif (limfosit), mengekspresikan reseptor yang secara spesifik mengenali berbagai molekul yang diproduksi oleh mikroba serta molekul-molekul non infeksius (Abbas dkk, 2014) Setiap bahan yang secara spesifik dapat dikenali oleh limfosit dan antibody disebut antigen. Respon imun adaptif seringkali menggunakan sel-sel serta molekul dari sistem imun alami untuk mengeliminasi mikroba, dan fungsi imunitas adaptif untuk memperkuat mekanisme antimikroba imunitas alami (Abbas dkk, 2014)

Dua tipe reaksi utama terhadap sistem imun alami adalah inflamasi dan pertahanan anti virus. Inflamasi terdiri dari akumulasi dan aktivasi leukosit dan protein plasma pada lokasi infeksi atau kerusakan jaringan. Sel-sel dan protein tersebut bertindak bersama untuk membunuh terutama mikroba ekstraseluler dan eliminasi jaringan yang rusak. Pertahanan imun alami terhadap virus intraseluler diperantarai oleh sel Natural Killers (NK) yang membunuh sel yang terinfeksi virus dan oleh sitokin yang disebut interferon tipe 1 yang menghambat replikasi virus di dalam sel inang (Abbas dkk, 2014)

Sistem imun alami memberi respon yang sama terhadap pertemuan kembali dengan sebuah mikroba, sedangkan sistem imun adaptif merespons lebih efisien pada tiap pertemuan kembali dengan suatu mikroba. Dengan kata lain sistem imun alami tidak mengingat pertemuan pertama dengan mikroba dan akan kembali ke dasar setelah setiap pertemuan, sehingga memori merupakan gambaran utama pada sistem imun adaptif (Abbas dkk, 2014). Respon imun adaptif berkembang dalam tahapan-tahapan, yang masing-masing sesuai dengan reaksi tertentu limfosit (Abbas dkk, 2014) Imunitas humoral diperantarai oleh protein yang dinamakan antibody, yang diproduksi oleh sel-sel yang disebut limfosit B. Antibodi masuk ke dalam sirkulasi dan cairan mukosa, lalu menetralkan dan mengeliminasi mikroba serta toksin mikroba yang berada diluar sel-sel inang, dalam darah, cairan ekstraseluler yang berasal dari plasma dan di dalam lumen dari organ-organ mukosa, seperti traktus gastrointestinalis dan traktus respiratorius (Abbas dkk, 2014)

Salah satu fungsi terpenting antibody adalah menghentikan mikroba yang berada pada permukaan mukosa dan dalam darah agar tidak mendapatkan akses menuju sel-sel inang dan tidak membentuk koloni di dalam sel serta jaringan ikat inang. Melalui cara ini, antibody mencegah infeksi berkembang. Antibodi tidak dapat mencapai mikroba yang hidup dan membelah di dalam sel yang terinfeksi (Abbas dkk, 2014) Salah satu fungsi terpenting antibody adalah menghentikan mikroba yang berada pada permukaan mukosa dan dalam darah agar tidak mendapatkan akses menuju sel-sel inang dan tidak

membentuk koloni di dalam sel serta jaringan ikat inang. Melalui cara ini, antibody mencegah infeksi berkembang. Antibodi tidak dapat mencapai mikroba yang hidup dan membelah di dalam sel yang terinfeksi (Abbas dkk, 2014)

Pertahanan humoral terdiri dari komplemen, protein fase akut, mediator asal fosfolipid, sitokin IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$ . Komplemen terdiri atas sejumlah besar protein yang bila diaktifkan akan memberikan proteksi terhadap infeksi dan berperan dalam respons inflamasi. Komplemen berperan sebagai opsonin yang meningkatkan fagositosis, sebagai faktor kemotaktik dan juga menimbulkan destruksi/lisis bakteri dan parasite (Abbas et al., 2014). Protein fase akut terdiri dari CRP, lektin, dan protein fase akut lain  $\alpha$ 1-antitripsin, amyloid serum A, haptoglobin, C9, faktor B dan fibrinogen. Mediator asal fosfolipid diperlukan untuk produksi prostaglandin dan leukotrien. Keduanya meningkatkan respons inflamasi melalui peningkatan permeabilitas vaskular dan vasodilatasi (Abbas et al., 2014). Sistem imun nonspesifik menggunakan berbagai molekul larut. Faktor larut lainnya diproduksi ditempat yang lebih jauh dan dikerahkan ke jaringan sasaran melalui sirkulasi seperti komplemen, protein fase akut, mediator asal fosfolipid dan sitokin seperti IL-1, IL-6, dan TNF- $\alpha$  (Kresno, 2013).

Pemeran utama dalam sistem imun spesifik humoral adalah limfosit B atau sel B. Sel B yang dirangsang oleh benda asing akan berproliferasi, berdiferensiasi, dan berkembang menjadi sel plasma yang memproduksi antibody. Fungsi utama antibody ialah pertahanan terhadap infeksi ekstraseluler, virus, dan bakteri serta menetralkan toksinnya (Harmayani dkk, 2015)

Pertahanan terhadap mikroba intraseluler tersebut dinamakan imunitas seluler karena prosesnya diperantarai oleh sel-sel yang disebut sel limfosit T. Beberapa limfosit T mengaktifasi fagosit untuk menghancurkan mikroba yang telah dimakan oleh sel fagosit ke dalam fagosit intraseluler. Limfosit T lainnya membunuh berbagai jenis sel inang yang terinfeksi mikroba infeksius di dalam sitoplasmanya. Dalam kedua kasus tersebut, sel T mengenali antigen yang ditampilkan pada permukaan sel, yang menunjukkan adanya mikroba di dalam sel tersebut (Harmayani dkk, 2015) Imunitas seluler, terutama diperantarai oleh sel T. Tidak seperti sel B, yang memproduksi antibody larut yang disirkulasi untuk mengikat antigen spesifik, setiap sel T, mengekspresikan beberapa reseptor antigen yang identik, yang dinamakan T cell receptors (TCR), bersirkulasi langsung di sisi aktif antigen dan membentuk fungsinya, apabila berinteraksi dengan antigen (Harmayani dkk, 2015).

Ada bermacam-macam subpopulasi sel T, yang setiap subpopulasi mempunyai spesifisitas yang sama untuk suatu determinan antigenik (epitop), meskipun fungsinya berbeda. Hal ini analog dengan klas imunoglobulin yang berbeda, yang mempunyai spesifisitas yang identik tetapi fungsi biologiknya berbeda. Fungsi yang ada berasal dari bermacam-macam subset sel T, yaitu : (Harmayani dkk, 2015)

1. Bekerja sama dengan sel B, meningkatkan produksi antibodi. Sel T yang demikian disebut sel T helper (TH) dan fungsi yang disebabkan oleh sitokin yang dilepas menyediakan bermacam-macam signal aktivasi untuk sel B.
2. Efek inflamatori. Ketika aktivasi, subpopulasi sel T tertentu melepas sitokin, yang menginduksi migrasi dan aktivasi monosit dan makrofag, yang menyebabkan reaksi inflamatori delayed-type hypersensitivity, dan subset sel T tersebut adalah sel TDTH.
3. Efek sitotoksik. Sel T pada subset ini menjadi sel kiler sitotoksik yang jika kontak dengan sel target akan menyebabkan kematian sel target. Sel ini disebut sel T cytotoxic (Tc).
4. Efek regulator. Sel T helper dapat dibagi kedalam subset yang fungsinya berbeda yang ditetapkan dengan sitokin yang mereka lepas, yaitu TH Dan Tn2. Keduanya dapat saling meregulasi dengan efek negatif.
5. Signal via sitokin. Sel T dan sel lainnya yang terlibat dalam system imun (misal makrofag) mempengaruhi efek pada bermacam-macam sel limfoid dan non limfoid, melalui sitokin yang berbeda yang mereka lepas. Jadi, secara langsung atau tidak langsung sel T berkomunikasi dan berkolaborasi dengan berbagai tipe sel.

Selama bertahun-tahun, para peneliti dibidang imunologi telah mengetahui bahwa sel diaktifkan antigen, menunjukkan bermacam-macam fenomena efektor. Hanya pada abad terakhir ini mereka memperhatikan adanya kompleksitas kejadian yang ada dengan adanya aktivasi oleh antigen dan komunikasi dengan sel yang lain (Harmayani et al., 2015). Sekarang sudah diketahui bahwa hanya kontak antara reseptor sel T dengan antigen saja tidak cukup untuk mengaktifkan sel tersebut. Dalam kenyataannya, paling tidak dua signal harus dikirim ke antigen spesifik sel T untuk terjadinya aktivasi: Signal 1 melibatkan pengikatan TCR ke antigen, yang harus dipresentasikan oleh sel APC yang sesuai. Signal 2 melibatkan molekul kostimulatori yang diekspresikan pada sel T dan sel APC. Jika mekanisme ini telah tercapai, maka akan terjadi serangkaian kejadian yang kompleks dan sel yang diaktifkan mensintesis dan melepas sitokin. Sebaliknya, sitokin- sitokin ini kontak dengan reseptor yang sesuai pada sel yang

berbeda dan menunjukkan efeknya pada sel-sel tersebut (Julia dkk, 2014). Terdapat beberapa perbedaan penting antara sel B dan sel T. Sebagian besar sel T hanya mengenali antigen protein saja, sedangkan sel B dan antibody mampu mengenali berbagai jenis molekul, yaitu protein, karbohidrat, asam nukleat dan lemak (Julia et al., 2014). Imunitas pada seseorang dapat diinduksi oleh infeksi atau vaksinasi (imunitas aktif) atau diberikan pada seseorang melalui transfer antibody atau limfosit dari seseorang yang terimunisasi aktif (imunitas pasif) (Abbas dkk, 2014; Lichtman AH dkk, 2014)

Fagosit, sel NK, sel mast, dan eosinofil berperan dalam sistem imun non spesifik seluler. Sel-sel imun tersebut dapat ditemukan dalam sirkulasi atau jaringan. Contoh sel yang dapat ditemukan dalam sirkulasi adalah neutrofil, eosinofil, basofil, monosit, sel T, sel B, sel NK, sel darah merah, dan trombosit. Contoh sel-sel dalam jaringan adalah eosinofil, sel mast, makrofag, sel T, sel plasma, dan sel NK (Julia dkk, 2014). Fagositosis adalah garis pertahanan kedua tubuh terhadap agen infeksius. Pertahanan ini terdiri dari proses penelanan dan pencernaan mikroorganisme serta toksin setelah berhasil menembus tubuh. Limfosit T atau sel T berperan pada sistem imun spesifik seluler. Sel T terdiri atas beberapa subset sel dengan fungsi yang berlainan yaitu sel CD4+ (Th1, Th2), CD8+ atau CTL atau Tc dan Ts atau sel Tr atau Th3 (Julia dkk, 2014).

Fungsi utama sistem imun spesifik seluler ialah pertahanan terhadap bakteri yang hidup intraseluler, virus, jamur, parasit, dan keganasan. Sel CD4+ mengaktifkan sel Th1 yang selanjutnya mengaktifkan makrofag untuk menghancurkan mikroba. Sel CD8+ memusnahkan sel terinfeksi. Th1 memproduksi IL-2 dan IFN- $\gamma$ . Th2 memproduksi IL-4 dan IL-5. Treg yang dibentuk dari timosit di timus mengekspresikan dan melepas TGF- $\beta$  dan IL-10 yang diduga merupakan petanda supresif. IL-10 menekan fungsi APC dan aktivasi makrofag sedang TGF- $\beta$  menekan proliferasi sel T dan aktivasi makrofag. (Julia dkk, 2014)

### **2.7.1 Pengenalan Mikroba oleh Imunitas Alami**

Pada pathogen telah ada penanda dalam bentuk molekul yang akan dikenal oleh pertahanan manusia (sistem imunitas innate) sehingga kedatangan musuh ini dapat diantisipasi manusia dan makhluk Tuhan lainnya. Karakteristik molekul penanda pada pathogen yaitu : Pathogen-Associated Molecular Patterns (PAMPs), Damaged-

Associated Molecular Patterns (DAMPs) dan Pattern Recognition Receptors (PRRs) (Ayu & Dharmayanti, 2015)

Pathogen-Associated Molecular Patterns (PAMPs) merupakan penanda yang hanya ada pada mikroba yang membahayakan manusia, tidak ada pada sel manusia (mamalia). PAMPs ini berbeda-beda tergantung jenis pathogen (virus, bakteri gram negative, bakteri gram positif, dan jamur), tetapi satu jenis PAMPs dapat ditemukan pada jenis pathogen yang berbeda. Penanda ini hanya ada pada mikroba pathogen sehingga menjadi pembeda yang membuat imunitas alami hanya berespon terhadap mikroba pathogen dan tidak terhadap sel sendiri (Ayu & Dharmayanti, 2015). Penanda-penanda itu adalah molekul-molekul yang sangat vital untuk kehidupan pathogen bersangkutan sehingga sepanjang zaman tidak bisa berubah (mutasi) misalnya double-stranded RNA pada virus, lipopolisakarida (LPS) pada bakteri gram negatif, lipoteichoic acid pada bakteri gram positif. Kecepatan evolusi pada mikroba lebih cepat dari manusia sehingga mutasi lebih gampang terjadi pada mikroba. Akan tetapi telah diciptakan PAMPs yang tidak dapat bermutasi sejak imunitas innate berkembang, PAMPs tidak berubah sampai sekarang (Ayu & Dharmayanti, 2015).

