

TESIS

**PERBANDINGAN TINGKAT EKSPRESI
MONOCYTE HUMAN LEUKOCYTE ANTIGEN-D-RELATED
(mHLA-DR) PADA PENDERITA CORONAVIRUS DISEASE 2019
(COVID-19) DENGAN INDIVIDU SEHAT**



OLEH :

MUSHOLLI HIMMATUN NABILAH

NIM. 012014153001

**PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN DASAR
JENJANG MAGISTER FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA**

SURABAYA

2022

TESIS

**PERBANDINGAN TINGKAT EKSPRESI
MONOCYTE HUMAN LEUKOCYTE ANTIGEN-D-RELATED
(mHLA-DR) PADA PENDERITA CORONAVIRUS DISEASE 2019
(COVID-19) DENGAN INDIVIDU SEHAT**

MUSHOLLI HIMMATUN NABILAH

NIM. 012014153001

**PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN DASAR
JENJANG MAGISTER FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA**

SURABAYA

2022

**PERBANDINGAN TINGKAT EKSPRESI
MONOCYTE HUMAN LEUKOCYTE ANTIGEN-D-RELATED
(mHLA-DR) PADA PENDERITA CORONAVIRUS DISEASE 2019
(COVID-19) DENGAN INDIVIDU SEHAT**

TESIS

**Untuk memperoleh Gelar Magister Sains dalam Program Studi Ilmu
Kedokteran Dasar Pada Jenjang Magister Fakultas Kedokteran Universitas
Airlangga**

**Musholli Himmatun Nabilah
NIM. 012014153001**

**PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN DASAR
JENJANG MAGISTER FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2022**

LEMBAR PENGESAHAN

TESIS INI TELAH DISAHKAN
PADA TANGGAL 20 DESEMBER 2022

Oleh
Pembimbing utama



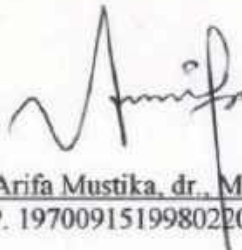
Dr. Puspa Wardhani, dr., Sp.PK(K).
NIP. 197502252006042001

Pembimbing Kedua



Prof. Dr. Aryati, dr., Sp.PK(K).
NIP. 196308151990022001

Mengetahui
Koordinator Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar
Jenjang Magister Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga



Dr. Arifa Mustika, dr., M.Si.
NIP. 197009151998022001

LEMBAR PENETAPAN PANITIA PENGUJI

Tesis ini telah diuji dan dinilai oleh panitia penguji
pada Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar Jenjang Magister
Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga
Pada Tanggal 20 Desember 2022

Panitia Penguji Tesis,

Ketua : Dr. Yetti Hernaningsih, dr., Sp.PK(K).

Anggota :

1. Dr. Puspa Wardhani, dr., Sp.PK(K).
2. Prof. Dr.Aryati, dr., MS., Sp.PK(K).
3. Bambang Pujo Semedi, dr.,Sp.An.,KIC.
4. Atika, S.Si., M.Kes.

PERNYATAAN TENTANG ORISINALITAS

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Musholli Himmatun Nabilah

NIM : 012014153001

Program Studi : Ilmu Kedokteran Dasar

Minat Studi : Kedokteran Laboratorium

Fakultas : Kedokteran

Jenjang : Magister

Menyatakan bahwa saya tidak melakukan plagiasi dalam penulisan tesis saya yang berjudul :

“Perbandingan Tingkat Ekspresi *Monocyte Human Leukocyte Antigen-D-Related* (mHLA-DR) Pada Penderita *Coronavirus Disease 2019* (Covid-19) dengan Individu Sehat”

Apabila suatu saat nanti terbukti saya melakukan tindakan plagiat, maka saya akan menerima sanksi yang telah ditetapkan.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya.



