

## ANALISIS HASIL PEMERIKSAAN SARS-CoV-2 METODE RT-PCR di LABORATORIUM DAN RUMAH SAKIT RUJUKAN PALEMBANG

### *RT-PCR TEST RESULT ANALYSIS OF SARS-CoV-2 FROM REFERRAL LABORATORY AND HOSPITAL IN PALEMBANG*

Anton Syailendra<sup>1</sup>, Dian Adhe Bianggo NauE<sup>1</sup>, Muhammad Ihsan Tarmizi<sup>1</sup>, Sagita  
Kesuma Dewi<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Poltekkes Kemenkes Palembang

<sup>2</sup>Rumah Sakit PUSRI Medika Palembang

(email korespondensi: antonsyailendra@poltekkespalembang.ac.id)

#### ABSTRAK

**Latar Belakang:** Penyebaran *Corona Virus Disease-19* (COVID-19) yang akibatkan oleh virus corona SARS-CoV-2 di dunia meningkat sangat cepat sehingga World Health Organization (WHO) mengumumkan kondisi ini sebagai pandemi. Metode pemeriksaan SARS-CoV-2 yang direkomendasikan WHO adalah amplifikasi asam nukleat dengan *reverse transcription polymerase chain reaction* (RT-PCR), sebuah metode yang memiliki sensitivitas dan spesifisitas tinggi. Hasil pemeriksaan dengan metode ini adalah nilai ambang (*Cycle threshold*) yang nantinya dibandingkan dengan nilai pembanding positif. Hingga saat ini belum ada standarisasi untuk menentukan ambang minimal (*Cycle threshold*) pemeriksaan apakah bernilai positif atau negatif pada tiap-tiap host. Tiap-tiap produsen reagen kit terkadang memiliki batas ambang nilai Ct yang berbeda sehingga interpretasi menjadi subjektif hanya berpatokan dengan kit yang dipakai. Ini menjadi hal yang perlu diteliti mengingat tidak semua laboratorium pengujian SARS-CoV-2 menggunakan kit reagen yang sama.

**Metode:** Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif analitik dengan pendekatan analisis data sekunder. Data yang dikumpulkan adalah nilai *Cycle threshold* (Ct) hasil pemeriksaan SARS-CoV-2 dengan metode RT-PCR di tiga lokasi yaitu Balai Besar Laboratorium Kesehatan Palembang, RS Pusri dan RS. Siti Fatimah Palembang.

**Hasil:** Periode September-November 2020 terdapat 6.366 sampel positif SARS-CoV-2 dari 50.950 sampel (12,49%); jenis RT-PCR yang dilakukan semuanya memakai teknik multiplex RT-PCR dengan dua gen target yaitu kombinasi antara RdRp dan N, RdRp dan E, RdRp dan ORF1ab. Rata-rata nilai Ct hasil pemeriksaan positif untuk gen target ORF1ab, RdRp, N dan E berturut-turut adalah: 30,33; 28,44; 28,90 dan 27,84.

**Kata kunci :** Analisis hasil pemeriksaan, sars-cov2, rt-pcr

#### ABSTRACT

**Background:** The spread of Corona Virus Disease-19 (COVID-19) caused by the SARS-CoV-2 coronavirus in the world is increasing so rapidly leads to the World Health Organization (WHO) announced the condition as a pandemic. The recommended test for SARS-CoV-2 is real-time reverse-transcription polymerase chain reaction (PRC), a method with high sensitivity and specificity. The outcome of the assay is the cycle threshold (Ct) value of the sample compared with a reference Ct value. However, there has been no standardization to determine threshold (Cycle threshold), the cycle number at which the fluorescence generated within a reaction crosses the fluorescence threshold, a fluorescent signal significantly above the background fluorescence, on different hosts. Each manufacturer

of this method's reagent kit may vary at the threshold value so that the interpretation becomes subjective only to the kit's used. By considering that not all SARS-CoV-2 testing laboratories use the same reagent kit, we would like to study the Ct value of SARS-CoV-2 assay