*Damaged-Associated Molecular Patterns* (DAMPs) imun innate dapat mengenali molekul endogenous yang diproduksi atau dilepas oleh sel yang rusak atau mati. Kematian atau kerusakan sel dapat terjadi akibat infeksi atau sebab lain seperti racun kimia, trauma, terbakar, atau iskemia/hipoksia (steril injury). Ada dua perangkat pada imunitas innate untuk mengenal PAMPs atau DAMPs (Abbas dkk, 2014). Berbagai macam tipe reseptor seluler yang dapat mengikat PAMPs dan DAMPs berada pada berbagai sel yang berperan dalam imunitas innate seperti fagosit (makrofag, neutrophil, dan sel dendritic) dan sel epitel yang membatasi tubuh dengan dunia luar. Patogen yang berbeda dapat memiliki PAMPs yang sama sehingga spesifisitas imunitas innate tidak spesifik terhadap antigen pathogen tertentu seperti imunitas adaptif, tetapi spesifik PAMPs. Oleh karena itu mikroba yang berbeda tetapi memiliki PAMPs yang sama dapat dikenal oleh reseptor yang sama (Abbas dkk, 2014).

*Soluble Recognition Molecules* (SRMs), berbagai protein dalam darah dan cairan ekstraseluler yang dapat mengenal PAMPs. Protein-protein ini berperan memfasilitasi pembersihan mikroba dari darah atau cairan ekstraseluler dengan cara meningkatkan penangkapan mikroba oleh sel-sel imunitas innate dan mengaktifkan pembunuhan kuman ekstraseluler (Abbas dkk, 2014). Pentaksin (protein pentamerik) terdiri atas sejumlah protein plasma yang juga mampu mengenal struktur tertentu pada mikroba dan

berpartisipasi dalam imunitas innate. Yang termasuk dalam golongan pentarsin adalah C-reactive protein (CRP), Serum amyloid P (SAP) dan PTX3. CRP sangat meningkat jumlahnya dalam darah pada inflamasi akut sehingga disebut acute-phase reactant. CRP diproduksi oleh hati atas stimulasi sitokin IL-1 dan IL-6 yang disintesis oleh fagosit aktif dalam respon imunitas innate (Abbas dkk, 2014).

### **2.7.2 Stimulasi Respon Imunitas Alami Melawan Mikroba**

Jika mikroba hinggap dikulit maka ia akan terlempar oleh aliran udara dan keringat dipermukaan kulit, atau dibunuh oleh peptide antimikroba (misal  $\beta$  defensin) yang ada pada kulit. Jika mikroba ingin masuk melalui saluran napas maka mikroba akan dihalangi oleh bulu hidung. Kalau berhasil masuk lebih dalam, akan bertemu musin yang akan membungkusnya, kemudian dikirim keluar melalui “escalator” silia epitel saluran napas, atau bertemu dengan antibakteri  $\beta$ -defensin dan cathelicidins yang akan membunuhnya. Kalau berhasil masuk lebih dalam lagi sampai alveolus, sudah menunggu makrofag alveolar yang akan menelannya. Demikian adalah contoh simulasi “pergulatan” mikroba sebagai penyerang dengan sistem pertahanan imunitas alami manusia (Julia dkk, 2014).

Kerusakan fisik epitel (misalnya luka) akan mempermudah mikroba masuk melewatinya, sesampainya di jaringan di bawah epitel (subepitelial) telah ditunggu oleh sel dendritic dermal, makrofag dan sel mast yang berjaga. Mikroba dikenal kedatangannya karena memiliki penanda PAMPs yang segera akan berikatan dengan reseptor (misalnya TLR) dari ketiga jenis penjaga subepitelial. Pada saat reseptor-reseptor itu menangkap ligannya (PAMPs) maka muncullah sinyal aktivasi yang akan mengaktifkan ketiga sel imunitas innate ini. Ketiga jenis sel tersebut kemudian melepas sejumlah sitokin proinflamasi seperti IL-1 (oleh sel dendritic dan makrofag), TNF $\alpha$  (oleh sel dendritic dan makrofag) dan histamine (oleh sel mast), untuk memicu respon inflamasi di jaringan subepitelial yang didatangi mikroba itu (Ayu & Dharmayanti, 2015).

Sitokin TNF $\alpha$  dan IL-1 yang dilepas oleh makrofag bersama dengan histamine dan TNF $\alpha$  dari sel mast menuju ke endotel pembuluh darah untuk memicu peran endotel menghentikan neutrophil yang lewat. Endotel berespon dengan mengeluarkan molekul adhesi ke permukaannya (selektin dan ligan integrin) untuk menahan neutrophil. Selanjutnya neutrophil difasilitasi oleh endotel melalui peningkatan permeabilitas



kapiler untuk keluar dari aliran darah menuju ke jaringan yang ada mikroba (Ayu & Dharmayanti, 2015).

## **2.8 High Mobility Box Group 1 (HMGB1)**

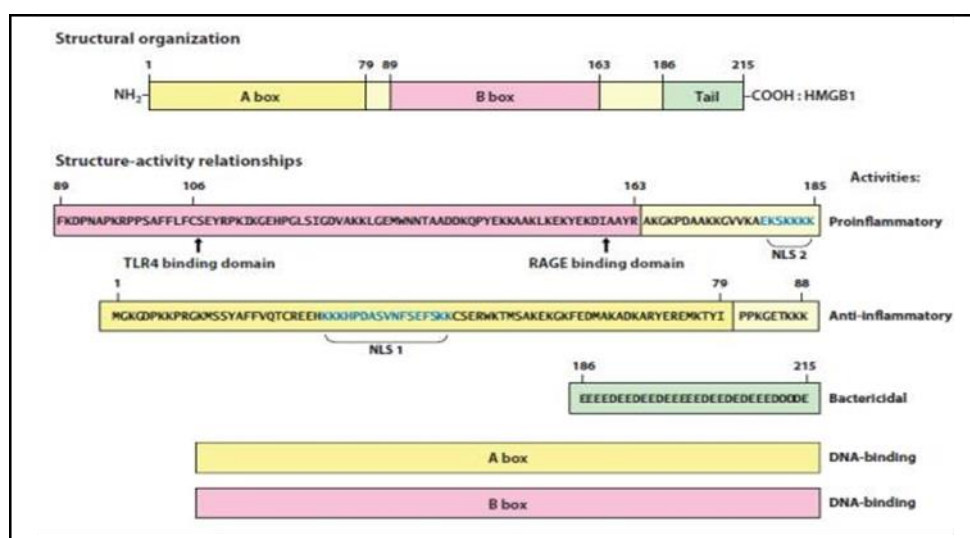
High Motility Group Box1 (HMGB1) adalah protein yang diekspresikan secara konstitutif di hampir semua jenis sel. Sebagai tanggapan terhadap infeksi mikroba, HMGB1 disekresikan dari sel kekebalan yang diaktivasi untuk mengatur peradangan. HMGB1 sebagai protein nuklir pengikat DNA mempunyai fungsi utama menjadi kofaktor nukleus dalam regulasi transkripsi. Sebagai kofaktor nukleus, HMGB1 diketahui memiliki peran sebagai molekul pengantar pesan intraseluler, dilepaskan dari sel tertentu ke ekstraseluler untuk berefek pada reseptor sel tertentu. Peran lain dari HMGB1 adalah sitokin proinflamasi yang berkontribusi penting dalam banyak kasus inflamasi steril, infeksi termasuk sepsis. Ikatan HMGB1 dengan reseptor permukaan sel imun, akan mengaktifkan respon intraseluler untuk mengatur fungsi imunitas sel termasuk kemotaksis dan modulasi sistem imun (Yang H dkk,2012).

Keluarga HMGB terdiri dari HMGB 1, 2, dan 3 dimana HMGB1 adalah anggota pertama. HMGB4 sudah diidentifikasi sebagai anggota baru dari keluarga HMGB, namun identik dengan HMGB3 sehingga dinamai sebagai HMGB3. Struktur semua protein keluarga HMGB sangat identik (> 80 % mirip). Ekspresi HMGB1 terdapat dimana-mana, di hampir semua jenis sel mamalia yang diperiksa. Ekspresi HMGB2 terbatas pada jaringan limfoid dan testis di hewan dewasa, sedangkan HMGB3 ekspresinya terbatas pada embrio dan sel punca hematopoetik. HMGB1 adalah protein inti non histon yang paling berlimpah diantara ketiga jenis protein HMGB, dan pada beberapa tingkatan tertentu terdapat juga di sitoplasma, seakan-akan terangkut kembali dan keluar dari inti (Zetterstrom CK dkk, 2006).

HMGB1 adalah suatu protein yang terdiri dari 215 asam amino dan memiliki berat molekul 25 kDa. Protein ini secara evolusioner menggunakan protein pengikat DNA 30 kDa, kemudian diekspresikan di hampir semua jenis sel. HMGB1 terbagi menjadi tiga bagian, dua bagian ikatan DNA bermuatan positif dengan struktur heliks yang disebut kotak A dan B, serta satu bagian ekor bersifat asam bermuatan negatif yang terlipat diatas protein. Ekor ini dibentuk oleh 30 asam glutamat dan aspartat, dan sekitar 20 % sisanya adalah lisin. Ada dua sinyal pembawa nukleus dibagian proksimal kotak A dan kotak B dan dapat berikatan dengan nukleus exportin CRM1. Pada pemotongan

kotak A dan B HMGB1, diperlihatkan bahwa aktivitas sitokin ekstraseluler terdapat di kotak B, aktivitas ini dapat dihambat oleh protein kotak A. Rangkaian primer HMGB1 sangat identik pada semua mamalia, lebih dari 98,5% mirip antara manusia dan tikus. HMGB1 memiliki 3 sistein, 2 berada diposisi 23 dan 45 kotak A dan 1 di posisi 106 kotak B. Posisi sistein 106 di kotak B perannya sangat diperlukan sitokin, oksidasi atau mutasi selektif residu ini akan menghapus aktivitas sinyal HMGB1 untuk melepas sitokin. HMGB1 juga mengandung dua NLS (nuclear localization signal), satu terletak di protein kotak A aa 28-44 dan yang lain terletak di kotak B aa 179-1850 (Anderson U dkk, 2011; Li LC dkk, 2014).

HMGB1 menunjang struktur kromatin di nucleus melalui ikatan DNA dengan rangkaian yang nonspesifik dan terlibat dalam regulasi transkripsi gen. HMGB1 secara intraseluler terlibat dalam autofagi dan pada dsRNA dependent protein kinase (PKR)/ aktivasi inflamasi. Protein terekspreasi pada permukaan sel di membran trombosit yang teraktivasi saat awal neuron, terlibat dalam pertumbuhan neurit selama perkembangan dan regenerasi sel saraf. HMGB1 ekstraseluler telah menjadi pusat perhatian terkait perannya yang terlibat dalam berbagai respon imun, berperan sebagai alaram sinyal prototipik karena HMGB1 memiliki fungsi spesifik. Penelitian fungsi struktural HMGB1, mengungkapkan bahwa aktivitas sitokin mengekspresikan aktivitas sitokin, sedangkan anti sitokin sendiri berperan sebagai antagonis HMGB1 spesifik, tetapi mekanismenya masih tetap belum dimengerti. HMGB1 mengandung 3 residu sistein pada posisi 23, 45 dikotak A dan posisi 106 di kotak B, sensitif pada modifikasi reaksi redoks. Penemuan terbaru menunjukkan bahwa redoks dan modifikasi asetil secara langsung mengontrol sitokin dan aktifitas kemotaksis HMGB1 (Gambar 0.8) (Anderson U dkk, 2011).



### **Gambar 2.8 Struktur kimia High Mobility Group Box 1 (HMGB1),**

(Dikutip dari : Anderson U, Tracey KJ. HMGB1 is Therapeutic Target for Sterile Inflammation and Infection. *Annu Rev Immunol.* 2011; 29: 139-62)

Empat residu lisin berada di nuclear localization signal (NLS1), dan lima lainnya berada di NLS2. HMGB1 sangat rentan pada modifikasi asetilasi, menghasilkan nukleus dan pelepasan HMGB1. Urutan (NLS), HMGB1 diangkut ke dalam inti oleh kompleks impor nuklir, yang kemudian mempertahankannya di protein preformed. Ini membawa dua pengulangan internal domain bermuatan positif ("HMG box 1 "yang dikenal sebagai" HMGB 1 "dan" HMGB 2 ") di ujung N dan yang memiliki rantai kontinu bermuatan negatif (aspartik dan asam glutamat) residu di C-terminus. Kotak HHG ini memungkinkan HMGB1 untuk mengikat DNA kromosom dan memenuhi fungsi nuklir dalam menstabilkan struktur nukleosom dan mengatur ekspresi gen (Martinotti & Ranzato, 2015).