Surabaya, Desember 2022


Musholli Himmatun Nabilah
NIM. 012014153001

UCAPAN TERIMAKASIH

Segala puji syukur saya panjatkan kepada Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga saya dapat menyelesaikan naskah tesis ini dengan baik. Dalam menyusun tesis ini, saya mendapatkan bantuan dari berbagai pihak berupa pengarahan, perhatian, dan bimbingan. Oleh karena itu, pada kesempatan yang baik ini saya ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada :

1. Rektor Universitas Airlangga, Prof. Dr. Mohammad Nasih, SE., M.T., Ak., CMA, atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan selama menjalani pendidikan di Universitas Airlangga
2. Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Prof. Dr. Budi Santoso, dr., Sp.OG (K), beserta jajarannya atas kemudahan yang diberikan dalam pelayanan akademik selama pendidikan.
3. Ketua Program Studi Magister Ilmu Kedokteran Dasar Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Dr. Arifa Mustika, dr., M.Si., yang telah banyak memberikan motivasi dan arahan serta bimbingan selama pendidikan.
4. Dr. Puspa Wardhani, dr., Sp.PK (K) selaku dosen pembimbing utama yang penuh perhatian, senantiasa memberikan ilmu, waktu, dan tenaga dalam memberikan bimbingan, solusi, arahan serta motivasi selama menyusun naskah proposal, melakukan penelitian hingga penulisan tesis;
5. Prof. Aryati, dr., MS., Sp.PK (K) selaku pembimbing kedua yang telah memberikan arahan, bimbingan, waktu, solusi, dan dukungan selama menyusun naskah proposal, melakukan penelitian hingga penulisan tesis;
6. Bambang Pujo Semedi, dr., Sp.An., KIC selaku dosen penguji klinis atas ilmu, saran, waktu, dan kritik membangun dalam penulisan tesis ini;
7. Dr. Yetti Hernaningsih, dr., Sp.PK (K) selaku dosen penguji atas bimbingan, arahan, dan kritik yang membangun;
8. Atika, S.Si., M.Kes., selaku dosen penguji statistik atas saran, semangat, dan kritik yang membangun selama penulisan naskah tesis ini;
9. Seluruh dosen dan staff pengajar Program Studi Magister Ilmu Kedokteran Dasar Minat Kedokteran Laboratorium Fakultas Kedokteran Universitas

Airlangga yang telah memberikan begitu banyak ilmu pengetahuan dan motivasi belajar terbaik.

10. Direktur Rumah Sakit, staff, dan seluruh petugas kesehatan Rumah Sakit Umum Daerah (RSUD) Dr. Soetomo Surabaya, khususnya pada Ruang Isolasi Khusus (RIK) Lantai 2 yang telah memberikan izin dan banyak bantuan dalam pelaksanaan penelitian ini.
11. Keluarga tercinta : Ayah Drs. Muhajir, S.H., M.Hum, Ummi Lilik Sholichatin, Kakak Awwalul Wiladatil Qodliyah, S.Tr.Keb., M.Keb, Adik Liha Salsabila Addzikroh, serta keluarga besar saya atas do'a, dukungan, motivasi, dan kasih sayang yang diberikan selama ini.
12. Rekan-rekan mahasiswa Magister Ilmu Kedokteran Dasar Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga pada umumnya, khususnya peminatan Kedokteran Laboratorium semester ganjil dan genap tahun 2020-2021 atas bantuan dan dukungan dalam menyelesaikan penelitian dan naskah tesis ini, serta kebersamaan yang menyenangkan selama menempuh pendidikan.
13. Semua pihak yang telah membantu, yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Saya menyadari bahwa penelitian ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu saya membuka diri untuk segala saran dan kritik yang membangun selama berlangsungnya penelitian ini. Semoga penelitian ini dapat memberikan manfaat dan kebaikan bagi banyak pihak.

SUMMARY

Comparison of Monocyte Human Leukocyte Antigen-D-Related (mHLA-DR) Expression Levels between Corona Virus Disease 2019 (COVID-19) Patients and Healthy Subjects

