

MENGENAL PEMERIKSAAN MOLEKULAR COVID-19:

Real Time-Polymerase Chain Reaction

Kezia Morla Rawatan, S.Biomed
dr. Meutia A. Kumaheri, MRes

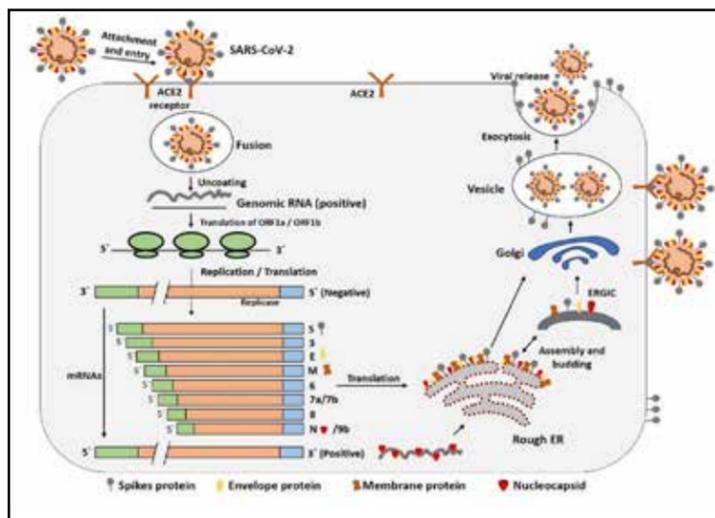
Awal tahun 2020 dunia dikagetkan dengan munculnya virus baru yang menyebar secara cepat dari individu ke individu lain dan menyerang saluran pernafasan atas. SARS-CoV-2 merupakan virus yang menyebabkan penyakit yang disebut dengan COVID-19 dan menggemparkan dunia sampai hari ini. Penyebarannya yang cepat dan meluas secara global membuat WHO menetapkan status *pandemic* terhadap virus ini. Maka dari itu, semua negara berusaha dalam menangani dan melakukan penelitian lebih lanjut untuk mengenal gejala, diagnosis, penanganan, serta dan cara mencegah transmisi virus ini.

SARS-CoV-2 (Severe Acute Respiratory Syndrome-CoronaVirus-2)

SARS-CoV-2 merupakan virus berbalut dari grup *Coronavirus* yang memiliki RNA (Ribonucleic Acid) sebagai materi genetiknya. Sub grup dari keluarga *coronavirus* merupakan alpha, beta, gamma dan delta *coronavirus* (Adnan, 2020). Sudah diketahui beberapa jenis *Coronavirus* yang telah menginfeksi manusia dan menyebabkan gangguan saluran pernafasan atas, seperti SARS-CoV dan MERS-CoV yang juga menjadi wabah. *Coronavirus* memiliki morfologi yang cukup unik dan namanya didapat dari bentuk *spike* di amplopnya yang menyerupai mahkota (Gb. 1).

Pada dasarnya struktur virus ini dibentuk oleh 4 struktural gen yaitu *spike (S)*, *envelope (E)*, *membrane (M)*, dan *nucleocapsid (N)* (Unhale, 2020). Berfungsi sebagai pelindung materi genetik, amplop dari *Coronavirus* berupa *glycoprotein* yang memiliki karakteristik sama dengan lapisan membran pada sel dan dikode oleh Gen E (*Envelope*) (Gb.1). Semua jenis *Coronavirus* memiliki spesifik gen yang terletak di bagian *ORF1* sebagai kode replikasi virus dan pembentukan *nucleocapsid* (Adnan, 2020).

Dalam siklus hidupnya, sama seperti SARS-CoV sebelumnya,



Gambar 2. Siklus hidup SARS-CoV-2 (Adnan, 2020)

virus ini masuk melalui *angiotensin-converting enzyme (ACE2) receptor* kemudian mengenalkan materi genetiknya dan berintegrasi ke dalam sel inang (Gb.2) (Adnan, 2020). Materi genetik virus ini akan ditranslasi oleh sel inang dan membentuk protein pembangun virus. Virus yang telah terbentuk akan dilepaskan keluar sel dan siklus akan terus berulang.