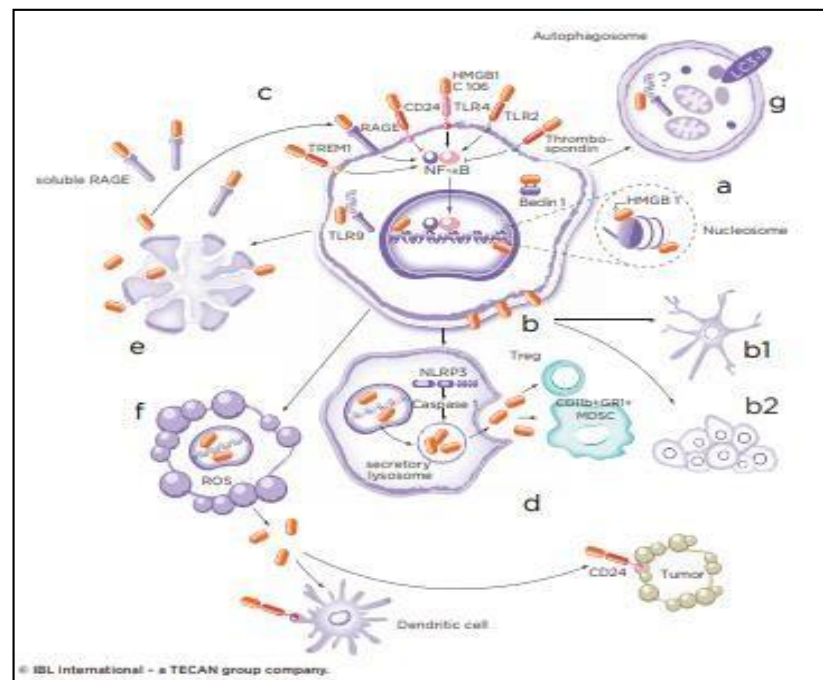
Menguji ekspresi lokal HMGB1 membuat hewan rentan terhadap infeksi. Memperkuat peran menguntungkan intraselular HMGB1 dalam kekebalan terhadap infeksi dan luka. Sebagai tanggapan atas infeksi dan cedera, bagaimanapun, HMGB1 disekresikan dari sel kekebalan yang diaktifkan atau dilepaskan secara pasif dari sel yang terluka. Sekresi / pelepasan HMGB1 yang berlebihan memberikan kontribusi negatif terhadap patogenesis infeksi dan penyakit radang yang menimbulkan derita Contohnya, pada model hewan endotoksin atau sepsis (diinduksi oleh ligasi cecak dan tusukan, CLP), HMGB1-menetralkan antibodi meningkatkan kelangsungan hidup dan penyelamatan tikus dari sepsis mematikan bahkan jika diberikan pada 24 jam setelah CLP (Martinotti dkk, 2015).

#### **2.8.1 Aktivitas Sitokin HMGB1**

HMGB1 adalah mediator sitokin patogenesis penyakit inflamasi. Sebagai bagian dari respon imun yang aktif, HMGB1 dapat disekresikan secara aktif dari berbagai jenis sel-sel termasuk makrofag, sejumlah sel-sel natural killer (NK), sel dendrit (DCs), sel-sel endotelial, dan trombosit. HMGB1 dapat dilepaskan secara pasif dari sel-sel nekrotik, trauma, dan cedera secara signifikan ke ekstraseluler. Meskipun sel apoptosis dapat melepaskan jumlah HMGB1 lebih sedikit dibanding sel nekrotik, makrofag yang diselubungi sel apoptosis dapat menginduksi pelepasan HMGB1 secara

aktif. Piroptosis, sel nekrotik yang kematiannya diprogramkan dan di induksi oleh kaspase-1, telah di demonstrasikan sebagai alur penting untuk pelepasan HMGB1 secara aktif yang dikontrol oleh dsRNA-dependent protein kinase (PKR) dan inflamosom. Aktivasi Inflamosom pengatur kaspase-1, memediasi piroptosis dan melepaskan IL- $\beta$ , EL-18, dan HMGB1 (Gambar 0.9)(Magna M dkk, 2014).

**Gambar 2.9 Fungsi HMGB1 intra seluler dan ekstra seluler**

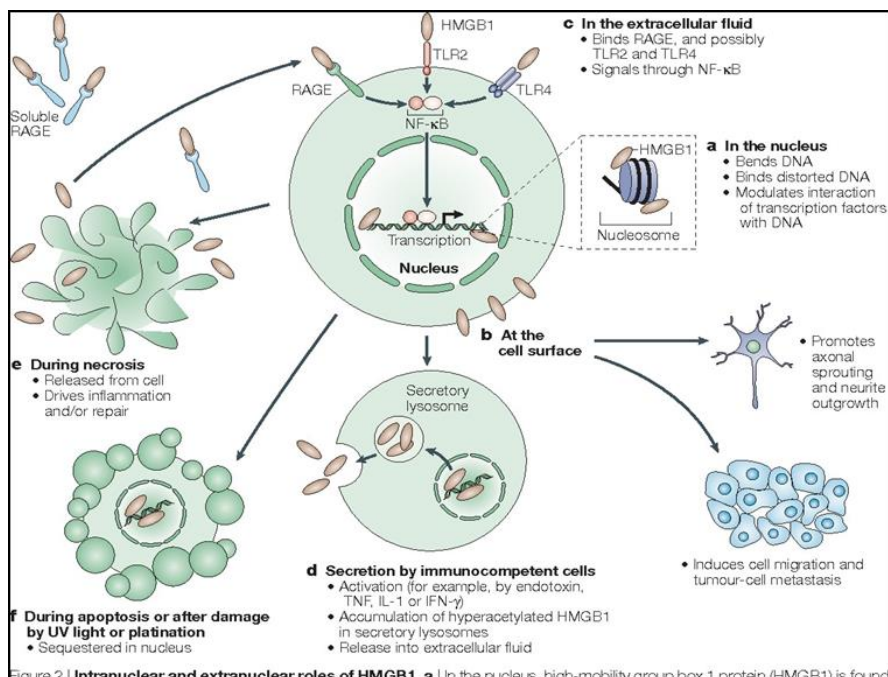


Keterangan Gambar 2.9:

- a. Dalam nucleus
  - HMGB1 terlibat dalam stabilitas pergeseran nukleosom
  - HMGB1 bertanggung jawab atas kepadatan nukleosom dan kromatinisasi genom
  - Translokasi HMGB1 dari nukleus memungkinkan pelepasan nukleosom
  - HMGB1 mengikat DNA dengan struktur spesifik
  - HMGB1 dapat membengkokkan dan mengubah konformasi DNA dengan melepas, mengulang atau memadatkannya
  - HMGB1 memainkan peran penting dalam rekombinasi V(D)J
  - HMGB1 memodulasi interaksi faktor transkripsi dengan DNA
  - HMGB1 berpartisipasi dalam replikasi DNA
  - HMGB1 terlibat dalam perbaikan, inisiasi, dan eksisi ketidakcocokan DNA
- b. Pada permukaan sel

- b1. HMGB1 mempromosikan hasil neurit
- b2. HMGB1 menginduksi diferensiasi dan pematangan sel
- c. Dalam cairan ekstra seluler
  - HMGB1 mengikat reseptor regulator positif RAGE, TLR2 dan TLR4
  - HMGB1 mengikat reseptor regulasi negatif CD24 dan trombospondin
  - HMGB1 membentuk kompleks inflamasi tinggi dengan ssDNA, hemoglobin, LPS, IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , lipid dan nukleosom
- d. Sekresi oleh sel imunokompeten
  - HMGB1 terakumulasi dalam bentuk hiperasilasi dalam lisosom sekretori
  - HMGB1 secara aktif dilepaskan ke dalam cairan ekstraseluler
  - Disekresikan HMGB1 mengaktifkan dan merekrut MDSC dan Treg
- e. Selama nekrosis atau trauma steril
  - HMGB1 dilepaskan dari sel
  - HMGB1 mendorong peradangan dan/atau perbaikan
- f. Selama apoptosis
  - Selama apoptosis HMGB1 diasingkan dalam inti atau
  - HMGB1 dilepaskan setelah ROS
- g. Selama autofagi dan mitofagia
  - HMGB1 membengkokkan Beclin-1 oleh C23 dan C45
  - HMGB1 mengatur ekspresi HSBP1 dan kualitas mitokondria

Berbagai macam mekanisme pelepasan (nekrosis, pyroptosis, aktivasi makrofag, dan apoptosis) dapat menyebabkan pelepasan HMGB1 bentuk redoks berbeda. Sel nekrosis dan piroptosis melepaskan bentuk thiol semua atau tereduksi sepenuhnya, bentuk ini dapat mengikat kemokin CXCL12 dan memberi isyarat melalui reseptor CXCR4 untuk merangsang kemotaksis. Kombinasi piroptosis dengan stimulasi ligan TLR4, menyebabkan pelepasan HMGB1 tereduksi dan HMGB1 ikatan disulfida C23 dan 14 C45 dan C106 dalam bentuk thiol. Bentuk HMGB1 ini merangsang produksi sitokin melalui sinyal TLR4. Aktivasi makrofag juga melepaskan sitokin HMGB1 bersamaan dengan aktivasi TLR4. Sel apoptosis melepaskan HMGB1 teroksidasi penuh, dengan sistein bentuk sulfonat, tidak dapat menstimulasi sitokin atau memicu kemotaksis; ekspresi sel-sel apoptosis bentuk HMGB1 teroksidasi dapat memicu toleransi (Gambar 0.10) (Magma M dkk, 2014).



### Gambar 2.10 Ekstraselular HMGB1 sebagai sitokin proinflamasi / kemokin

Pemberian HMGB1 pada hewan normal akan menghasilkan respon inflamasi sistemik, termasuk demam, penurunan berat badan, anoreksia, cedera paru-paru akut, disfungsi sawar epitel, artritis, dan kematian. Terapi HMGB1 antagonis atas dasar antibodi, HMGB1 antagonis spesifik lainnya, atau obat-obat farmakologi, telah terbukti dalam skala besar sukses dan berhasil dalam mengobati model penyakit inflamasi preklinik, mengurangi berat penyakit dan mengurangi efek kematian.

HMGB1 adalah mediator penting penyebab kematian pada radang steril dan infeksi. Respon inflamasi bisa juga disebabkan oleh kekacauan luka steril atau infeksi. Selama infeksi, imunitas bawaan diaktivasi oleh produk molekular asing seperti pathogen associated molecular patterns (PAMPs), lipopolysaccharide (LPS), double-stranded (dsRNA) dan CpG-DNA. Selama trauma steril atau iskemia, sel yang sama teraktivasi oleh pemaparan damage associated molecular patterns (DAMPs) endogenus, yang termasuk molekul protein yang dipanaskan asam urat, aneksin, dan IL- $1\alpha$ . DAMPs dan PAMPs menginduksi kaskade yang sama pada infalamsi, kerusakan jaringan, kegagalan berbagai organ. HMGB1 dilepaskan oleh aktivasi sel imun dan luka atau sel nekrotik, berperan penting pada respon host pada kedua tipe ancaman dengan demikian menjadi mediator kritis di akhir rangkaian morbiditas dan mortalitas selama infeksi dan luka steril (Yang H dkk, 2013; Magna M dkk, 2014).

HMGB1 adalah penjaga universal untuk mediasi asam nukleat pada respon imun bawaan HMGB1 dan anggota keluarga dari HMGB 2, dan 3 menjadi sensor universal bagi asam amino sitosolik. Tian dkk, 2007; Ivanov dkk, 2007 secara simultan menemukan kesimpulan yang sama bahwa HMGB1 terlibat dalam kompleks yang mengandung DNA dalam merespon imun melalui TLR4. Yanai H dkk, 2009 mengkonfirmasi bahwa HMGB1 berikatan dengan semua asam nukleat imunogenik yang diperiksa dan memediasi respon imun melalui stimulasi transkripsi tipe 1 IFN, IL-6, dan RANTES dari sel-sel imun atau fibroblas embrio tikus. Tentu saja, kekurangan ekspresi HMGB1 banyak mengurangi respon imun saat di stimulasi dengan DNA/RNA mirip virus yang dibandingkan oleh kontrol WT. Penghentian ketiga protein HMGB ini akan menghambat respon pada stimulasi asam nukleat viral dibandingkan dengan penghentian salah satu HMGB1, menunjukkan bahwa protein HMGB1 berbagi fungsional yang sama. Protein HMGB1 berperan penting dalam pengaturan sentinel universal dalam aktivasi asam nukleat merespon kekebalan bawaan tetapi masih dengan mekanisme yang belum terpecahkan. Reseptor memediasi aktivitas keluarga HMGB1 dari seluler, HMGB1 sekali terlepas ke lingkungan ekstraselular HMGB1 akan berikatan dengan reseptor sel permukaan untuk menimbulkan respon inflamasi.