Several studies have shown that Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) infection can trigger immune dysregulation and immunosuppression that is associated with disease severity in Coronavirus disease 2019 (COVID-19) patients. Dysregulation of immune response in COVID-19 patients, some of them can be triggered by excessive production of pro-inflammatory cytokines. Excessive production of these pro-inflammatory cytokines can lead to impaired antigen presentation through inhibition of HLA-DR molecule expression. The HLA-DR molecule is a transmembrane glycoprotein that plays a role in antigen presentation and T-cell activation. The stage of antigen presentation to lymphocytes is critical for activating an adaptive immune response and a sustained immune response to clear pathogens. mHLA-DR is an HLA-DR expressed on the surface of monocytes. Monocytes are considered a key immune cell that plays a role in infection, as well as a first-line cellular response that initiates and promotes an adaptive immune response. Downregulation of mHLA-DR surface expression in CD14⁺ monocytes represents a state of immunosuppression. The role of immunosuppression in COVID-19 is still unclear, besides that, monitoring of immune dysfunction in COVID-19 patients is still not a full concern because it is generally not monitored in clinical routines during patient care. Understanding the role of immune cells (mHLA-DR) in the various clinical symptoms of COVID-19 is critical to developing effective treatment strategies. The method of measuring the expression of mHLA-DR is a fast and easy technique using flow cytometry. As in the sepsis case, the expression of mHLA-DR is expected to be a reliable marker for the evaluation of immune dysfunction in COVID-19 patients. Accordingly, data regarding the measurement of mHLA-DR expression in COVID-19 in Indonesia is still very limited. This study aimed to analyze the level of mHLA-DR expression in COVID-19 concerning the incidence of immunosuppression by comparing the mHLA-DR expression in COVID-19 patients with healthy subject.

This study was an analytical observational study with a cross-sectional design that was analyzed the differences in mHLA-DR expression in EDTA blood samples from 34 COVID-19 (22 mild, 6 moderate, and 6 severe-critical) patients and 15 healthy subjects. The instrument used for measuring mHLA-DR was the BD FACSLyric™ Flow Cytometry. mHLA-DR examination results expressed in antibodies bound per cell (AB/C) that were quantified using a standard curve constructed with Quantibrite phycoerythrin beads. The reference value used in this study was >15,000 AB/C. All examination results data were analyzed statistically using SPSS version 26,0.

The results of this study showed that mHLA-DR expression in COVID-19 patients were 21,201 [2,646-92,384] AB/C, with mild clinical manifestations were 40,543.5 [9,797-92,384] AB/C, moderate clinical manifestations were 21,201 [9,831-31,930] AB/C, and severe-critical clinical manifestations were 7,496

[2,646-13,674] AB/C. mHLA-DR expression in healthy subjects were 43,161 [25,147-89,846] AB/C. Based on the Mann-Whitney U test, the expression of mHLA-DR in COVID-19 patients was significantly different from the healthy subjects ($p = 0.010$). Based on the Spearman correlation test, there was no correlation between mHLA-DR expression and monocytes (%) in healthy subjects ($p = 0.663$ dan $r = 0,123$) instead of in COVID-19 patients there was a correlation between mHLA-DR expression and monocytes (%) ($p = 0.015$ and $r = 0,613$). On the other hand, although a significant difference could not be seen due to the limitation of subjects in this study, immunosuppression could be indicated by the decrease in mHLA-DR expression below the reference value in severe to critical COVID-19 patients.

This study concludes that the results of measuring mHLA-DR expression in COVID-19 patients were lower than healthy individuals due to the presence of SARS-CoV-2 infection which can trigger the production of pro-inflammatory cytokines (IL-6) which can cause decreased expression of mHLA-DR. The results of measuring mHLA-DR expression in COVID-19 patients decreased with the severity of the disease, mHLA-DR expression in COVID-19 patients with severe clinical manifestations was lower than those with moderate clinical manifestations, and mHLA-DR expression in COVID-19 patients with moderate clinical manifestations was lower than those with mild clinical manifestations. mHLA-DR expression in COVID-19 patients is significantly different from healthy subject.

In future research, to see statistical differences in mHLA-DR expression between clinical manifestation groups in COVID-19 and the relationship between mHLA-DR expression and disease severity in COVID-19, it is suggested to group the COVID-19 samples based on their clinical manifestations according to statistical requirements. Periodic measurement of mHLA-DR expression during the patient's treatment period is also necessary to be able to see whether there is a specific decrease in mHLA-DR expression levels in COVID-19 patients and its relationship with the disease prognosis. The examination of additional parameters related to mHLA-DR, such as the pro-inflammatory cytokine IL-6 and CD4⁺ T lymphocytes can be carried out to determine the specific causes of low mHLA-DR expression and its impact on the immune system in COVID-19 patients.

