BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit *Coronavirus Disease* 2019 (COVID-19) disebabkan virus corona jenis baru, yakni virus *2019-nCoV*, yang kini dikenal dengan sebutan virus *SARS-CoV-2* (*Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus* 2) virus corona yang pertama kali dikenali di Wuhan, Cina, pada Desember 2019. Beberapa pasien mengalami gejala parah seperti pneumonia, khususnya mereka yang memiliki penyakit penyerta seperti penyakit jantung, paru-paru, atau diabetes. Adanya penyakit penyerta ini diduga menjadi penyebab timbulnya gejala klinis yang lebih parah pada penderita COVID-19 (Prastyowati, 2020). Dengan meningkatnya jumlah orang yang terinfeksi dalam waktu yang sangat singkat, pandemi telah menjadi beban yang sangat berat bagi sistem kesehatan termasuk laboratorium diagnostik. *Quantitative Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction* (RT-qPCR) dianggap sebagai *gold standart* uji konfirmasi laboratorium diagnostik untuk COVID-19.

Menurut *World Health Organization* (WHO), RT-qPCR telah menjadi *gold standart* untuk mengidentifikasi *SARS-CoV-2* pada pasien yang dicurigai. Kasus COVID-19 dikonfirmasi dengan mendeteksi urutan unik RNA virus dengan tes amplifikasi asam nukleat pada RT-qPCR. Gen virus yang ditargetkan sejauh ini termasuk tiga gen yang mengkode protein struktural yaitu : N

(*nucleocapsid*), E (*envelope*), dan S (*spike*), serta gen RNA-*dependent* RNA *polymerase* (RdRp) yang memainkan peran penting dalam sintesis RNA virus (Hartanti, 2020). Pendeteksian asam nukleat dalam *SARS-CoV-2* ini dilaporkan dalam nilai *cycle threshold* (Ct).

Jumlah RNA *SARS-CoV-2* dalam spesimen klinis dilaporkan dengan nilai *cycle threshold* (Ct) untuk RT-qPCR. Ct didefinisikan sebagai jumlah siklus yang diperlukan sinyal fluoresen untuk melewati ambang batas. Nilai Ct berbanding terbalik dengan jumlah asam nukleat target dalam spesimen yaitu semakin rendah nilai Ct, semakin besar jumlah asam nukleat target dalam spesimen (Karahasan Yagci et al., 2020). Sehingga apabila nilai Ct rendah maka jumlah virus yang terdapat dalam spesimen yaitu banyak. Meningkatnya kasus COVID-19 berpengaruh besar terhadap permintaan jumlah pemeriksaan RT-qPCR untuk spesimen *SARS-CoV-2* yang akhirnya mengakibatkan terjadinya proses penyimpanan spesimen (WHO, 2020).

World Health Organization (WHO), *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC), *European Centre for Disease Prevention* (ECDC) dan beberapa otoritas Kesehatan Nasional mengumumkan beberapa protokol RT-qPCR dan pedoman penyimpanan spesimen dan semuanya menekankan bahwa akurasi tes RT-qPCR sebagian besar bergantung tentang pengumpulan dan penyimpanan spesimen yang tepat. Semua pedoman setuju bahwa spesimen harus dipindahkan dan disimpan dalam kondisi dingin (Agaoglu et al., 2020). Spesimen untuk deteksi virus harus dibawa ke laboratorium secepat mungkin setelah

pengumpulan. Penanganan spesimen yang benar selama transportasi dinilai sangat penting.

Spesimen yang dapat segera dikirim ke laboratorium dapat disimpan dan dikirim pada suhu 2-8°C. Jika kemungkinan ada penundaan pengiriman spesimen mencapai laboratorium, sangat dianjurkan penggunaan media transpor virus. Jika penundaan lebih lanjut diperkirakan terjadi maka spesimen dapat dibekukan hingga -20°C atau idealnya -70°C dan dikirim dengan *dry ice*, ini merupakan hal yang sangat penting untuk menghindari pembekuan dan pencairan spesimen berulang kali (WHO, 2020). Semakin tinggi suhu penyimpanan, semakin cepat asam nukleat terdegradasi dan RNA virus tidak dapat dipertahankan dalam uji molekuler bahkan 1 hari setelah penyimpanan (Kim et al., 2020).