Reseptor yang memediasi signal HMGB1 yaitu Reseptor for Advanced Glycation End Product (RAGE), TLR2, TLR4, dan TLR9, antigen makrofag-1, syndecan-3, CD24-Siglec10, CSCR4, dan sel T Ig mucin-3 (5, 24, 25, 32, 41, 43, 45, 46); TLR4 adalah reseptor primer yang dibutuhkan untuk promosi aktivasi makrofag, pelepasan sitokin, dan kerusakan jaringan. Terpisah dari interaksi reseptor secara langsung, HMGB1 mungkin membentuk heterokompleks dengan molekul lain, seperti IL-1, CCL12, DNA, RNA, histon, atau LPS, yang menghasilkan respon sinergistik dibandingkan semua produk hasil komponen individual. Sinyal kompleks ini dari reseptor resiprok untuk molekul pasangan HMGB1 sebagai modus aksi (1, 25, 32), HMGB1 berperan pada formasi heterokompleksnya sendiri, menginisiasi respon kekebalan bawaan, termasuk aktivitas kemotaksis dan pelepasan sitokin proinflamasi, menyebabkan demam, disfungsi sawar epitel, dan inflamasi kronis dan akut (Anderson U dkk, 2011; Yang H dkk, 2013).

### 2.8.2 Peran MD-2 pada HMGB1-TLR4

Aktivitas TLR4 dan interaksinya dengan ligan bergantung pada kolaborasi molekular dengan protein adaptor ekstraselular myeloid differentiation protein 2 (MD-2). Penelitian Biacore dkk, 2009 dengan menggunakan biosensor resonansi plasmon permukaan, memperlihatkan bahwa HMGB1 seperti halnya LPS, mengikat MD2 dengan afinitas tinggi (Kd nyata-8 nM), tidak hanya berikatan dengan TLR4 sendiri. Penginduksi HMGB1 non sitokin, dihasilkan dengan pembentukan mercury thiolat C106, oleh substitusi sistein, atau oleh modifikasi redoks, tidak mengijinkan interaksi pengikatan HMGB1 dengan MD2, produksi TNF, atau translokasi NF-kB nuklear di makrofag. Hasilnya mendemonstrasikan bahwa HMGB1 seperti LPS, perlu berikatan dengan komponen MD-2 dari kompleks TLR4/MD-2 untuk menginduksi sitokin, sehingga tingkat redoks sistein HMGB1 yang mengontrol interaksi ikatan ini (Harris HE dkk, 2011).

Percobaan yang dilakukan untuk menghentikan MD2 dengan transfeksi RNA spesifik yang menargetkan MD-2 sebagai sel mirip makrofag RAW 264,7 atau sel monositik manusia THP-1. Pengurangan pelepasan TNP secara signifikan dan aktivasi NF-kB dengan stimulasi HMGB 1 diobservasi dengan membandingkan dengan sel transfeksi dengan kontrol siRNA, mendukung bahwa MD2 membutuhkan, untuk mode ini, sinyal HMGB1 dalam makrofag/ monosit. Eksperimen peningkatan fungsi mengkonfirmasi bahwa MD-2 cukup untuk mengembalikan induksi HMGB 1 melepas IL-8 ginjal embrionik manusia 293 sel mengekspresi TLR4 berlebihan. Hasil ini mengungkapkan bahwa MD2 penting untuk respon induksi TLR4 oleh HMGB1 selain itu, semua sistein dalam HMGB1 penting untuk interaksi penempatan MD2.

### 2.8.3 Pengaturan Sekresi HMGB1

Makrofag / monosit disekresikan HMGB1 ke lingkungan ekstraselular dengan cara yang tertunda sebagai tanggapan atas produk mikroba (misalnya, ds-RNA, CpG-DNA, dan endotoksin). HMGB1 tidak bisa secara aktif disekresikan melalui retikulum endoplasma klasik- Jalur exocytotic Golgi karena tidak memiliki urutan peptida pemimpin. Sebagai gantinya, ini pertama kali dikirim vesikel sitoplasma ("translokasi nukleus-ke-sitoplasma") dan kemudian disekresikan ke lingkungan ekstraselular (Oral et al., 2015).



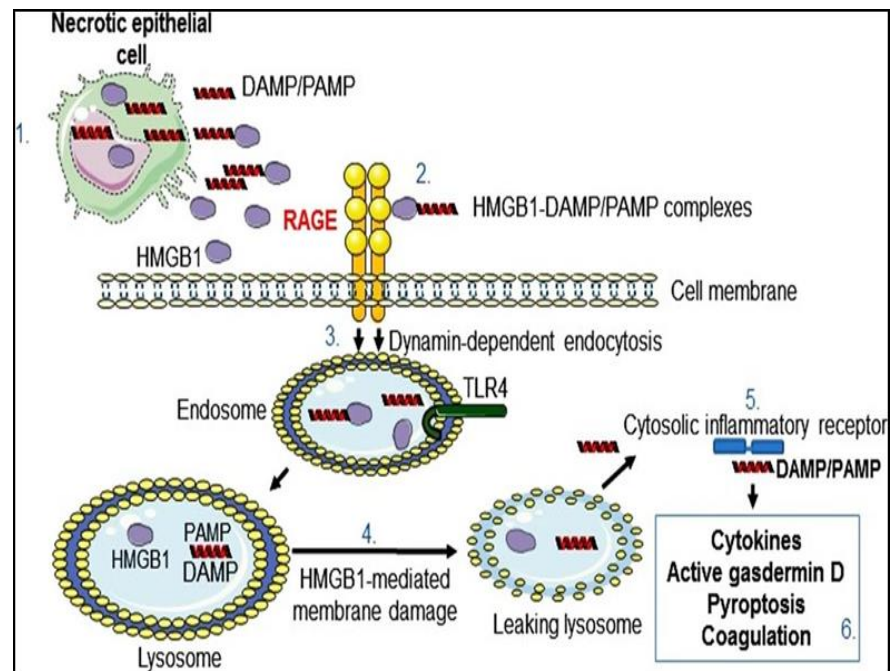
Transkripsi nukleus-ke-sitoplasma diatur oleh posttranslasiional modifikasi (mis., asetilasi atau fosforilasi) dari NLS. Misalnya bakteri endotoksin atau sitokin proinflamasi (mis., IFN) dapat aktifkan jalur sinyal JAK / STAT1 dan asetil residu lisin di dalam situs NLS, yang menyebabkan penyerapan dari HMGB1 menjadi vesikel sitoplasma. Selanjutnya, sitoplasma HMGB1 disekresikan ke dalam ruang ekstraselular sebagian melalui piroptosis yang dimediasi-1-dimediasi, sebuah sel proinflamasi yang diprogram mati dimana makrofag teraktivasi dengan cepat melepaskan sejumlah besar seluler isi (termasuk HMGB1 dan sitokin seperti IL-1 $\beta$ ) secara ekstraselular. Memang, penghambatan farmakologis (dengan penghambat caspase spektrum luas Z-VAD-FMK) atau genetic gangguan caspase 1 secara merata mengurangi sekresi HMGB1 (Oral dkk, 2015).

Secara khusus, procaspase-1 membentuk heteromer Kompleks protein dengan protein adaptor (disebut apoptosisassociated protein), Reseptor seperti NOD (NLR, misalnya NLRP1, NLRP3, dan NLRC4), oramember dari PYHIN family. Hasilnya proteincomplex, disebut "inflammasome", bertanggung jawab untuk membelah procaspase-1 untuk menghasilkan caspase-1, yang memicu inflammasome aktivasi serta pyroptosis. Inflammasom aktivasi menempati peran penting dalam pengaturan Sekresi HMGB1, karena terganggunya gangguan genetic komponen inflammasome (misalnya, caspase 1 atau Nalp3) sepenuhnya blok sekresi LPS / ATP-inducedHMGB1. Baru saja, protein kinase RNA berikatan rangkap ganda (PKR) telah ditetapkan sebagai pengatur utama inflammasome aktivasi dan sekresi HMGB1 (Oral dkk, 2015).

Secara konsisten, genetik terganggunya ekspresi PKR atau penghambatan farmakologis dari fosforilasi PKR (dengan 2-aminopurine (2-AP) atau 7- desasetoksi-6, 7-dehydrogedunin (7DG)) sangat mengurangi aktivasi inflamasi, pyroptosis, dan sekresi HMGB1. Jadi, LPS atau IFN-induced Sekresi HMGB1 dikendalikan tidak hanya oleh JAK / Terkontaminasi asetilasi dan translokasi sitoplasma nuklir, tetapi juga melalui aktivasi inflamasiom yang dimediasi oleh PKR dan pyroptosis. Peran Ekstraselular HMGB1 sebagai Alarmin Begitu dilepas, HMRA1 ekstraseluler berfungsi sebagai alarmin Sinyal untuk waspada, merekrut, dan mengaktifkan sel kekebalan tubuh. Untuk Misalnya, HMGB1 mengikat berbagai produk mikroba (mis., CpG-DNA atau LPS), sehingga memudahkan pengakuan mereka masing reseptor untuk meningkatkan respon inflamasi (Wu dkk, 2015).

Menempatkan tiga residu sistein (C23, C45, dan C106) itu bersifat redoks-sensitif (Gambar 0.11), HMGB1 dapat dimodifikasi menjadi tiga isoform disebut

"HMGB1" (bentuk all-thiol), "disulfida HMGB1" (sebagian teroksidasi), dan HMGB1 teroksidasi. HMGB1 "all-thiol" berikatan dengan kemokin lainnya (mis., CXCL12) dan merangsang perekrutan leukosit melalui Reseptor CXCR4. The "disulfida" HMGB1 dapat mengaktifkan sel kekebalan tubuh untuk menghasilkan sitokin / kemokin melalui TLR4 atau reseptor lainnya seperti RAGE, TLR2, TLR4, TLR9, kelompok diferensiasi 24 (CD24) / Siglec-10, Mac-1, trombomodulin, atau satu transmembran tunggal protein domain (Wu dkk, 2015).



**Gambar 2.11 Fungsi HMGB1 dan infeksi COVID-19**

Sekali Teroksidasi penuh, HMGB1 tidak memiliki kemokin atau aktivitas sitokin. Dengan demikian, HMGB1 Bisa berfungsi baik sebagai kemokin untuk merangsang leukosit migrasi atau sebagai sitokin untuk aCTivatemacrophages dan sel endotel menghasilkan lebih banyak sitokin, kemokin, dan molekul adhesi (Wu dkk, 2015).

## 2.9 Toll-Like Reseptor 4 (TLR4)

Toll-like reseptors (TLRs) adalah protein yang memegang peranan penting dalam sistem kekebalan tubuh bawaan. Protein ini bersifat tunggal, reseptor non-katalitik biasanya terdapat dalam sel sentinel seperti makrofag dan sel dendritik, yang dapat mengenali molekul struktural yang berasal dari mikroba. TLRs adalah pola reseptor pengenal dalam mengawali respon kekebalan tubuh bawaan terhadap berbagai

produk yang dihasilkan oleh mikroba patogen, pathogen associated molecular patterns (PAMPS) dan molekul molekul endogen yang dilepaskan oleh sel-sel yang mengalami cedera atau mati, damaged associated molecular patterns (DAMPS). TLRs adalah glikoprotein membran tipe I yang berfungsi sebagai pola pengenalan reseptor. Reseptor-reseptor ini menyusun secara lengkap komponen sistem kekebalan bawaan. TLRs banyak mengandung leusin yang kaya sistein di ekstraseluler, pada bagian ekor sitoplasma terdapat toll interleukin-1 receptor (TIR) yang penting untuk sinyal dan berikatan dengan ligand. TIR yang sama juga ditemukan pada sitoplasma reseptor sitokin IL-1 dan IL-8 (Abbas KA dkk, 2016).