RINGKASAN

Perbandingan Tingkat Ekspresi *Monocyte Human Leukocyte Antigen D-Related* (mHLA-DR) pada Penderita *Coronavirus Disease 2019* (COVID-19) dan Individu Sehat

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa infeksi *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2* (SARS-CoV-2) dapat memicu disregulasi imun dan imunosupresi yang terkait dengan tingkat keparahan penyakit pada penderita *Coronavirus Disease 2019* (COVID-19). Disregulasi respons imun pada penderita COVID-19, beberapa di antaranya dapat dipicu oleh produksi sitokin proinflamasi yang berlebihan. Produksi sitokin pro-inflamasi yang berlebihan ini dapat menyebabkan gangguan presentasi antigen melalui penghambatan ekspresi molekul HLA-DR. Molekul HLA-DR adalah glikoprotein transmembran yang berperan dalam presentasi antigen dan aktivasi sel-T. Tahap presentasi antigen ke limfosit sangat penting untuk mengaktifkan respons imun adaptif dan respons imun yang berkelanjutan untuk membersihkan patogen. mHLA-DR adalah HLA-DR yang diekspresikan pada permukaan monosit. Monosit dianggap sebagai sel kekebalan kunci yang berperan dalam infeksi, serta respons seluler lini pertama yang memulai dan mempromosikan respons imun adaptif. Downregulasi ekspresi permukaan mHLA-DR pada monosit CD14⁺ menandakan keadaan imunosupresi. Peran imunosupresi pada COVID-19 masih belum jelas, selain itu pemantauan disfungsi imun pada penderita COVID-19 masih belum menjadi perhatian penuh karena umumnya tidak dipantau dalam rutinitas klinis selama perawatan pasien. Memahami peran sel imun (mHLA-DR) dalam berbagai gejala klinis COVID-19 sangat penting untuk mengembangkan strategi pengobatan yang efektif. Metode pengukuran ekspresi mHLA-DR merupakan teknik yang cepat dan mudah menggunakan *flow cytometry*. Data mengenai pengukuran ekspresi mHLA-DR pada COVID-19 di Indonesia masih sangat terbatas. Ekspresi mHLA-DR diharapkan menjadi penanda yang dapat diandalkan untuk evaluasi disfungsi imun pada penderita COVID-19 sebagaimana pada kasus sepsis. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis tingkat ekspresi mHLA-DR pada COVID-19 terhadap kejadian imunosupresi dengan membandingkan ekspresi mHLA-DR pada penderita COVID-19 dengan subjek sehat.

Penelitian ini merupakan penelitian observasional analitik dengan desain *cross-sectional* yang menganalisis perbedaan ekspresi mHLA-DR pada sampel darah EDTA dari 34 penderita COVID-19 (22 ringan, 6 sedang, dan 6 berat-kritis) dan 15 individu sehat. Alat yang digunakan untuk mengukur ekspresi mHLA-DR adalah BD FACSLytic™ *Flow Cytometry*. Hasil pemeriksaan mHLA-DR dinyatakan dalam satuan *antibodies bound per cell* (AB/C) yang dikuantifikasi

menggunakan kurva standar yang dibuat dengan Quantibrite beads PE (*phycoerythrin*). Nilai rujukan yang digunakan dalam penelitian ini adalah >15.000 AB/C. Semua data hasil pemeriksaan dianalisis secara statistik menggunakan SPSS versi 26.0.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekspresi mHLA-DR pada penderita COVID-19 sebesar 21.201 [2.646-92.384] AB/C, dengan manifestasi klinis ringan sebesar 40.543,5 [9.797-92.384] AB/C, manifestasi klinis sedang sebesar 21.201 [9.831-31.930] AB/C, dan manifestasi klinis berat-kritis sebesar 7.496 [2.646-13.674] AB/C. Ekspresi mHLA-DR pada individu sehat sebesar 43.161 [25.147-89.846] AB/C. Berdasarkan uji *Mann-Whitney U*, ekspresi mHLA-DR pada penderita COVID-19 berbeda bermakna dengan subjek sehat ($p = 0,010$). Berdasarkan uji korelasi *Spearman*, tidak terdapat hubungan antara ekspresi mHLA-DR dengan monosit (%) pada subjek sehat ($p = 0,663$ dan $r = 0,123$), sebaliknya pada penderita COVID-19 terdapat hubungan antara ekspresi mHLA-DR dengan monosit (%) ($p = 0,015$ dan $r = 0,613$). Di sisi lain, meskipun tidak dapat dilihat perbedaannya secara statistik karena keterbatasan jumlah subjek antar derajat dalam penelitian ini, imunosupresi ditunjukkan dengan penurunan ekspresi mHLA-DR di bawah nilai rujukan pada penderita COVID-19 dengan manifestasi klinis berat-kritis.

