



**PERBANDINGAN TINGKAT KESESUAIAN ANTARA SPESIMEN SWAB  
HIDUNG DAN SWAB TENGGOROK UNTUK MENDETEKSI VIRUS  
INFLUENZA A DENGAN METODE *REVERSE TRANSCRIPTASE  
POLYMERASE CHAIN REACTION* (RT-PCR)**

**REVISI ARTIKEL KARYA TULIS ILMIAH**

Diajukan untuk memenuhi tugas dan melengkapi syarat  
menempuh Program Pendidikan Sarjana  
Fakultas Kedokteran

**Oleh:**

**Ika Maharani**

**G2A 004 078**

**FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS DIPONEGORO  
SEMARANG**

**2008**

## HALAMAN PENGESAHAN

Artikel Ilmiah

**PERBANDINGAN TINGKAT KESESUAIAN ANTARA SPESIMEN SWAB  
HIDUNG DAN SWAB TENGGOROK UNTUK MENDETEKSI VIRUS  
INFLUENZA A DENGAN METODE *REVERSE TRANSCRIPTASE  
POLYMERASE CHAIN REACTION (RT-PCR)***

yang disusun oleh:

Ika Maharani

G2A 004 078

telah dipertahankan dihadapan Tim Penguji Artikel Ilmiah Fakultas Kedokteran  
Universitas Diponegoro pada tanggal 26 Agustus 2008 dan telah diperbaiki sesuai  
dengan saran-saran yang diberikan.

### TIM PENGUJI ARTIKEL

Pembimbing pendamping,

dr. Helmia Farida, M.Kes, Sp.A  
NIP. 132 296 247

Ketua Penguji,

dr. Noor Wijayahadi, M.Kes, Ph.D  
NIP. 132 149 104

Pembimbing,

dr. Purnomo Hadi, M.Si  
NIP. 131 803 126

Penguji,

dr. Bambang Isbandrio, Sp.MK  
NIP. 130 530 276

## **Perbandingan Tingkat Kesesuaian antara Spesimen Swab Hidung dan Swab Tenggorok untuk Mendeteksi Virus Influenza A dengan Metode *Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR)**

Ika Maharani<sup>1</sup>, Purnomo Hadi<sup>2</sup>, Helmia Farida<sup>2</sup>

### **Abstrak**

**Latar Belakang:** Dalam upaya untuk menegakkan diagnosis influenza secara cepat dan akurat, diperlukan suatu metode dan jenis spesimen yang baik. Swab tenggorok dan swab hidung merupakan spesimen yang sering digunakan dalam aplikasi klinik. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kesesuaian hasil pemeriksaan dengan metode RT-PCR antara spesimen swab tenggorok dan swab hidung dalam mendeteksi virus influenza A.

**Metode:** Penelitian cross-sectional ini menggunakan sampel berupa swab hidung dan swab tenggorok penderita *Influenza Like Illness* (ILI) di Cirebon, Malang, Boyolali, dan Solo yang dikirimkan ke Laboratorium Regional Avian Influenza Semarang periode September 2007-Mei 2008. Pemeriksaan influenza A menggunakan metode RT-PCR, dinyatakan positif bila nilai  $C_T$  20-40 dan kurva amplifikasinya bagus. Analisis data menggunakan *SPSS 15.0 for Windows* dengan uji kesesuaian Kappa.

**Hasil:** Dari 446 sampel yang digunakan, 93 sampel swab tenggorok (20,9%) positif influenza A, dan 92 sampel (20,6%) positif pada spesimen swab hidung. Pada analisa data menggunakan uji kesesuaian didapatkan nilai Kappa sebesar 0,298.

**Kesimpulan:** Tidak didapatkan tingkat kesesuaian yang cukup antara spesimen swab hidung dan swab tenggorok untuk dijadikan rekomendasi penggunaan salah satu spesimen sebagai sampel tunggal. Keduanya tidak bersifat substitutif, tetapi hanya komplementer.

**Kata Kunci:** Virus influenza A, Swab tenggorok, Swab hidung, RT-PCR

<sup>1</sup>Mahasiswa semester VIII Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro

<sup>2</sup>Staff Pengajar Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro

***Comparison of Agreement Level Between Nasal Swab and Throat Swab Specimens for Detection of Influenza A Virus by Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) Method***

Ika Maharani<sup>1</sup>, Purnomo Hadi<sup>2</sup>, Helmia Farida<sup>2</sup>

***Abstract***

***Background:*** In the purpose of diagnosing influenza rapidly and accurately, both good method and specimen type are required. Throat swab and nasal swab are the most frequent specimens used in clinical application. The objective of this study is to find out the agreement level between nasal swab and throat swab specimens for detection of influenza A virus by RT-PCR method.