TLRs mamalia terdiri dari 13 jenis sedangkan TLRs manusia terdiri dari 9 jenis. TLRs meliputi TLR1, TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR6, TLR7, TLR8, TLR9, TLR10, TLR11, TLR12, dan TLR13, dimana dua terakhir tidak ditemukan pada manusia. TLRs dapat diklasifikasikan menjadi TLRs ekstraseluler dan intraseluler. TLRs ekstraseluler ditemukan di permukaan seluler dan membran plasma terdiri dari TLRs 1, 2, 4, 5, dan 6. TLRs intraseluler ditemukan di retikulum endoplasma dan endosome terdiri dari TLRs 3, 7, 8, dan 9 (Lester SN dkk, 2014) . TLRs ekstraseluler mampu mengenal berbagai komponen molekul yang dihasilkan mikroba yang berasal dari lingkungan seluler, sedangkan TLRs intraseluler fungsi utamanya adalah untuk mendeteksi asam nukleat yang dihasilkan oleh virus meskipun juga dapat mengenal mikroba lainnya (Tian J dkk, 2007; Blasius AL dkk, 2013).

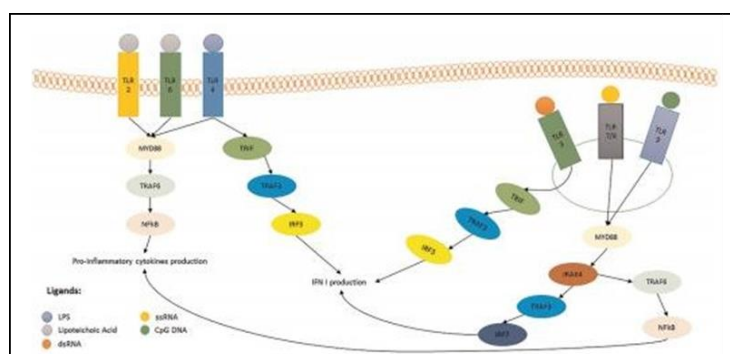
TLRs mamalia terlibat dalam merespon berbagai macam molekul yang dihasilkan oleh mikroba patogen tapi bukan oleh sel-sel mamalia sehat. Ligan yang berbeda-beda tersebut dikenal oleh berbagai macam struktur TLRs dan termasuk semua jenis produk-produk yang dilepas oleh mikroorganisme, produk ini disebut pathogen-associated molecular patterns (PAMPs). Contoh produk bakteri ligan pengikat TLRs adalah lipopolysaccharide (LPS) untuk bakteri negatif gram, asam lipoikoid untuk bakteri positif gram dan flagelin suatu komponen protein flagella dari bakteri motila. Contoh asam nukleat yang merupakan ligan TLRs adalah RNA rantai ganda yang membentuk genom beberapa virus yang dihasilkan selama siklus kehidupan, namun bukan yang diproduksi sel-sel eukariotik. RNA rantai tunggal dibedakan dari transkrip RNA rantai tunggal sitoplasma seluler karena berlokasi di endosom dan banyak mengandung guanosisin, uridin, dinukleotida cytosine-guanine-rich oligonucleotide (CpG) tidak bermielin.

TLRs mamalia juga terlibat dalam merespon berbagai endogen yang menggambarkan kerusakan sel, molekul-molekul endogen ini disebut damage associated molecular patters (DAMPs). Contoh molekul inang yang melibatkan molekul TLRs adalah heat shock protein (HSP) suatu pendorong untuk menanggapi berbagai stres dan HMGB1 suatu pengikat protein DNA berlimpah yang terlibat dalam transkripsi dan perbaikan DNA. HSP dan HMGB1 umumnya terdapat di intraseluler tetapi bila sel mengalami trauma atau rusak akan dilepas ke ekstraseluler, dari lokasi ekstraseluler mereka akan mengaktifkan sinyal TLR2 dan TLR4 sel-sel makrofag, dendrit, dan sel-sel imunologis lainnya (Couture LA dkk, 2012; Abbas KA dkk, 2016).

Apabila mikroba melewati barrier fisik seperti kulit atau mukosa saluran pencernaan, maka mikroba tersebut akan dikenali oleh TLR sehingga respon sel imun diaktifkan. Kemampuan sistem kekebalan untuk mengenali molekul patogen secara luas diantaranya disebabkan TLRs yang diekspresikan pada sel imun yang berbeda, seperti sel dendritik, makrofag, natural killer cell (NK cell), sel imunitas adaptif yaitu limfosit T dan limfosit B, dan sel-sel non imun seperti sel epitel, endotel dan fibroblas (Angelopoulo A dkk, 2020). TLR3 mengenali double strand RNA (ds RNA), TLR4 mengenali lipopolysaccharides (LPS), TLR7 dan TLR8 mengenali single strand RNA (ssRNA), dan TLR9 mengenali DNA CpG yang tidak termetilasi (Lester SN DKK, 2014).

*Myeloid differentiation primary respon 88* (MyD88) dan TIR-domain-containing adaptier-inducer interferon  $\beta$  (TRIF) (dikenal sebagai TICAM1) adalah dua jalur utama tranduksi dari sinyal TLR. Protein tumor necrosis faCTOR receptor-associated faCTOR (TRAF) dan IRAK dalam jalur sinyal menyebabkan aktivasi nuclear faCTOR-kB (NF - kB) dan interferon regulatory faCTOR (IRF), yang mengarah pada produksi interferon type1 (IFN I) dan sitokin pro inflamasi seperti IL-1, IL-6, tumor necrosis faCTOR-  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ), dan IL-12. TLR secara tidak langsung juga berperan dalam sistem kekebalan adaptif dengan memantau ekspresi costimulatory molecul (**Gambar 2.12**).

**Gambar 2.12 Jalur sinyal Tool like resep**



### **Gambar 0.12 Jalur sinyal Tool like reseptors (TLRs)**

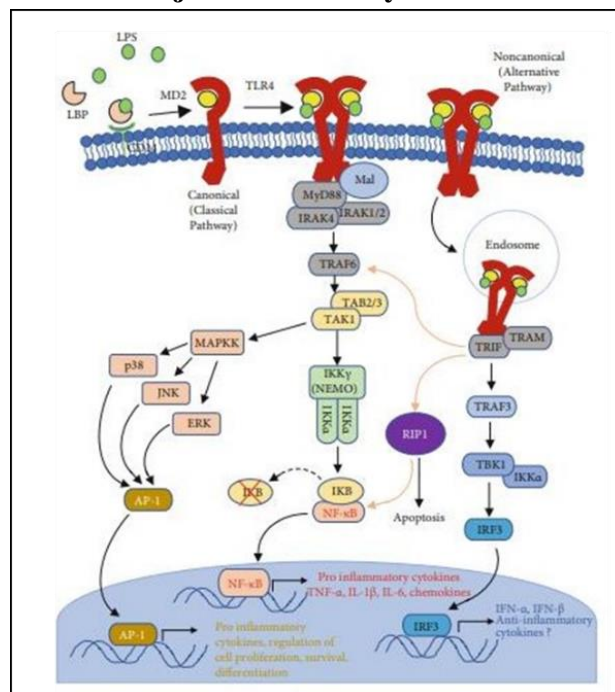
Pada Gambar 2.12 tampak TLR2, TLR 6 dan TLR4 berada membran sel, sedangkan TLR3, TLR7, TLR8 dan TLR9 berada dipermukaan endosom. Aktivasi dua protein hilir adaptif utama, MYD88 dan TRIF menyebabkan produksi sitokin pro-inflamasi dan IFN I. Aktivasi TRIF menginduksi aktivasi TRAF3, yang mengaktifkan IRF3 untuk produksi IFN I. MYD88 menginduksi aktivasi TRAF6 melalui jalur TLR2 / 6 dan TLR4. MYD88 melalui jalur TLR7/8 dan jalur 9, untuk mengaktifkan IRAK4 dan secara tidak langsung juga mengaktifkan TRAF6 dan TRAF3. Aktivasi sinyal NFkB melalui TRAF6 meningkatkan produksi sitokin pro-inflamasi, sedangkan aktivasi IRF7 menyebabkan produksi IFN I.

Pengikatan ligan baik dalam bentuk adjuvant yang digunakan dalam vaksinasi atau dalam bentuk gugus invasif selama masa infeksi alami dengan TLR melalui proses pengenalan molekul patogen yang pada akhirnya menyebabkan respon imun bawaan dan pembentukan imunitas melalui antigen spesifik. Setelah aktivasi, TLRs mengikat protein adaptor (protein yang memediasi interaksi protein-protein lainnya) dalam sitosol dari sel kekebalan untuk propagasi antigen-induced transduksi sinyal jalur. Protein direkrut kemudian bertanggung jawab untuk aktivasi berikutnya protein hilir lainnya, termasuk protein kinase (Ikki, IRAK1, IRAK4, dan TBK1) yang lebih lanjut memperkuat sinyal dan akhirnya mengarah pada peningkatan regulasi atau penekanan gen yang mengatur respon inflamasi dan transkripsi lainnya peristiwa. Beberapa peristiwa ini menyebabkan sitokin produksi, proliferasi, dan kelangsungan hidup, sementara yang lain menyebabkan kekebalan adaptif yang lebih besar. [6] Jika ligan adalah faktor bakteri, patogen mungkin phagocytosed dan dicerna, dan antigen yang disajikan kepada sel CD4 + T. Dalam kasus faktor virus, sel yang terinfeksi dapat mematikan sintesis protein dan dapat menjalani program kematian sel (apoptosis). Sel imun yang telah mendeteksi virus juga dapat melepaskan faktor anti-virus seperti interferon.

TLR adalah famili reseptor sistem imun bawaan, yang berperan penting dalam aktivasi imunitas bawaan, regulasi ekspresi sitokin, aktivasi tidak langsung sistem imun adaptif dan pengenalan pathogen-associated molecular patterns (PAMPs) (Birra D dkk, 2020; Debnath M dkk, 2020; Hedayat M dkk, 2011). TLR4 dapat diaktifkan oleh LPS, PAMP virus, atau DAMPs. LPS di transfer dari LBP ke ko-reseptor CD14. Hasil

pengikatan MD2 dan TLR4 menghasilkan transkripsi dari sitokin pro-inflamasi dan regulasi dari proliferasi, pertahanan hidup, dan differensiasi sel. Pada fibroblast, jalur ini menginduksi differensiasi miofibroblast dan menghasilkan CTGF dan produksi kolagen. Jalur alternative dalam mengekspresikan sitokin anti-inflamasi, interferon alfa dan beta diatur oleh interferon- 3(IF-3). Aktivasi “cross-talk” diantara dua jalur ditunjukkan dengan panah coklat. Adaptor dan protein kaskade biasanya homodimer seperti reseptor TLR4.

**Gambar 2.13** Gambaran umum jalur utama sinyal TLR4



Banyak virus mengaktifkan sistem kekebalan bawaan dengan TLR, yang berkontribusi untuk mengeliminasi virus, namun virus juga dapat membahayakan inang karena inflamasi yang persisten dan kerusakan jaringan. Misal, tingkat keparahan COVID-19 dikaitkan dengan produksi IL-6 pasien dimana dapat diproduksi dengan induksi jalur TLR. Aktivasi TLR oleh SARS-CoV-2 menyebabkan aktivasi inflamasi dan produksi IL-1 $\beta$ , yang menginduksi IL-6. Aktivasi berlebihan dari inflamasi berhubungan dengan hasil yang buruk pasien COVID-19 (De Rivero VJC dkk, 2020). Sebagai tambahan, aktivasi Janus kinase transducers (JAK/STAT) yang diinduksi oleh TLR, dapat menyebabkan macrophage activation syndrom. Oleh karena itu TLR memiliki peran ganda dalam infeksi virus (Lester N dkk, 2014; Carty M dkk, 2010; Mojtabavi H dkk, 2020). TLR juga berkontribusi untuk aktivasi sistem imun adaptif melalui peningkatan regulasi major histocompatibility pada sel dendritic (Florindo HF dkk, 2020).

TLR juga telah terbukti menjadi penghubung penting antara imunitas bawaan dan adaptif melalui kehadiran TLR di sel dendritik (Gambar 0.13). Flagellin, sebuah ligan dari TLR-5 menginduksi sekresi sitokin dan berinteraksi dengan TLR-5 pada sel T manusia. Dalam beberapa tahun terakhir TLR diidentifikasi juga dalam system saraf mamalia. TLR terdeteksi pada glia, neuron dan sel-sel saraf progenitor. TLR berperan penting dalam mengenali partikel virus dan mengaktivasi sistem imun bawaan. Sistem imun bawaan melindungi tubuh terhadap pathogen. Aktivasi jalur TLR akan menyebabkan sekresi sitokin pro inflamasi, seperti interleukin-1 (IL-1), IL-6 dan Tumor necrosis factor- $\alpha$ , seperti interferon tipe 1. TLR yang berbeda seperti TLR2, TLR3, TLR4, TLR6, TLR7, TLR8, dan TLR9 berpotensi penting dalam infeksi COVID-19. TLR memiliki manfaat dan efek berbahaya dalam infeksi COVID-19. TLR bisa menjadi target potensial dalam pengendalian infeksi pada tahap awal penyakit dan produk vaksin untuk SARS-CoV-2.