Kesimpulan dalam penelitian ini adalah, hasil pengukuran ekspresi mHLA-DR pada penderita COVID-19 lebih rendah dibandingkan individu sehat akibat adanya infeksi SARS-CoV-2 yang dapat memicu produksi sitokin pro-inflamasi (IL-6) yang dapat menyebabkan penurunan ekspresi mHLA-DR. Hasil pengukuran ekspresi mHLA-DR pada penderita COVID-19 semakin rendah seiring dengan derajat keparahan penyakit, ekspresi mHLA-DR pada penderita COVID-19 dengan manifestasi klinis berat lebih rendah dibanding dengan manifestasi klinis sedang, dan ekspresi mHLA-DR pada penderita COVID-19 dengan manifestasi klinis sedang lebih rendah dibanding dengan manifestasi klinis ringan. Ekspresi mHLA-DR pada penderita COVID-19 berbeda bermakna dengan individu sehat.

Pada penelitian selanjutnya, untuk dapat melihat perbedaan ekspresi mHLA-DR antar derajat keparahan pada penderita COVID-19 secara statistik dan hubungan ekspresi mHLA-DR dengan derajat keparahan pada penderita COVID-19, disarankan untuk dapat mengelompokkan sampel COVID-19 berdasarkan manifestasi klinis sesuai persyaratan statistik. Pengukuran Ekspresi mHLA-DR secara periodik selama masa perawatan pasien juga perlu dilakukan untuk dapat melihat apakah terdapat penurunan tingkat ekspresi mHLA-DR secara spesifik pada penderita COVID-19 dan hubungannya dengan prognostik penyakit. Pemeriksaan parameter tambahan yang berhubungan dengan mHLA-DR seperti sitokin pro-inflamasi IL-6 dan limfosit $CD4^+$ dapat dilakukan untuk menentukan penyebab rendahnya ekspresi mHLA-DR dan dampaknya pada sistem imun penderita COVID-19.

ABSTRACT

Background: SARS-CoV-2 can trigger a dysfunctional immune response in COVID-19 patients and lead to immunosuppression. HLA-DR molecule expressed on the surface of monocytes, known as mHLA-DR, has been widely used as a reliable marker of immunosuppression. Downregulation of mHLA-DR reflects an immunosuppressed state. This study aimed to compare the expression level of mHLA-DR between COVID-19 patients and healthy subjects concerning immune system dysregulation that can be triggered by SARS-CoV-2 and lead to immunosuppression. **Methods:** This was an analytic observational study with a cross-sectional design that measured the mHLA-DR expression in EDTA blood samples from 34 COVID-19 patients and 15 healthy subjects using the BD FACSLytic™ Flow Cytometry System. The mHLA-DR examination results were expressed in AB/C (antibodies bound per cell) that were quantified using a standard curve constructed with Quantibrite phycoerythrin beads (BD Biosciences). **Results:** Expression of mHLA-DR in COVID-19 patients (n=34) were 21,201 [2,646-92,384] AB/C, with 40,543.5 [9,797-92,384] AB/C mild cases (n=22), 21,201 [9,831-31,930] AB/C moderate cases (n=6), and 7,496 [2,646-13,674] AB/C severe to critical cases (n=6). Expression of mHLA-DR in healthy subjects (n = 15) was 43,161 [25,147-89,846] AB/C. Based on the Mann-Whitney U test, the mHLA-DR expression in COVID-19 patients significantly differed from the mHLA-DR expression in healthy subjects ($p = 0.010$). **Conclusion:** The level of mHLA-DR expression in COVID-19 patients was lower and significantly different from healthy subjects. Moreover, immunosuppression could be indicated by the decrease of mHLA-DR expression, which was below the reference range found in severe to critically ill COVID-19 patients.

Keywords : COVID-19, Monocyte Human Leukocyte Antigen-D-Related (mHLA-DR), Immunosuppression.