***Methods:*** This cross-sectional study assessed nasal and throat swab sample from Influenza Like Illness (ILI) patients in Cirebon, Malang, Boyolali, and Solo which came to Regional Laboratory of Avian Influenza Semarang in the period of September 2007 to May 2008. Influenza A virus detected by RT-PCR method has a positive result if the value of  $C_T$  ranged between 20-40 and the amplification curve reveals a good slope. Data were analyzed by Kappa agreement test using SPSS 15.0 for Windows.

***Results:*** From 446 samples, 93 samples of throat swab (20.9%) and 92 samples of nasal swab (20.6%) were influenza A positive. The value of Kappa was 0.298.

***Conclusion:*** There is inadequate agreement level between nasal and throat swab specimen to be a base for recommending the use of one specimen as a single sample. The specimens can not substitute each other, but both specimens are complementary.

***Keywords:*** Influenza A virus, Throat swab, Nasal swab, RT-PCR

<sup>1</sup> Undergraduate student of Medical Faculty of Diponegoro University

<sup>2</sup> Teacher Staff of Microbiology Departement of Medical Faculty of Diponegoro University

## PENDAHULUAN

Influenza masih menjadi masalah yang menjadi perhatian masyarakat dunia, termasuk Indonesia, karena insidensinya tinggi dan kemungkinan menjadi pandemi yang menyebabkan kematian banyak orang. Setiap tahunnya dapat ditemukan sekitar 3-5 juta kasus infeksi berat dan 300.000-500.000 kematian pada kasus epidemik influenza. Penularan yang sangat cepat juga dikaitkan dengan masa inkubasinya yang relatif pendek, yaitu berkisar antara 1-5 hari, dan cara penularannya yang sangat mudah melalui droplet pada saat penderita batuk, bersin, maupun berbicara.<sup>1</sup>

Virus influenza A lebih berpotensi menjadi wabah daripada jenis virus influenza lainnya, dan biasanya menimbulkan gejala yang lebih serius.<sup>2</sup> Hal ini dihubungkan dengan adanya sifat *antigenic shift* (pergeseran genetik) dan *antigenic drift* (mutasi titik).<sup>3</sup>

Karena kemungkinan menjadi pandemi influenza A yang besar dan kondisi darurat pasien, dibutuhkan suatu teknik diagnostik yang cepat serta mempunyai sensitifitas dan spesifitas tinggi. *Polimerase Chain Reaction* (PCR) memungkinkan pelipatgandaan segmen DNA dalam tabung dengan bantuan enzim DNA polimerase. *Reverse Transcriptase PCR* (RT-PCR) merupakan suatu metode dengan prinsip kerja PCR dan menggunakan enzim *reverse transcriptase* yang mampu mengubah partikel RNA menjadi cDNA, sehingga dengan mudah dapat mendeteksi genom virus-virus RNA seperti virus influenza.<sup>4</sup> Teknik ini memiliki sensitifitas dan spesifisitas yang cukup tinggi, yaitu 95-100% dan 93-98% pada beberapa penelitian.<sup>3</sup> Jika dibandingkan dengan metode kultur, teknik

ini memiliki sensitifitas yang hampir sama, tetapi membutuhkan waktu yang lebih singkat.<sup>4</sup>

Untuk mendapatkan suatu hasil diagnostik yang cepat, tepat, dan akurat, diperlukan jenis spesimen yang tepat dan mempunyai probabilitas tinggi pula. Untuk mendeteksi virus influenza, jenis spesimen yang bisa digunakan adalah swab tenggorok dan nasal, bilasan nasofaring, aspirat sputum, cairan pleura, bilasan trakeal, dan bilasan bronkoalveolus.<sup>3</sup> Namun pada penggunaan praktis yang sering digunakan adalah swab tenggorok dan swab hidung.<sup>2</sup> Swab tenggorok diambil pada daerah posterior faring dan permukaan tonsil. Sedangkan swab hidung diambil pada mukosa daerah hidung. Penelitian Kristi dkk menemukan bahwa swab nasofaring lebih akurat daripada swab tenggorok untuk metode kultur influenza.<sup>5</sup>

Dalam kenyataannya, pada umumnya di laboratorium swab yang diperiksa dari tiap pasien adalah swab hidung dan swab tenggorok, dan kedua-duanya dilakukan pemeriksaan PCR. Hal ini dapat menyebabkan pemborosan reagen, biaya, dan waktu, dan tenaga, dan hingga saat ini belum ada penelitian tentang sensitifitas swab hidung dan swab tenggorok sebagai spesimen pada kasus influenza dengan metode RT-PCR.