COVID-19 (Coronavirus Disease-19)

COVID-19 (*Coronavirus Disease-19*) adalah penamaan yang diberikan oleh WHO untuk penyakit yang disebabkan oleh SARS-CoV-2. Secara statistik, total kasus yang

terinfeksi virus SARS-CoV-2 di Indonesia per tanggal 17 Mei 2020 ialah 17,520, dengan total kasus kematian 1,148 dan sembuh 4,129 (Gb. 3) (Kementerian Kesehatan, 2020). Jumlah tersebut belum termasuk orang dan pasien yang dicurigai, kasus ODP ialah 270,876 dan PDP ialah 35,800 (Kementerian Kesehatan, 2020).

Kumulatif Pasien COVID-19 di Indonesia (1 Maret 2020 - 17 Mei 2020)

Berdasarkan CDC (*Center for Disease Control and Prevention*), gejala COVID-19 akan muncul 2-14 hari setelah pasien terpapar akan virus (CDC, 2020). Gejala tersebut meliputi batuk, demam, kesulitan bernafas, nyeri otot, sakit tenggorokan dan kehilangan kemampuan indera perasa & penciuman (CDC, 2020). Tetapi, ada beberapa gejala lain juga yang dilaporkan yaitu nyeri abdomen bagian bawah, ruam, diare, mual dan muntah, serta nyeri skrotal (CDC, 2020).

Bukan hanya itu saja, gejala yang umum seperti *flu-like symptoms* bahkan *asymptomatic symptoms* membuat diagnosis terhadap penyakit ini menjadi sulit. Disusul dengan fakta bahwa varian virus ini tergolong baru menambah

kesulitan akan ketersediaan alat tes ataupun jenis pemeriksaan lab untuk mendeteksi keberadaan virus di dalam tubuh. Maka dari itu, jenis pemeriksaan yang cepat dan memiliki tingkat akurasi tinggi sangat diperlukan untuk menunjang diagnosis pasien.

Pada dasarnya ada 2 jenis pemeriksaan yang sudah dikembangkan untuk mengkonfirmasi pasien COVID-19, yaitu dengan *Rapid test* dan *Real Time-Polymerase Chain Reaction* atau PCR. *Rapid Test* (IgG/IgM) menggunakan prinsip *immunochemistry* dimana pemeriksaan ini mendeteksi keberadaan antibodi (IgG/IgM) yang dihasilkan oleh pasien terhadap SARS-CoV-2. Secara teknis, apabila pasien terinfeksi oleh SARS-CoV-2, pada waktunya tubuh akan memproduksi antibodi sebagai respon imun tubuh dan antibodi ini akan tertangkap di membran *rapid test* serta memberikan tanda reaktif (ditandai dengan munculnya garis warna pada membran). Tetapi pemeriksaan ini hanya bersifat *screening* dan memerlukan pemeriksaan konfirmasi yaitu dengan metode PCR untuk menentukan diagnosa pasien.

Pemeriksaan Molekular Real Time-Polymerase Chain Reaction COVID-19

Pemeriksaan molekular untuk mendeteksi virus SARS-CoV-2 memegang peranan penting dalam menunjang diagnosa pasien. Ini dikarenakan, pemeriksaan molekular dapat mendeteksi keberadaan SARS-CoV-2 di dalam tubuh dibanding dengan rapid tes. *Real time-Polymerase Chain Reaction* adalah metode yang digunakan untuk mendeteksi keberadaan virus. Pada dasarnya, PCR berfungsi seperti mesin *foto copy* dengan mengamplifikasi atau memperbanyak spesifik gen yang diinginkan. Dalam pemeriksaan COVID-19, PCR akan mendeteksi spesifik gen target yang dimiliki oleh SARS-CoV-2 dan memperbanyaknya.

Seperti yang sudah dibahas diatas, SARS-CoV-2 merupakan virus jenis RNA, sedangkan PCR hanya bisa mengamplifikasi gen dalam bentuk DNA. Maka dari itu, ada beberapa tahapan yang harus dilakukan sebelum masuk ke dalam metode PCR.