ABSTRAK

Latar belakang: SARS-CoV-2 dapat memicu disfungsi respon imun pada penderita COVID-19 dan dapat menyebabkan imunosupresi. Molekul HLA-DR yang diekspresikan pada permukaan monosit (mHLA-DR) telah banyak digunakan sebagai penanda imunosupresi yang dapat diandalkan. Downregulasi mHLA-DR mencerminkan keadaan imunosupresi. Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan tingkat ekspresi mHLA-DR antara penderita COVID-19 dan subjek sehat terkait disregulasi sistem imun yang dapat dipicu oleh SARS-CoV-2 dan menyebabkan imunosupresi. **Metode:** Penelitian ini merupakan penelitian observasional analitik dengan desain studi cross-sectional yang mengukur ekspresi mHLA-DR dalam sampel darah EDTA dari 34 penderita COVID-19 dan 15 subjek sehat menggunakan BD FACSLyric™ Flow Cytometry System. Hasil pemeriksaan mHLA-DR dinyatakan dalam satuan *antibodies bound per cell* (AB/C) yang dikuantifikasi menggunakan kurva standar yang dibuat dengan Quantibrite Beads PE (*phycoerythrin*) (BD Biosciences). **Hasil:** Ekspresi mHLA-DR pada penderita COVID-19 (n=34) sebesar 21.201 [2.646-92.384] AB/C, dengan manifestasi klinis ringan (n=22) sebesar 40.543,5 [9.797-92.384] AB/C, manifestasi klinis sedang (n=6) sebesar 21.201 [9.831-31.930] AB/C, dan manifestasi klinis berat-kritis (n=6) sebesar 7.496 [2.646-13.674] AB/C. Ekspresi mHLA-DR pada individu sehat (n=15) sebesar 43.161 [25.147-89.846] AB/C. Berdasarkan uji *Mann-Whitney U*, ekspresi mHLA-DR pada penderita COVID-19 berbeda bermakna dengan ekspresi mHLA-DR pada subjek sehat ($p = 0,010$). **Kesimpulan:** Tingkat ekspresi mHLA-DR pada penderita COVID-19 lebih rendah dan berbeda bermakna dengan individu sehat, dan imunosupresi ditunjukkan dengan ekspresi mHLA-DR di bawah nilai rujukan yang ditemukan pada penderita COVID-19 dengan manifestasi klinis berat-kritis.

Kata kunci : COVID-19, *Monocyte Human Leukocyte Antigen-D-Related* (mHLA-DR), Imunosupresi.

DAFTAR ISI

Sampul Depan	
Sampul Dalam	
Lembar Prasyarat Gelar.....	ii
Lembar Pengesahan	iii
Penetapan Panitia Penguji	iv
Pernyataan Tentang Orisinalitas	v
Ucapan Terimakasih.....	vi
<i>Summary</i>	viii
Ringkasan.....	x
<i>Abstract</i>	xii
Abstrak	xiii
Daftar Isi.....	xiv
Daftar Tabel	xvi
Daftar Gambar.....	xvii
Daftar Lampiran.....	xviii
Daftar Singkatan.....	xix
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	5
BAB.2 TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 <i>Coronavirus Disease 2019 (COVID-19)</i>	6
2.1.1 Virologi SARS-CoV-2	6
2.1.2 Transmisi SARS-CoV-2.....	9
2.1.3 Patogenesis dan Replikasi SARS-CoV-2.....	10
2.1.4 Respons Imun Terhadap SARS-CoV-2	13
2.1.5 Klasifikasi Klinis COVID-19.....	15
2.1.6 Pemeriksaan Diagnosis pada COVID-19.....	17
2.2 Monosit	19
2.3 <i>Human Leukocyte Antigen (HLA-DR)</i>	23
2.4 <i>Monocytes Human Leukocyte Antigen-DR (mHLA-DR)</i>	24
2.5 Metode Pengukuran mHLA-DR	26
2.6 Penelitian Lain	29
BAB 3. KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS	31
3.1 Kerangka Konsep.....	31
3.2 Narasi Kerangka Konsep.....	32
3.3 Hipotesis Penelitian.....	34
BAB 4. METODE PENELITIAN	35
4.1 Desain Penelitian.....	35
4.2 Tempat dan Waktu Penelitian	35
4.3 Populasi, Sampel, dan Spesimen Penelitian.....	35
4.3.1 Populasi	35
4.3.2 Sampel	35
4.3.2.1 Kriteria Inklusi	36