Berdasarkan latar belakang di atas, maka rumusan masalah dari penelitian ini adalah seberapa jauh tingkat kesesuaian (*agreement*) hasil pemeriksaan spesimen swab tenggorok dan swab hidung untuk mendeteksi virus influenza A dengan metode *Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR).

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui perbandingan kesesuaian hasil pemeriksaan dengan metode *Reverse Transcriptase Polimerase Chain Reaction* (RT-PCR) antara spesimen swab tenggorok dan swab hidung dalam mendeteksi virus influenza A.

## **METODE PENELITIAN**

Penelitian uji diagnostik dengan pendekatan *cross sectional* ini dilakukan di Laboratorium Regional Avian Influenza dan Mikrobiologi Molekuler Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro. Sampel berupa spesimen swab tenggorok dan swab hidung yang berasal dari penderita *Influenza Like Illness* (ILI) di daerah Cirebon, Solo, Boyolali, dan Malang yang dikirim ke Laboratorium Regional Avian Influenza dan Mikrobiologi Molekuler Fakultas Kedokteran Undip pada bulan September 2007- Mei 2008, berdasarkan kriteria inklusi (spesimen memenuhi syarat untuk dilakukan pemeriksaan RT-PCR: kemasan utuh, tidak retak/pecah, volumenya mencukupi), dan kriteria eksklusi (sampel hanya 1 macam/tidak lengkap).

Data berupa data primer dari pengukuran di laboratorium menggunakan metode RT-PCR. Spesimen yang diterima pertama-tama dilakukan aliquot, kemudian sebanyak 140 µl diambil untuk dilakukan ekstraksi dengan tujuan mendapatkan RNA virus murni. Setelah RNA didapat, dilakukan pencampuran dengan reagen *RT-PCR Master Mix* ke dalam plate *96 well*, dan dimasukkan ke dalam mesin *Real Time Thermal Cycler*.

Penilaian hasil amplifikasi dengan Real Time RT-PCR dilihat berdasarkan nilai *cycle threshold* dan kurva amplifikasinya. Dikatakan positif influenza A

apabila didapatkan nilai *cycle threshold* ( $C_T$ ) antara 20-40 dan kurva amplifikasinya meningkat tajam dan bentuknya bagus.

Data yang dikumpulkan kemudian diperiksa (*editing*), diberi kode (*coding*), dan diolah dengan menggunakan computer *SPSS 15.0 for Windows*, kemudian diuji dengan uji kesesuaian Kappa.

## **HASIL**

Pada pemeriksaan yang dilakukan di Laboratorium Regional Avian Influenza dan Mikrobiologi Molekuler Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro periode September 2007- Mei 2008 didapatkan jumlah sampel yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi sebanyak 446 orang. Hari rata-rata pengambilan spesimen adalah 3,18 dihitung sejak hari pertama sakit. Sebanyak 48,11% diambil pada 1-2 hari pertama, 48,34 % diambil pada hari ke 3-7, dan sebanyak 3,53% diambil setelah lebih dari satu minggu. Frekuensi terbanyak diambil pada hari ke-2 (44,81%).

Untuk jenis spesimen swab tenggorok, pemeriksaan dengan RT-PCR didapatkan hasil 92 sampel (20,6%) positif influenza A dengan nilai  $C_T$  berkisar antara 20-40 dan menunjukkan kurva amplifikasinya bagus. Sedangkan sebanyak 353 sampel (79,1%) didapatkan hasil yang negatif (tabel 1), yaitu nilai  $C_T$  dan kurva amplifikasinya tidak memenuhi syarat.