TLR4 sebagai target terapi potensial dan pintu masuk alternatif pada infeksi SARS-CoV-2. TLR4 terutama bertanggung jawab untuk imunitas bakteri gram negatif, melalui pengenalan fisiologis dari lipopolisakarida. Saat ini telah diketahui bahwa telah terjadi pengikatan dan aktivasi dari TLR4 oleh protein fusi virus dan glikoprotein, termasuk virus yang menargetkan sistem pernapasan (Marr N dkk, 2012; Kurt JEA dkk, 2000). TLR4 yang tidak terkontrol memediasi peradangan diduga berkontribusi pada imunopatologi pasien COVID-19. Sel mononuklear darah tepi yang diambil dari pasien yang terinfeksi SARS-CoV-2 telah terjadi peningkatan ekspresi TLR4. Selain itu, peningkatan tingkat sirkulasi TLR4 DAMP pada pasien COVID-19 dapat menyebabkan peradangan secara terus menerus dan menimbulkan badai sitokin. Hal ini didukung oleh laporan pasien dengan COVID-19 yang menunjukkan peningkatan kadar sitokin dan kemokin, yang telah terbukti dilepaskan oleh aktivasi TLR4 dalam patologi paru. Dalam studi silico menyelidiki efikasi bahwa TLR-mengikat protein S, telah menunjukkan permukaan sel dengan adanya keterlibatan protein TLR-S. Pengenalan protein S oleh TLR4 juga dapat memulai internalisasi reseptor-dependen, memperhitungkan pada pasien dengan infeksi SARS-CoV-2 yang kekurangan ekspresi ACE2. Selanjutnya, karena kemampuan TLR4 untuk menginternalisasi patogen, ini bisa mewakili titik masuk virus baru yang dieksploitasi oleh SARSCoV-2 yang tidak bergantung pada ekspresi ACE2. Dengan demikian, penghambatan TLR4 harus diselidiki sebagai terapi potensial pada infeksi COVID-19.

Respon jalur MyD88-dependent pada dimerisasi reseptor TLR, dan dimanfaatkan oleh setiap TLR kecuali TLR3. Efek utamanya adalah aktivasi NFkB dan mitogen-activated protein kinase (MAPK). Pengikatan ligan dan perubahan terjadi pada TLR merekrut protein adaptor MyD88. Kemudian MyD88 merekrut IRAK4, IRAK1 dan IRAK2. IRAK kinase kemudian memfosforilasi dan mengaktifkan protein TRAF6 sehingga memungkinkan NFkB berdifusi ke dalam inti sel dan mengaktifkan transkripsi dan induksi akibat sitokin inflamasi.

Kedua TLR3 dan TLR4 memanfaatkan jalur Trif-dependent, dimana masing-masing dipicu oleh dsRNA dan LPS. Untuk TLR3, dsRNA menyebabkan aktivasi reseptor, merekrut Trif adapter. Trif mengaktifkan kinase TBK1 dan RIPK1, yang menciptakan cabang di jalur sinyal. Kompleks sinyal Trif/TBK1 memfosforilasi IRF3 memungkinkan translokasi ke dalam nukleus dan produksi interferon tipe I. Sementara itu, aktivasi RIPK1 menyebabkan terjadinya proses polyubiquitinasi dan aktivasi TAK1 dan NFkB transkripsi dengan cara yang sama sebagai jalur MyD88-dependent.

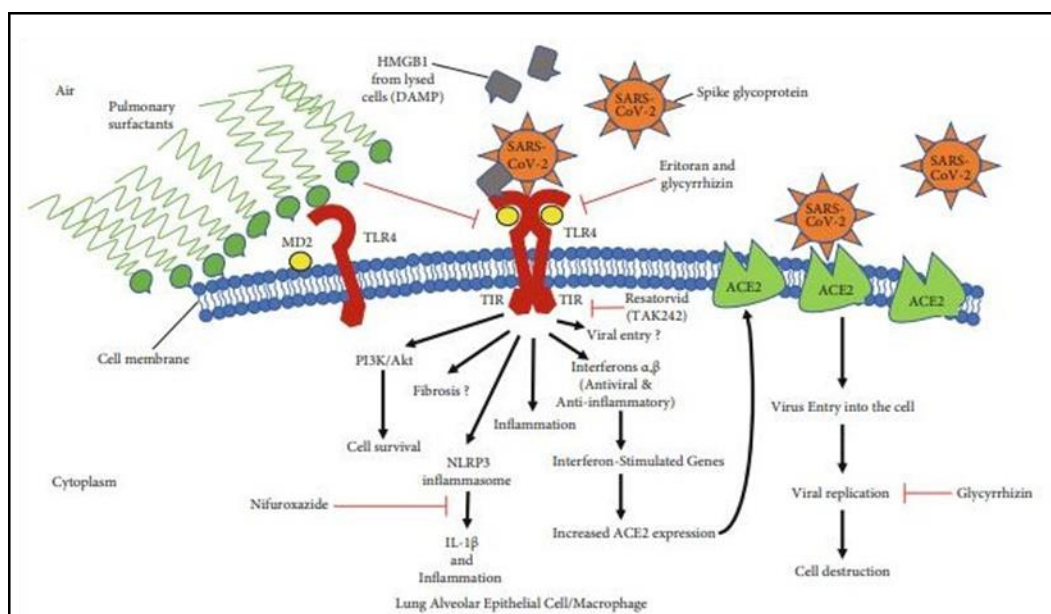
TLR4 adalah satu-satunya TLR yang menggunakan keempat adapter. Kompleks yang terdiri dari TLR4, MD2 dan LPS merekrut TIR yang mengandung adapter TIRAP dan MyD88 dan dengan demikian memulai aktivasi NFkB (fase awal) dan MAPK. TLR4-MD2-LPS kompleks kemudian mengalami endositosis dan di endosome membentuk kompleks sinyal dengan TRAM dan Trif adapter. Jalur Trif-dependent ini lagi menyebabkan aktivasi IRF3 dan produksi interferon tipe I, tetapi juga menyebabkan aktivasi NFkB fase akhir. Kedua fase awal dan akhir dari aktivasi NFkB diperlukan untuk produksi sitokin inflamasi.

### **2.9.1 TLR Dalam SARS-CoV dan MERS-CoV**

Patogenesis pasti COVID-19 masih belum diketahui. Sebagian besar informasi mengenai pathogenesis COVID-19 dari data yang tersedia tentang SARS-CoV dan MERS-CoV. Hasil penelitian menunjukkan bahwa IFN tipe 1 berperan penting dalam SARS - CoV dan MERS - CoV. Mereka mengganggu jalur pensinyalan sel inang dan menurunkan ekspresi reseptor IFN, yang pada gilirannya menyebabkan respons inflamasi sistemik. Karena produksi IFN tipe 1 dimediasi oleh TLR, mereka dapat memainkan peran penting dalam patogenesis CoV. Selain itu, badai sitokin ada di MERS - CoV, SARS - CoV, dan SARS - CoV - 2 yang memainkan peran penting dalam kemunduran infeksi ini.



Beberapa penelitian telah menunjukkan bahwa TLR3 melalui jalur TIRF mengarah ke respons perlindungan pada SARS - CoV dan MERS - Infeksi CoV (Gambar 0.14). Meskipun TLR3 pada model mouse mengarah pada aktivasi IRF3 dan NF - jalur  $\kappa$ B dan produksi IFN tipe 1 dan pro - sitokin inflamasi, bersamaan - keluar tikus untuk TLR3, tidak ada pengurangan sekresi sitokin ini terlihat pada infeksi coronavirus. Oleh karena itu, jalur lain juga terlibat dalam produksi pro - sitokin inflamasi dan IFN tipe 1. Induksi jalur TLR3, tetapi tidak TLR2 / 4/7, pada infeksi virus korona murine pada model tikus, merangsang produksi IFN -  $\beta$  di makrofag dan menghalangi infeksi. Selain itu, MERS - Protein CoV 4a dapat mengikat dsRNA dan menekan produksi IFN tipe 1. TLR4 juga mengaktifkan jalur yang sama. Meskipun TLR4 memainkan peran penting dalam infeksi bakteri, TLR4 dapat diaktifkan oleh fosfolipid teroksidasi, yang juga muncul di paru-paru virus.



**Gambar 2.14 Abstrak grafis dimana SARS-Cov-2 dapat mengaktifkan TLR4 di jantung dan paru untuk menyebabkan penyimpangan TLR4 mendukung jalur pro-inflamasi tergantung MyD88 (canonical) daripada jalur alternatif anti inflamasi dan interferon tergantung-TRIF/TRAM**

Perhatikan bahwa sekresi sedikit surfaktan paru menyebabkan reseptor TLR4 pada sel alveolar terkena. HMGB1 yang dilepaskan dari sel yang lisis juga dapat mengaktifkan TLR4 yang menyebabkan peradangan dan fibrosis yang berlebihan.

Model yang sama berlaku untuk sel jantung, kecuali bahwa tidak akan ada surfaktan paru, dan bukannya udara luar, itu akan menjadi matriks ekstraseluler. Di jantung, aktivasi TLR4 oleh virus SARS-CoV-2 dan/atau DAMP yang dilepaskan dari sel-sel nekrotik yang terinfeksi atau bahkan diregulasi di tempat cedera juga dapat menyebabkan sinyal abnormal ke jalur proinflamasi kanonik daripada jalur anti-inflamasi alternatif. Ini akan menyebabkan miokarditis virus. Aktivasi TLR4 juga menurunkan kontraktilitas kardiomyosit. Selain itu, SARS-CoV-2 dapat mengaktifkan TLR4 untuk meningkatkan sinyal PI3K/Akt dalam sel yang terinfeksi, mencegah apoptosis dan dengan demikian meningkatkan waktu untuk replikasi virus. Sinyal inflamasi yang menyimpang juga dapat diperluas ke jaringan lain yang mengekspresikan TLR4, seperti kulit dan ginjal, di mana virus akan menyebabkan cedera multi-organ.

TLR4 dapat diaktifkan oleh LPS (classical PAMP), DAMP atau viral PAMPs. LPS juga diambil oleh protein pengikat LPS (LBP) yang ada dalam darah dan cairan ekstraseluler di jaringan. LPS ditransfer dari LBP ke co-receptor CD14. Pengenalan oleh ikatan MD2 dan TLR4 menginduksi inti mentranskripsi faktor NF- $\kappa$ B dan AP-1 melalui jalur yang bergantung-MyD88, melibatkan isoform IRAKs, TABs, TAK, MAP kinases, dan IKK. Ini menghasilkan transkripsi sitokin proinflamasi dan pengatur proliferasi sel, kelangsungan hidup, dan diferensiasi. Pada fibroblas, jalur ini memediasi diferensiasi miofibroblas dan menghasilkan CTGF dan produksi kolagen, sedangkan jalur alternatif adalah endosom dan melibatkan pembentukan kompleks TRIF dan TRAM pada domain TIR. Jalur alternatif menghasilkan ekspresi sitokin anti-inflamasi, interferon dan yang diatur oleh faktor pengatur interferon 3 (IRF3), di samping beberapa translokasi nuklir NF- $\kappa$ B. “Cross-talk” aktivasi antara dua jalur yang ditandai dengan panah coklat. Daptor dan protein kaskade biasanya dalam homodimer, seperti reseptor TLR4, tetapi dihilangkan disini untuk menyederhanakan (Aboudounya MM dkk, 2020).

Interaksi antara TLR manusia dan antigen SARS-CoV-2 mungkin merupakan langkah untuk memahami interaksi host-patogen ini. Sebuah studi *in-silico* menunjukkan interaksi ini dan mengangkat hipotesis bahwa jalur TLR mungkin memiliki peran dalam konsekuensi inflamasi COVID-19. Dengan studi docking molekuler, penulis menunjukkan ikatan yang signifikan antara protein S virus dan reseptor kekebalan bawaan manusia TLR1, TLR4, dan TLR6, dengan energi pengikatan tertinggi dilaporkan dengan TLR4. Secara khusus, interaksi antara protein

Spike SARS-CoV-2 dan TLR4 manusia diperkirakan terdiri dari interaksi ikatan hidrogen serta interaksi hidrofobik. Sementara interaksi ini perlu dikonfirmasi dengan studi struktur kristal berikutnya, inhibitor yang menargetkan motif TLR4 ini mungkin merupakan strategi yang menjanjikan untuk membatasi aktivasi TLR4 yang disebabkan oleh SARS-CoV-2. Patut dicatat bahwa sitokin utama yang terlibat dalam kasus COVID-19 yang parah (IL-6 dan TNF- $\alpha$ ) berada di hilir jalur pensinyalan TLR4.