4.3.2.1 Kriteria Eksklusi	36
4.3.3 Spesimen	36
4.4 Teknik Sampling dan Besaran Sampel	37
4.5 Variabel Penelitian	37
4.6 Definisi Operasional.....	38
4.7 Instrumen dan Bahan Penelitian.....	40
4.8 Prosedur Pemeriksaan mHLA-DR dengan <i>Flow Cytometry</i>	40
4.8.1 Preparasi Sampel	40
4.8.2 <i>Quality Control</i>	41
4.8.3 Pengukuran Beads PE	42
4.8.4 Pengukuran Ekspresi mHLA-DR.....	43
4.8.5 Prinsip Kerja <i>Flow Cytometry</i>	44
4.9 Pengolahan dan Analisis Data.....	44
4.10 Alur Penelitian	46
BAB 5. HASIL PENELITIAN	47
5.1 Pemantapan Mutu dan Pengukuran Beads PE	47
5.1.1 Pemantapan Mutu.....	47
5.1.2 Pengukuran Beads PE	47
5.2 Karakteristik Subjek Penelitian.....	49
5.3 Hasil Pengukuran Ekspresi mHLA-DR pada Penderita COVID-19 dan Individu Sehat	51
5.4 Analisis Perbedaan Ekspresi mHLA-DR antara Penderita COVID-19 dengan Individu Sehat.....	54
5.5 Analisis Hubungan Ekspresi mHLA-DR dengan Monosit (%) Pada Penderita COVID-19 dan Individu Sehat	55
BAB 6. PEMBAHASAN	57
6.1 Pemantapan Mutu dan Pengukuran Beads PE	57
6.1.1 Pemantapan Mutu.....	57
6.1.2 Pengukuran Beads PE	58
6.2 Karakteristik Subjek Penelitian.....	58
6.3 Hasil Pengukuran Ekspresi mHLA-DR pada Penderita COVID-19 dan Individu Sehat	62
6.4 Analisis Perbedaan Ekspresi mHLA-DR antara Penderita COVID-19 dengan Individu Sehat.....	66
6.5 Analisis Hubungan Ekspresi mHLA-DR dengan Monosit Pada Penderita COVID-19 dan Individu Sehat	68
6.6 Keterbatasan Penelitian.....	69
BAB 7 PENUTUP.....	70
7.1 Kesimpulan	70
7.2 Saran.....	71
DAFTAR PUSTAKA	72
LAMPIRAN	78

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Beberapa Penelitian Tingkat Ekspresi mHLA-DR pada Monosit penderit COVID-19	7
Tabel 4.1 Definisi Operasional Variabel.....	38
Tabel 5.1 Hasil Log dari Molekul PE/beads dan PE Geo Means	48
Tabel 5.2 Data Karakteristik Subjek Penelitian	50
Tabel 5.3 Hasil Pengukuran Ekspresi mHLA-DR pada Penderita COVID-19 dan Individu Sehat.....	52
Tabel 5.4 Analisis Perbedaan Ekspresi mHLA-DR antara Penderita COVID-19 dengan Individu Sehat.....	54
Tabel 5.5 Hasil Analisis Hubungan Ekspresi mHLA-DR dengan Monosit Pada Penderita COVID-19 dan Individu Sehat.....	55

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Struktur Partikel dan Genom Virus SARS-CoV-2.....	29
Gambar 2.2 Skema Siklus Replikasi SARS-CoV-2 pada Sel Inang.....	12
Gambar 2.3 Skema Respons Imun Terhadap Antigen Virus	14
Gambar 2.4 Skema Perjalanan Penyakit COVID-19	15
Gambar 2.5 Skema Alur Diagnosis Laboratoris COVID-19	18
Gambar 2.6 Diferensiasi Stem Sel Menjadi Monosit.....	19
Gambar 2.7 Bagan Subset Monosit pada Manusia	21
Gambar 2.8 Penanda Molekuler dan Fungsi Berbagai Subset Monosit.....	22
Gambar 2.9 Skema Imunosupresi pada Sepsis	24
Gambar 2.10 Ekspresi mHLA-DR pada Penderita COVID-19	26
Gambar 3.1 Kerangka Konseptual	31
Gambar 4.1 Alur Penelitian.....	46
Gambar 5.1 Kurva Standar dan Persamaan Garis Regresi Linier	48
Gambar 5.2 <i>Gating Strategy</i> FACSLytic <i>Flow Cytometry</i>	53
Gambar 5.3 Perbedaan Ekspresi mHLA-DR antara Kelompok COVID-19 dan Kelompok Sehat	55