**Methods:** This research is an analytical descriptive study with a secondary data analysis approach. The data collected was the Cycle threshold (Ct) value of SARS-CoV-2 assay with RT-PCR method from Health Laboratory Center of Palembang (BBLK), PUSRI Hospital and Siti Fatimah Hospital. **Results:** during September-November 2020 there were 6,366 SARS-CoV-2 positive samples from 50,950 samples (12.49%); the RT-PCR type were multiplex techniques with two target genes, a combination of RdRP and N, RdRP and E, RdRP and ORF1ab. The average of Cycle threshold (Ct) value from positive test results for the target genes ORF1ab, RdRP, N and E were: 30.33; 28.44; 28.90 and 27.84 respectively. **Keywords:** *Test result analysis, RT-PCR, SARS-CoV-2*

## PENDAHULUAN

Kasus pneumonia misterius terjadi di Wuhan Provinsi Hubei awal November 2019. Sumber penularan kasus ini belum diketahui pasti ketika itu, tetapi kasus pertama dikaitkan dengan pasar ikan di Wuhan (Rothan & Byrareddy, 2020). Sampel yang diteliti menunjukkan etiologi coronavirus baru (Ren et al., 2020). Awalnya, penyakit ini dinamakan sementara sebagai 2019 novel coronavirus (2019-nCoV), kemudian WHO mengumumkan nama baru pada 11 Februari 2020 yaitu *Coronavirus Disease* (COVID-19) yang disebabkan oleh virus *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2* (SARS-CoV-2) (World Health Organization, 2020). Virus ini dapat ditularkan dari manusia ke manusia dan telah menyebar secara luas di lebih dari 190 negara. Tanggal 12 Maret 2020, WHO mengumumkan COVID-19 sebagai pandemik. Sampai dengan 20 september 2020, terdapat 27,6 juta kasus dengan 898.000 jumlah kematian

di seluruh dunia. Sementara di Indonesia sudah tercatat 244 ribu kasus positif COVID-19 dengan 9.553 kasus kematian (Satuan Tugas Penanganan COVID-19, 2020).

Coronavirus adalah virus golongan RNA dengan ukuran partikel 120-160 nanometer. Virus ini utamanya menginfeksi hewan, termasuk di antaranya adalah kelelawar dan unta. Sebelum terjadinya wabah COVID-19, ada 6 jenis coronavirus yang dapat menginfeksi manusia, yaitu alphacoronavirus 229E, alphacoronavirus NL63, betacoronavirus OC43, betacoronavirus HKU1, *Severe Acute Respiratory Illness Coronavirus* (SARS-CoV), dan *Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus* (MERS-CoV) (Riedel S, 2019). Coronavirus yang menjadi penyebab COVID-19 termasuk dalam genus betacoronavirus. Hasil analisis filogenetik menunjukkan bahwa virus ini masuk dalam subgenus yang sama dengan coronavirus yang menyebabkan wabah SARS pada 2002-2004, yaitu Sarbecovirus (Zhu et al., 2020).

Atas dasar ini, *International Committee on Taxonomy of Viruses* mengajukan nama SARS-CoV-2 (Gorbalenya et al., 2020)

Saat ini WHO merekomendasikan pemeriksaan SARS-CoV-2 secara molekuler untuk seluruh pasien yang termasuk dalam kategori suspek. Pemeriksaan pada individu yang tidak memenuhi kriteria suspek atau asimtomatis juga boleh dikerjakan dengan mempertimbangkan aspek epidemiologi, protokol skrining setempat, dan ketersediaan alat. Metode yang dianjurkan untuk deteksi virus adalah amplifikasi asam nukleat dengan *real-time reversetranscription polymerase chain reaction* (rRT-PCR) dan dengan sequencing. Sampel dikatakan positif (konfirmasi SARS-CoV-2) bila rRT-PCR positif pada minimal dua target genom (N, E, S, atau RdRP) yang spesifik SARS-CoV-2; ATAU rRT-PCR positif betacoronavirus, ditunjang dengan hasil sequencing sebagian atau seluruh genom virus yang sesuai dengan SARS-CoV-2 (World Health Organization, 2020).