**Tabel 1.** Hasil pemeriksaan spesimen swab tenggorok dan swab hidung dengan metode RT-PCR

Swab tenggorok	Swab Hidung		Jumlah
	Influenza A (+)	Influenza A (-)	
Influenza A (+)	41	52	93
Influenza A (-)	51	302	353
Jumlah	92	354	446

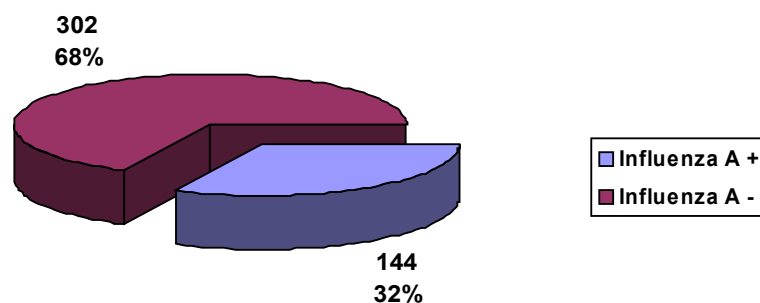
Nilai Kappa : 0,298

Pada pemeriksaan spesimen swab hidung, didapatkan sebanyak 92 sampel (20,6%) positif influenza A, sedangkan 334 sampel (79,4%) memperlihatkan hasil yang negatif (tabel 1).

Pada pemeriksaan dari kedua jenis spesimen tersebut, terjadi perbedaan hasil dimana 52 sampel positif pada pemeriksaan swab tenggorok ternyata dinyatakan negatif pada pemeriksaan swab hidung, juga didapatkan perbedaan hasil dimana sebanyak 51 sampel negatif pada spesimen swab tenggorok ternyata dinyatakan positif pada spesimen swab hidung. Sehingga dari kedua pemeriksaan ini didapatkan hasil yang sesuai dari kedua jenis spesimen adalah sebanyak 41 sampel positif terdeteksi virus influenza A (positif pada swab tenggorok dan swab hidung) dan sebanyak 302 sampel dinyatakan negatif influenza A.

Apabila kedua jenis spesimen tersebut dikombinasikan, maka jumlah sampel yang positif influenza A akan bertambah (diagram 1).

**Diagram 1.** Jumlah keseluruhan sampel influenza A (+)



## PEMBAHASAN

Dengan menggunakan program SPSS 15.0 perhitungan dilakukan secara otomatis dan didapatkan hasil Kappa sebesar 0,298. Hal ini berarti tingkat kesesuaian antara spesimen swab tenggorok dan swab hidung rendah /kurang. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa pada pemeriksaan virus influenza A dengan metode RT-PCR, kedua jenis spesimen tersebut tidak bersifat substitutif (dapat saling menggantikan), tetapi sifatnya saling melengkapi. Oleh karena itu sebaiknya tetap digunakan 2 jenis sampel untuk meningkatkan akurasi dan sensitifitas pemeriksaan.

Dari data di atas terlihat adanya perbedaan hasil antara pemeriksaan pada spesimen swab tenggorok dan swab hidung. Pada hasil yang negatif pada pemeriksaan swab tenggorok namun dinyatakan positif pada pemeriksaan swab hidung kemungkinan disebabkan karena pada spesimen usapan maupun bilasan tenggorok biasanya mengandung konsentrasi virus yang lebih sedikit daripada sampel dari hidung.<sup>6</sup>

Teknik pengambilan sampel juga sangat mempengaruhi hasil pemeriksaan. Hasil yang negatif salah satunya bisa disebabkan oleh teknik pengambilan sampel yang salah maupun karena pasien tidak kooperatif (terutama pada anak-anak). Spesimen dari swab yang valid adalah spesimen yang pada pemeriksaan RT-PCR didapatkan RWP *gene* dan B-*active gene*, artinya swab tersebut harus disertai dengan epitel dimana swab tersebut diambil. Alat swab yang benar menggunakan bahan dakron, dan tidak diperbolehkan menggunakan bahan-bahan organik seperti kapas atau kayu, karena dapat mempengaruhi hasil PCR.<sup>7</sup>

Dari data di atas, dimana jumlah sampel positif pada swab hidung lebih sedikit dari swab tenggorok kemungkinan juga dapat disebabkan pengambilan sampel yang tidak adekuat, yaitu kurangnya teknik penekanan saat melakukan swab sehingga tidak mengenai epitel.

Faktor lain yang turut mempengaruhi pemeriksaan adalah waktu pengambilan sampel. Setelah terhirup, virus akan bereplikasi di epitel kolumner pada saluran nafas atas dan bawah. Pada mukosa saluran pernapasan terdapat mukoprotein yang mengandung NANA sebagai bagian dari struktur karbohidratnya. Protein HA akan terikat pada molekul tersebut karena di sana terdapat reseptor spesifik untuk virus influenza.<sup>8</sup> Virus dapat dideteksi 24 jam sebelum onset gejala dan mencapai puncak 24-48 jam setelah onset gejala.<sup>8,9</sup> Setelah itu titer virus akan semakin menurun dan akan mengalami penyembuhan kurang lebih dalam waktu 1 minggu.<sup>8</sup> Oleh karena itu sampel sebaiknya diambil segera setelah onset gejala, karena apabila terlalu lama dapat menurunkan viral load. Pada penelitian ini didapat rata-rata pengambilan spesimen adalah 3,18 hari dihitung sejak gejala timbul. Frekuensi terbanyak diambil pada hari ke-2. Hal ini masih bisa dianggap valid untuk waktu pengambilan spesimen. Namun, ada beberapa spesimen yang baru diambil setelah lebih dari satu minggu. Hal ini dapat menurunkan sensitifitas pemeriksaan.