Pandemi COVID-19 telah menyebabkan kenaikan kebutuhan diagnostik RT-qPCR secara signifikan yang belum pernah terjadi sebelumnya. Dalam keadaan tertentu seperti jumlah spesimen yang berlebihan, kurangnya staf, atau pemeliharaan fasilitas, banyak spesimen perlu disimpan atau dikirim ke laboratorium yang berpengalaman dalam pengujian *SARS-CoV-2*. Permasalahan pada saat transportasi atau penyimpanan spesimen dianggap mempengaruhi hasil pemeriksaan.

Berdasarkan penelitian yang pernah dilakukan di Seoul Korea Selatan, hasil pemeriksaan spesimen pasien dengan perlakuan beberapa suhu penyimpanan mendapatkan hasil RT-qPCR tidak berpengaruh secara signifikan pada suhu penyimpanan 2°C - 8°C setelah 7 hari. Ketika disimpan pada suhu penyimpanan

20°C - 22°C atau di atas 35°C, hasilnya berpengaruh secara negatif setelah 1 hari. Temperatur penyimpanan yang lebih tinggi menghasilkan kemungkinan yang lebih rendah untuk mendeteksi asam nukleat virus karena degradasi (Kim et al., 2020). Penelitian lain yang dilakukan di Beijing China menyebutkan bahwa setelah spesimen disimpan pada suhu 2°C – 8°C selama 1 hari, 13/88 dari hasil spesimen berubah (negatif 7 dan suspek 6). Setelah penyimpanan pada suhu 2°C – 8°C selama 2 hari, 20/88 dari hasil spesimen berubah (negatif 6 dan suspek 14). Setelah disimpan pada suhu kamar (sekitar 20 °C) selama 1 hari, hasil positif 14/88 spesimen berubah (negatif 5 dan suspek 9). Setelah penyimpanan di suhu kamar selama 2 hari, hasil positif 22/88 dari spesimen berubah (negatif 8 dan suspek 14). Perubahan nilai Ct setelah penyimpanan pada perbedaan kondisi ditemukan hasil bahwa nilai Ct meningkat setelah penyimpanan. Saat spesimen disimpan sebelum analisis, nilai Ct berubah seiring waktu, terlepas suhu kamar atau penyimpanan pada suhu 2-8°C) (Li et al., 2020).

Berdasarkan latar belakang diatas permasalahan penyimpanan lebih lama dari yang disarankan terutama jika terjadi penumpukan jumlah spesimen yang melebihi kapasitas pemeriksaan di suatu laboratorium, kemudian penyimpanan spesimen pun terjadi ketika ditemukan hasil pemeriksaan yang invalid atau inkonklusif sehingga diperlukan pengulangan pemeriksaan di hari berikutnya. Maka peneliti bermaksud melakukan penelitian yang berjudul “Pengaruh Suhu dan Lama Simpan Spesimen *SARS-CoV-2* terhadap Hasil Pemeriksaan RT-qPCR”.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, timbul masalah yang diajukan pada penelitian ini, yaitu : Apakah terdapat pengaruh suhu dan lama penyimpanan spesimen *SARS-CoV-2* terhadap hasil pemeriksaan RT-qPCR?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian yang dilakukan adalah sebagai berikut : Mengetahui pengaruh suhu dan lama penyimpanan spesimen *SARS-CoV-2* terhadap hasil pemeriksaan RT-qPCR.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian yang diperoleh adalah dapat memberikan informasi mengenai pengaruh suhu dan lama penyimpanan spesimen *SARS-CoV-2* terhadap hasil pemeriksaan spesimen *SARS-CoV-2* dengan RT-qPCR sehingga menjadi pertimbangan dalam acuan pengelolaan spesimen di laboratorium biologi molekuler.