TLR adalah reseptor prototypical pattern recognition (PRR), yang mengenali zat mikrobiologis berbeda yang dikenal sebagai pathogen-associated molecular patterns (PAMP) atau microbe-associated molecular patterns (MAMP) serta zat endogen yang disebut damage-associated molecular patterns (DAMP) yang bertanggung jawab untuk memicu respon imun bawaan dan menyebarkan peradangan. TLR4 dikenal untuk mengenali berbagai macam zat seperti lipopolisakarida (LPS) dari bakteri gram negatif, virus, jamur, dan mikoplasma. Di sisi lain, DAMP adalah zat endogen yang bertindak sebagai agonis TLR4, yang muncul setelah cedera dan peradangan, termasuk oxidized phospholipid (oxPL), oxidized low-density lipoprotein (oxLDL), high-mobility group protein 1 (HMGB1), heat shock proteins (HSP), extracellular matrix (ECM), cathelicidin (LL37), asam hialuronat, zat P, dan lainnya.

Saat menghadapi invasi patogen mikrobiologis, proses aktivasi TLR4 membantu membunuh mikroba dengan menghancurkan zat patogen, namun, ketika zat endogen mengaktifkan TLR, radikal dapat membahayakan jaringan host. Proses aktivasi bergantung pada dua protein aksesori, cluster of differential 14 (CD14) dan myeloid differential protein-2 (MD-2), ini memulai dua jalur sinyal sel internal: respon primer pembeda myeloid bergantung pada gen 88 (MyD88) dan jalur independen MyD88. Setelah aktivasi, kaskade internal sel diaktifkan yang menyebabkan pelepasan beberapa interleukin, interferon, dan zat pensinyalan lainnya. Sinyal ini menarik makrofag, sel pembunuh alami, sel mast, dll, yang pada gilirannya dapat melepaskan spesies oksigen reaktif (ROS) dan spesies nitrogen reaktif (RNS).

Selanjutnya, virus berinteraksi dengan kompleks TLR4 oleh koprotein glisin virus, yang terpapar pada permukaan virus dan memediasi fusi dengan membran sel inang melalui fusi hidrofobik peptida [47]. Infeksi Virus Influenza-A (IAV) mengaktifkan kompleks TLR4 oleh DAMP inang, termasuk HMGB1 dan oxPL, yang biasanya terakumulasi sebagai respons terhadap infeksi dan mengaktifkan TLR4 melalui pengikatan MD-2. Mempertimbangkan bahwa DAMP host mungkin memainkan peran sentral dalam cedera paru akut dan terdeteksi di paru-paru pasien dengan infeksi IAV

atau SARS CoV yang parah [49,50], hubungan penting mengenai situasi SARS-CoV-2 saat ini mendasari interaksi ini. Sampai saat ini, peran TLRs pada penyakit manusia masih belum sepenuhnya dipahami, namun, TLR4 telah menunjukkan dirinya sebagai fitur penting dalam inisiasi dan perkembangan penyakit inflamasi.

### **2.9.2 Kerusakan Pulmoner dan TLR4**

SARS-CoV-2 menginfeksi sistem paru dan sebagian besar pasien dengan COVID 19 sedang hingga berat menderita ARDS. Reseptor TLR4 memainkan peran penting dalam perkembangan penyakit inflamasi dan pembuluh darah paru. Sebuah penelitian sebelumnya menggunakan tikus yang kekurangan TLR4 untuk memberikan bukti kuat untuk pensinyalan TLR4 sebagai mediator untuk cedera paru. Dalam penelitian ini, penghapusan TLR4 melindungi tikus dari berbagai sumber cedera paru akut termasuk flu burung. Lebih lanjut, peningkatan ekspresi TLR4 oleh respiratory syncytial virus memicu epitel paru untuk mengalami kerusakan yang dimediasi endotoksin. Logikanya, keparahan penyakit paru setelah infeksi virus secara signifikan diperburuk oleh peningkatan pensinyalan TLR4 termasuk infeksi flu babi dan dapat dilindungi melalui perbaikan pensinyalan TLR4. Jalur TLR4-NF- $\kappa$ B sangat penting untuk mendorong cedera paru yang diinduksi infeksi. Infeksi SARS-CoV-2 pada pasien COVID-19 yang parah disertai dengan pneumonia bakteri. Dalam hal ini, mengevaluasi peran yang dimainkan oleh pensinyalan TLR4 di paru-paru sangat penting untuk meningkatkan hasil pada pasien COVID-19. Dalam model sepsis murine cedera paru akut yang diinduksi LPS, penghambatan pensinyalan TLR4 menggunakan antibodi monoklonal, intervensi farmakologis serta perawatan berbasis miRNA dapat bermanfaat bagi pasien ini. Elemen penting dalam penyakit paru terkait SARS-CoV-2 pada cedera vaskular adalah respons terhadap hipoksia akibat ARDS. Dalam hal ini, TLR4 memodulasi berbagai respons inflamasi di paru-paru untuk memperburuk fungsi paru dan mengganggu resolusi yang tepat setelah infeksi. Ekspresi TLR4 meningkat pada sel otot polos paru tikus yang terpapar asap rokok yang merupakan bagian integral dari peradangan yang memburuk pada tikus ini saat terpapar LPS yang diinduksi cedera paru akut.

Faktanya, paparan LPS meningkatkan ekspresi permukaan TLR4 dengan cara yang dimediasi Rab26 dalam sel endotel paru manusia yang pada gilirannya meningkatkan kebocoran pembuluh darah. Proses ini disertai dengan peningkatan piroptosis sel-sel

endotel ini karena aktivasi LPS dari TLR4 menginduksi aktivasi inflammasome yang dimediasi NLRP3. Sejalan dengan ini, penekanan pensinyalan TLR4 di sel endotel paru menggunakan inhibitor berat molekul kecil mampu mengurangi efek cedera paru akut yang diinduksi LPS. Di sisi lain, makrofag alveolar diaktifkan oleh pensinyalan TLR4 dan memainkan peran penting dalam pembersihan patogen di dalam kompartemen paru-paru. Resolusi peradangan yang tepat, bagaimanapun, dimodulasi oleh pensinyalan kalsium melalui TRPV4 dan TRPV6. Evaluasi lebih lanjut dari strategi untuk mempromosikan resolusi respons inflamasi yang berhasil dan tepat pada pasien COVID-19 yang parah melalui penekanan pensinyalan TLR4 dapat bermanfaat untuk meningkatkan prognosis pada pasien ini.

Jalur pensinyalan TLR4 dan hubungannya dengan penyakit inflamasi memberikan peluang menarik untuk penargetan terapeutik dan aplikasi klinis. Ada berbagai senyawa kimia yang menarik yang dapat berinteraksi dengan jalur TLR4. Sintetis, senyawa alami seperti statin, ACE inhibitor, opioid, dan steroid dievaluasi dalam kondisi di mana sistem kekebalan tubuh terlalu aktif secara tidak tepat, seperti sepsis dan syok septik, lupus, rheumatoid arthritis, dan aterosklerosis. Senyawa sintetis yang paling relevan adalah Eritoran (E5564), TAK 242, dan FP7, obat dengan bioavailabilitas yang baik, kelarutan dalam air yang tinggi, kurangnya toksisitas, dan aksi antagonis TLR4 selektif. Selain itu, Eritoran (Eisai co.) akan segera diperkenalkan dalam studi REMAP-COVID, sub-platform dari uji klinis REMAP-CAP, yang mengevaluasi perawatan spesifik untuk COVID-19.

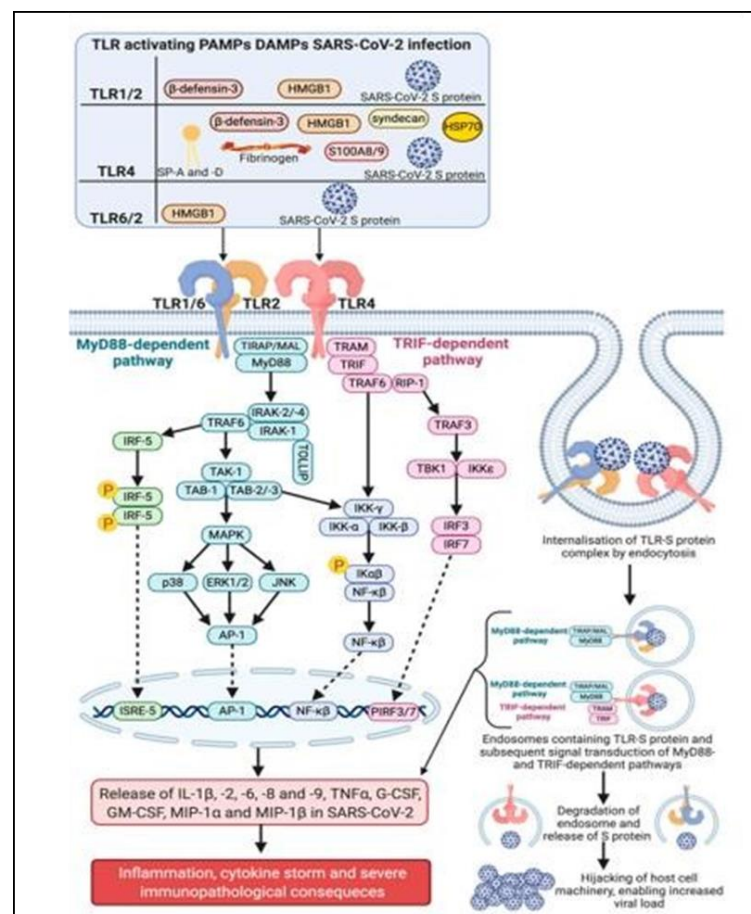
### **2.9.3 Peran HMGB1 dan TLR4 dalam Infeksi COVID-19**

TLR4 secara primer bertanggung jawab untuk imunitas bakteri gram negative, melalui pengenalan fisiologikal dari lipopolisakarida. Namun, pengikatan dan aktivasi dari TLR4 oleh protein fusi virus dan glikoprotein, termasuk virus yang mentargetkan sistem pernapasan telah dicatat. Peradangan yang tidak terkontrol yang dimediasi oleh TR4 telah disarankan untuk berkontribusi dengan imunopatologi pada pasien COVID-19. Sel mononuklear darah tepi yang diambil dari pasien yang terinfeksi SARS-CoV-2 telah meningkatkan ekspresi TLR4. Selain itu, peningkatan tingkat sirkulasi TLR4 DAMP pada pasien COVID-19 dapat menyebabkan peradangan secara terus menerus dan menimbulkan badai sitokin. Hal ini didukung oleh laporan pasien dengan COVID-

19 yang menunjukkan peningkatan kadar sitokin dan kemokin, yang telah terbukti dilepaskan oleh aktivasi TLR4 dalam patologi paru.

Pada studi silicon yang ditunjukkan langsung, pengikatan langsung anantara TLR1,4, dan 6 dengan permukaan protein S1 pada SARS-CoV-2, menunjukkan bahwa novel TLR mempunyai pola pengenalan reseptor. Selain itu, TLR yang mengaktifkan pola molekuler terkait bahaya (DAMP) yang bersirkulasi telah dilaporkan pada pasien dengan infeksi COVID-19. Aktivasi oleh protein S SARS-CoV-2 dan DAMPs dapat mendorong inflamasi yang dimediasi TLR bermanifestasi sebagai peradangan kronis, badai sitokin dengan hasil yang parah. Dengan demikian, kami mengatakan bahwa internalisasi protein S yang bergantung pada reseptor dapat memberikan titik masuk virus baru, menyebabkan penyebaran sistemik yang tidak bergantung pada ACE2.

Studi silico menyelidiki efikasi bahwa TLR-mengikat protein S, telah menunjukkan permukaan sel dengan adanya keterlibatan protein TLR-S (Gambar 0.15).. Pengenalan protein S oleh TLR4 juga dapat memulai internalisasi reseptor-dependen, memperhitungkan pada pasien dengan infeksi SARS-CoV-2 yang kekurangan ekspresi ACE2. Selanjutnya karena kemampuan TLR4 untuk menginternalisasi patogen, ini bisa mewakili titik masuk virus baru yang dieksploitasi oleh SARSCoV-2 yang tidak



bergantung pada ekspresi ACE2. Dengan demikian, penghambatan TLR4 harus diselidiki sebagai terapi potensial pada infeksi COVID-19.

**Gambar 2.15 Penunjukkan TLR1, 4 dan 6 dilibatkan dalam sel host infeksi SARS-CoV-2**

## 2.10 Nilai Cycle Threshold (CT)

Pemeriksaan molekuler dengan metode real time reverse transcriptase polymerase chain reaction atau yang selanjutnya disebut sebagai real time RT-PCR, pada saat ini digunakan sebagai metode untuk mendeteksi SARS-CoV2 penyebab COVID-19. Gen spesifik SARS-CoV2 yang dideteksi adalah ORF 1a/b, E, RdRp, dan gen N. Primers yang digunakan dalam reaksi PCR pada umumnya mendeteksi 2 diantara 4 gen tersebut dengan tujuan untuk mencegah adanya potensi reaksi silang dengan virus corona lainnya dan genetic drift SARS-CoV2. Pemeriksaan PCR pada swab nasofaring dan orofaring memiliki spesifisitas yang tinggi dan sensitifitas yang tergantung pada beberapa hal, yaitu viral load; metode isolasi atau ekstraksi RNA yang digunakan; dan waktu pengambilan swab yang tergantung pada fase penyakit yang dialami pasien (Touma dkk, 2020).