## **KESIMPULAN**

Mengacu pada hasil dan analisis data, maka pada penelitian ini dapat ditarik kesimpulan :

1. Terdapat kesesuaian yang rendah pada pemeriksaan virus influenza A pada spesimen swab tenggorok dan swab hidung dengan metode RT-PCR.
2. Spesimen swab hidung dan swab tenggorok tidak memiliki keandalan yang cukup untuk digunakan sebagai spesimen tunggal dalam diagnosis influenza A dengan metode RT-PCR.

## **SARAN**

Berdasarkan hasil penelitian ini, maka saran dari penulis adalah :

1. Spesimen swab hidung dan swab tenggorok tidak memiliki keandalan yang cukup untuk saling menggantikan (keduanya tidak bersifat substitutif, tetapi komplementer). Jadi, pada pemeriksaan virus influenza A dengan metode RT-PCR sebaiknya digunakan dua macam sampel yang berbeda untuk meningkatkan keakuratannya.
2. Diperlukan penelitian yang lebih lanjut tentang penilaian kualitas spesimen pemeriksaan, misalnya dapat dilihat dari jumlah sel epitel.
3. Perlu disosialisasikan penggunaan alat swab berbahan dakron dan perlunya teknik penekanan dalam pengambilan swab untuk meningkatkan jumlah epitel.

## **UCAPAN TERIMA KASIH**

Puji syukur penulis ucapkan kepada Tuhan Yang Maha Esa dan terima kasih kepada dr. Purnomo Hadi, M.Si selaku pembimbing atas segala bimbingan dan kemudahan yang telah diberikan, dr. Helmia Farida, M.Kes, Sp.A selaku konsultan statistik yang telah banyak membantu dalam penyusunan karya tulis ilmiah ini, Ibu Irma yang banyak membantu dalam hal teknis di laboratorium, Kepala Bagian dan seluruh Staf Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, *reviewer* proposal dan para dosen penguji, serta seluruh keluarga dan teman-teman atas dukungannya setiap saat sehingga Karya Tulis Ilmiah ini dapat diselesaikan dengan lancar.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Kamps BS, Teran GR. Influenza report 2006. [on line]. 2006 [cited on 2008 Jan 31]. Available from:  
URL: <http://www.influenzareport.com/ir/authors/reyes.htm>
2. Henry JB. Clinical diagnosis and management by laboratory methods. 19<sup>th</sup> ed. Philadelphia: WB Saunders; 1996. p. 1092-96,1350-1.
3. Mulyadi B, Prihatini. Diagnosis laboratorik flu burung (H5N1). Indonesian Journal of Clinical Pathology and Medical Laboratory 2005 Mar;12(2):71-81
4. Ellis JS, Brown DWG. PCR for the detection of influenza viruses in clinical material. In: Stephenson JR, Warnes A, editors. Diagnostic Virology Protocols. New Jersey: Humana Press;1998.p. 119-27.
5. Covalciuc KA, Webb KH, Carlson CA. Comparison of four clinical specimen types for detection of influenza A and B viruses by optical immunoassay (FLU OIA test) and cell culture methods. J Clin Microbiol 1999 Des;37(12):3971-4
6. Hayden FG, Palese P. Influenza virus. In: Richman DD, Whitley RJ, Hayden FG, editors. Clinical Virology. 2<sup>nd</sup> ed. Washington DC: ASM Press; 2002.
7. Departemen Kesehatan, Departemen Pertanian, WHO Indonesia. Pedoman surveilans epidemiologi avian influenza integrasi di indonesia. 2<sup>nd</sup> ed;2006.
8. Evans SA. Viral infection of humans: epidemiology and control. 3<sup>rd</sup> ed. New York: Plenum Medical Book Company; 1996.p. 434.
9. Tamura S, Kurata T. Defense mechanism against influenza virus infection in the respiratory tract mucosa. Jpn J Infect Dis 2004 Des;57(6): 236-47