Pertama-tama, sample orofaring dan nasofaring disimpan dalam VTM (*Viral transport medium*) yang berfungsi untuk menjaga stabilitas sampel. Sampel yang sudah diterima akan dilanjutkan pada proses

ekstraksi RNA. Proses ini berfungsi untuk mendapatkan materi genetik murni RNA SARS-CoV-2. Setelah itu, RNA tersebut akan dicampurkan dengan reagen PCR yang berisi DNA *polymerase*, *primer*, internal kontrol, detektor gen target SARS-CoV-2 dan enzim RTase (*Reverse Transcriptase*) yang akan mengubah RNA menjadi DNA.

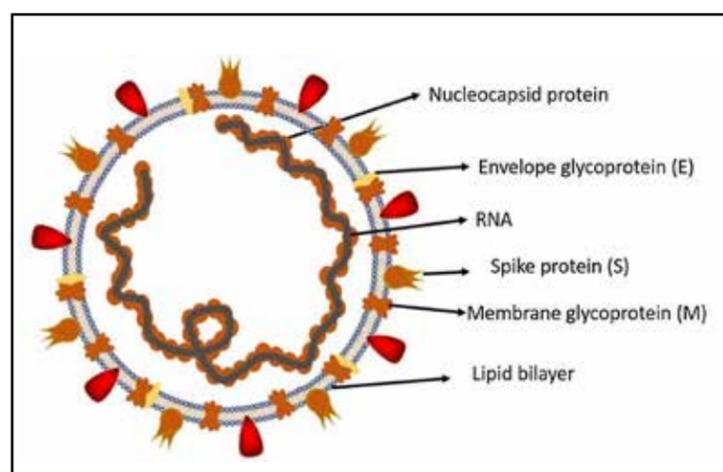
Proses selanjutnya ialah memasukkan sample tersebut ke dalam mesin PCR. Pada dasarnya, PCR memiliki 3 prinsip kerja yaitu:

1. *Denaturation*: DNA akan terpisah untuk persiapan proses amplifikasi.
2. *Annealing*: *Primer* dan detektor gen akan mencari spesifik gen target SARS-CoV 2 dan menempel pada DNA.
3. *Elongation*: DNA *Polymerase* akan menempel pada *primer* yang terdeteksi memiliki gen target SARS-CoV-2 dan mulai memperbanyak DNA *copy*.

Dalam proses yang terakhir, apabila gen target sebagai penanda gen SARS-Cov-2 berhasil diperbanyak, akan menghasilkan cahaya yang akan ditangkap oleh detektor PCR. Sehingga PCR dapat mendeteksi dan memberikan nilai kuantitatif seberapa banyak gen tersebut di amplifikasi. Nilai dari hasil amplifikasi gen tersebut akan menjadi pedoman penentuan diagnosis pasien. Semakin kecil nilai tersebut akan mengindikasikan bahwa jumlah virus di dalam tubuh pasien tersebut tinggi, yang menandakan bahwa pasien tersebut positif dan begitu pula sebaliknya.

Untuk interpretasi hasil pada PCR, gen target digunakan sebagai penanda spesifik SARS-CoV-2 harus berhasil diamplifikasi. Selain amplifikasi gen target, control positif yang berupa plasmid berisi "tiruan positif SARS-CoV-2" harus memiliki nilai. Hal ini berfungsi sebagai penanda bahwa PCR dapat mendeteksi sampel tersebut dengan baik. Kontrol positif dan negatif juga disertakan dalam setiap PCR guna sebagai pedoman dan melihat apakah ada kontaminasi sampel. Ada juga kontrol internal yang berfungsi sebagai penanda amplifikasi. Apabila pada saat PCR kontrol internal tersebut tidak terdeteksi, maka harus dilakukan PCR ulang. MD

Daftar Pustaka ada pada redaksi



Gambar 1. Struktur Coronavirus (Adnan, 2020)