Hasil pemeriksaan real time PCR dinyatakan positif bila terdapat akumulasi sinyal fluoresens. Nilai cycle threshold atau CT adalah jumlah siklus yang dibutuhkan sampai sinyal fluoresens melewati ambang(threshold). Nilai CT tersebut secara proporsional berbanding terbalik dengan jumlah target asam nukleat didalam sampel, artinya semakin rendah nilai CT maka semakin banyak jumlah asam nukleat yang terdeteksi didalam sampel. Pada umumnya batas ambang nilai CT adalah 40 dengan interpretasi:

- Nilai CT <29: positif kuat, terdapat target asam nukleat dalam jumlah banyak.
- Nilai CT antara 30-37: positif, terdapat target asam nukleat dalam jumlah sedang.
- Nilai CT antara 38-40: positif lemah, terdapat target asam nukleat dalam jumlah sedikit dan terdapat kemungkinan kontaminasi dari lingkungan.

Namun demikian, beberapa kit reagen mencantumkan batas ambang nilai CT yang berbeda, yaitu 35, 36, 38, ataupun 41, sehingga interpretasi harus disesuaikan dengan penjelasan yang disertakan dalam kit reagen yang digunakan. Beberapa studi telah membuktikan terdapatnya variasi dalam hubungan antara infektivitas pasien dengan viral load yang diperoleh dari hasil kultur virus dan nilai CT real time RT-PCR. Bullard,

J dkk melakukan penelitian tentang infektivitas SARS-CoV2 pada pasien berdasarkan hasil pemeriksaan mikrobiologi dengan membandingkan antara kultur virus dan real time RT- PCR menggunakan spesimen nasofaring atau sekret saluran napas bawah. Kesimpulan penelitian tersebut menyatakan bahwa pasien tidak infeksius lagi (ditandai dengan hasil kultur virus negatif) pada hasil real time PCR deteksi gen E dengan nilai  $CT \geq 24$  dan to test (SIT) atau jumlah hari sejak timbulnya gejala sampai saat pengambilan spesimen)  $\geq 8$  hari (Bullard Jdkk, 2020).

La Scola dkk melakukan evaluasi pada 129 sampel dengan nilai CT 13-17 menunjukkan 100% positif pada kultur laboratorium dan menurun sampai angka "tidak terdeteksi pada kultur virus" pada saat nilai  $CT \geq 34$  dan terdapat 12% sampel dengan CT 33 yang menunjukkan kultur Virus positif (La Sccla dkk, 2020). Sebuah penelitian yang dilakukan terhadap tenaga kesehatan melaporkan bahwa pada hari ke-29 sejak hasil swab PCR, dengan nilai 38, dinyatakan sudah tidak menular lagi (Bordon dkk, 2020). Sebuah penelitian menunjukkan bahwa kultur virus menunjukkan hasil positif pada sampel swab yang mengandung sedikitnya 106/ml cairan dari sampel swab, namun tidak diketahui kemampuan penularannya (Wolfel dkk, 2020).

Tinggi atau rendahnya nilai CT sangat bergantung pada teknis pengerjaan, jumlah RNA didalam sampel, metode pengambilan sampel, metode ekstraksi RNA yang digunakan, reagen dan primer Yang digunakán dalam reaksi PCR. Perlu diperhatikan juga bahwa pada saat ini ketersediaan reagen Yang bervariasi dan tidak adanya standarisasi antar produk mempersulit pemanfaatan nilai CT. Mempertimbangkan hal tersebut maka penggunaan nilai CT untuk aplikasi klinis harus disertai hasil viral Ioad dan viabilitas Virus menggunakan metode kultur Virus yang dikerjakan di laboratorium yang sama. Nilai CT dapat dicantumkan pada hasil pemeriksaan disertai nilai rujukan berupa range atau konversi ke nilai viral Ioad dan/atau dikelompokkan menjadi viral Ioad rendah/medium/tinggi (Tom MR dkk, 2020).

WHO mempublikasi scientific brief tentang kriteria pengakhiran masa isolasi seseorang dengan status konfirmasi COVID-19 pada tanggal 17 Juni 2020, yang merupakan revisi dari scientific brief sebelumnya yang telah dipublikasi pada 12 Januari 2020. Pada awalnya dijelaskan bahwa seseorang dengan status konfirmasi COVID-19 boleh dikeluarkan dari isolasi bila tidak lagi mengandung Virus yang dinyatakan dengan hasil negatif pada 2x pemeriksaan PCR swab yang diambil berjarak minimal 24 jam. Pernyataan tersebut disusun berdasarkan pengalaman dalam menangani kasus infeksi Virus Corona sebelumnya (SARS dan MERS) (WHO, 2020).



Beberapa hal yang menjadi pertimbangan yaitu hasil PCR positif pada beberapa individu yang cukup lama (prolonged viral RNA detection, meskipun sudah tidak ada tanda dan gejala, hasil PCR yang tidak konsisten (kadang positif lalu negatif dan positif lagi) pada individu yang sudah tidak menunjukkan adanya tanda dan gejala COVID-19 mengakibatkan ketidakpercayaan pada kualitas laboratorium pemeriksa, dan masalah ketersediaan pemeriksaan PCR yang tidak mudah didapat di semua fasilitas pelayanan kesehatan, maka ketentuan hasil negatif pada 2x pemeriksaan PCR swab direvisi. Selanjutnya dinyatakan bahwa kriteria pemulangan atau seseorang boleh keluar dari isolasi mandiri adalah sebagai berikut; pada pasien (dengan gejala): setelah 10 hari sejak onset gejala ditambah 3 hari bebas gejala (tanpa demam dan tanpa gejala saluran napas) serta pada kasus tanpa gejala: 10 hari setelah hasil PCR SARS COV2 dinyatakan positif (Bordon J dkk,2020).

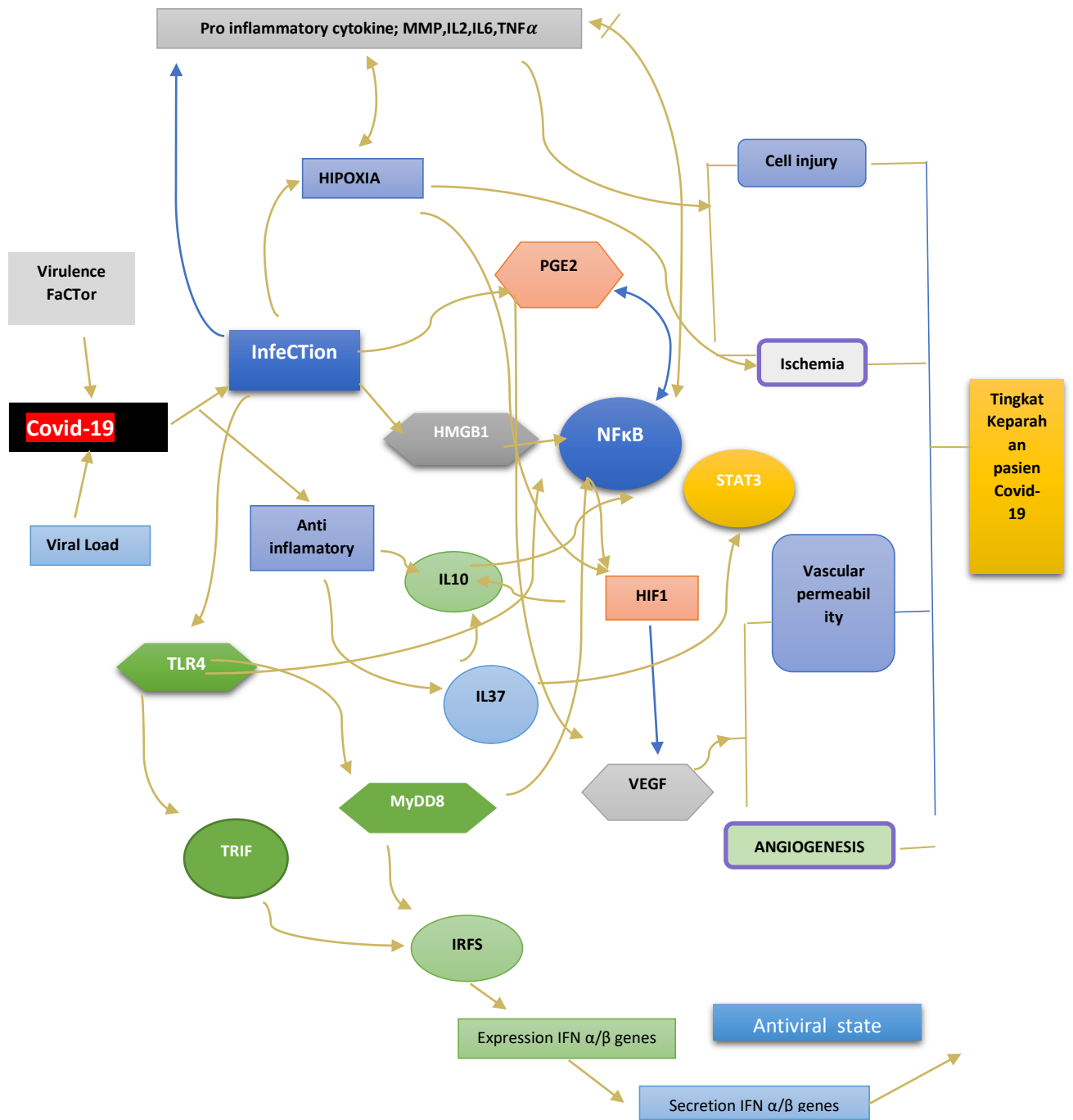
PCR adalah pemeriksaan yang mendeteksi materi genetik virus tanpa dapat menentukan virus dalam keadaan hidup atau mati, sedangkan kemampuan menginfeksi hanya dimiliki oleh virus yang hidup sehingga hasil PCR dengan atau tanpa nilai CT tidak dapat memastikan pasien infeksius atau tidak. Pemeriksaan kultur virus adalah satu- satunya pemeriksaan yang dapat menentukan virus dalam keadaan hidup dan bersifat infeksius.

Nilai CT sangat diperlukan untuk menetapkan hasil pemeriksaan PCR positif dan negatif dengan nilai ambang sesuai ketentuan manual kit, sehingga nilai CT cukup diketahui oleh dokter penanggungjawab laboratorium mikrobiologi untuk interpretasi hasil. Nilai CT ditentukan oleh beberapa faktor khususnya metode sampling, sehingga perlu kehati hatian dalam menggunakannya pada tata-kelola pasien COVID-19. Nilai CT tidak perlu disebut pada lembar hasil pemeriksaan PCR, namun bila dibutuhkan sebagai pertimbangan pengambilan langkah tatalaksana dapat ditanyakan ke laboratorium pemeriksa.

## **2.11 Kerangka Teori**

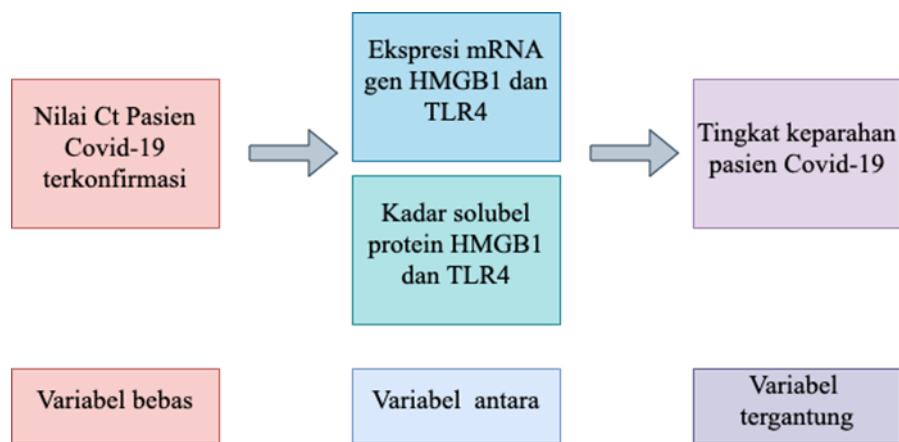
Berikut merupakan kerangka teori dari penelitian ini yang akan dijelaskan pada Gambar 2.16:

**Kerangka Teori :**



## 2.12 Kerangka Konsep

Berikut merupakan kerangka konsep dari penelitian ini yang akan dijelaskan pada Gambar 2.17 :



**Gambar 2.17 Kerangka Konsep**