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Sertifikat Layak Etik.....	78
Lampiran 2. Surat Izin Penelitian di IP3RPM RSUD Dr. Soetomo Surabaya.....	79
Lampiran 3. Surat Izin Penelitian di Litbang Laboratorium Patologi Klinik Gedung Diagnostik Terpadu RSUD Dr. Soetomo Surabaya	80
Lampiran 4. Lembar <i>Information For Consent</i>	81
Lampiran 5. Lembar <i>Informed Consent</i>	86
Lampiran 6. Data Hasil Pemeriksaan mHLA-DR Penderita COVID-19 dan Individu Sehat	87
Lampiran 7. Analisis Statistik Ekspresi mHLA-DR Penderita COVID-19 dan Individu Sehat1	88
Lampiran 8. Hasil Quality Control dengan BD CS&T Beads	91
Lampiran 9. Dokumentasi Pemeriksaan Ekspresi mHLA-DR	93
Lampiran 10. Perhitungan AB/C dengan BD Quantibrite Beads PE.....	96
Lampiran 11. Hasil Pengukuran BD Quantibrite Beads PE dengan <i>Flow Cytometry</i>	97
Lampiran 12. Hasil Pengukuran Ekspresi mHLA-DR Penderita COVID-19 dengan <i>Flow Cytometry</i>	98
Lampiran 13. Hasil Pengukuran Ekspresi mHLA-DR Individu Sehat	117

DAFTAR SINGKATAN

3CLPro	: <i>3C-like proteinase</i>
AB/C	: <i>Antibodies Bound Per Cell</i>
ACE-2	: <i>Angiotensin-Coverting Enzyme 2</i>
APC	: <i>Antigen Presenting Cell</i>
ARDS	: <i>Acute Respiratory Distress Syndrome</i>
BTLA	: <i>B And T Lymphocyte Attenuator</i>
CM	: <i>Classical Monocytes</i>
COVID-19	: <i>Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2</i>
CTLA-4	: <i>Cytotoxic T-Lymphocyte Antigen 4</i>
DPJP	: <i>Dokter Penanggung Jawab Pasien</i>
FACS	: <i>Fluorescence Activated Cell Sorter</i>
FL	: <i>Fusion Loop</i>
FSC	: <i>Forward Scatter</i>
GPI	: <i>Glycosylphosphatidylinositol</i>
hCDP	: <i>Human Cell Dendritic Precursor</i>
Hel	: <i>Helicase</i>
HLA	: <i>Human Leucocyte Antigen</i>
hMDP	: <i>Human-Monocyte-Dendritic Progenitor</i>
HR	: <i>Heptad Repeat</i>
IL	: <i>Interleukin</i>
IM	: <i>Intermediate Monocytes</i>
MFI	: <i>Mean Fluorescent Intensity</i>
mHLA-DR	: <i>Monocytes Human Leukocyte Antigen-D Relate</i>
NAAT	: <i>Nucleic Acid Amplification Test</i>
NCM	: <i>Non-Classical Monocytes</i>
NTD	: <i>N-Terminal Domain</i>
ORF	: <i>Open Reading Frame</i>
PD-1	: <i>Programmed Death 1</i>
Plpro	: <i>Papain Like Protease</i>

RBD	: <i>Receptor-Binding Domain</i>
RdRp	: <i>RNA-dependent RNA polymerase</i>
RE	: <i>Retikulum Endoplasma</i>
SD	: <i>Subdomain</i>
SLAN	: <i>6-sulfo Lacnac</i>
SSC	: <i>Side Scatter</i>
STAT3	: <i>Signal Transducer And Activator of Transcription 3</i>
TCR	: <i>T-Cell-Receptor</i>
TM	: <i>Transmembrane Domain</i>
TMPRSS2	: <i>Transmembran Protease Serine 2</i>
TNF	: <i>Tumor necrosis factor</i>
WHO	: <i>World health organization</i>