Pemeriksaan secara molekuler melalui metode single step dan multiplex reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR) merupakan teknik yang mempunyai banyak kelebihan bila dibandingkan dengan metode-metode PCR lainnya. Metode ini lebih sederhana, murah, sangat spesifik, dan dapat mengurangi risiko kontaminasi silang di antara isolat uji serta tidak memerlukan

waktu yang lama karena dapat mengamplifikasi beberapa gen dari isolat yang diuji secara sekaligus. Metode single step multiplex RT-PCR ini sangat tepat bila digunakan di laboratorium-laboratorium diagnostik untuk meminimalkan biaya operasional laboratorium dan dapat diperoleh hasil dalam waktu yang singkat (Payungporn et al., 2004).

Hasil pemeriksaan RT-PCR dinyatakan positif bila terdapat akumulasi sinyal fluoresensi dari sekian kali siklus amplifikasi (*cycle*) hingga melewati batas ambangnya (*threshold*), dikenal dengan istilah *cycle threshold* (Ct). Nilai Ct adalah jumlah siklus yang dibutuhkan sampai sinyal fluoresens melewati ambang (*threshold*). Nilai Ct secara proporsional berbanding terbalik dengan jumlah asam nukleat di dalam sampel, artinya semakin rendah nilai Ct maka semakin banyak asam nukleat yang terdeteksi di dalam sampel (PAMKI, 2020)

Reagensia (kit) pemeriksaan SARS-CoV-2 dengan metode RT-PCR cukup banyak tersedia di pasaran. Namun, tiap-tiap kit tersebut seringkali memiliki 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. Ketersediaan reagensia yang saat ini bervariasi dan belum adanya standarisasi antar produk reagensia terkait ambang batas

viral load pada host yang berbeda-beda mempersulit pemahaman tentang nilai Ct ini dan kemungkinan menimbulkan penafsiran yang berbeda ketika dua produk reagen memiliki nilai ambang Ct yang berbeda pula (PAMKI, 2020)

## BAHAN DAN METODE

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif analitik dengan pendekatan analisis data sekunder. Analisis data sekunder adalah analisis lebih lanjut himpunan data yang sudah ada yang memunculkan tafsiran, simpulan atau

pengetahuan sebagai tambahan terhadap, atau yang berbeda dari apa yang telah disajikan dalam keseluruhan dan temuan utama penelitian terdahulu atau semula. Data yang dikumpulkan adalah data hasil pemeriksaan SARS-CoV-2 dengan metode RT-PCR di tiga lokasi yaitu Balai Besar Laboratorium Kesehatan Palembang, Rumah Sakit Pusri Medika dan Rumah Sakit Umum Daerah Siti Fatimah Provinsi Sumatera Selatan Palembang. Pengumpulan data dimulai pada bulan September s.d. November 2020. Data tersebut selanjutnya akan dianalisis disajikan dalam bentuk tabel distribusi statistika dan distribusi frekuensi.

## HASIL

**Tabel 1. Distribusi Frekuensi Hasil Pemeriksaan RT-PCR SARS-CoV-2 September-November 2020**

Lokasi	Jumlah	Hasil (+)	Hasil (-)
RSUD Siti Fatimah	1087	116	971
RS PUSRI Medika	6194	777	5417
BBLK	43669	5473	38196
Total	50950	6366 (12,49%)	44584 (87,51%)

Berdasarkan data pada tabel 1 diketahui bahwa dari total 50.950 sampel pemeriksaan RT-PCR SARS-CoV-2 selama bulan september-november 2020 terdapat 6366 sampel (12,49%) yang hasilnya positif, sisanya sebanyak 44.584 sampel (87,51%)

yang hasilnya negatif. Jumlah sampel pemeriksaan RT-PCR SARS-CoV-2 tertinggi diperoleh dari BBLK (43.669 sampel) selanjutnya RS PUSRI (6.194 sampel) dan RSUD Siti Fatimah Palembang (1087 sampel).

**Tabel 2. Jenis reagen, gen target dan nilai Ct maksimum yang dipergunakan pada pemeriksaan RT-PCR SARS-CoV-2 bulan september-november 2020**

Lokasi	Jenis reagen		Gen target				Ct maks.
	Single plex	Multi plex	ORF1ab	RdRP	N	E	
RSUD Siti Fatimah	-	√	-	√	√	√	40
RS PUSRI Medika	-	√	√	√	√	√	40
BBLK	-	√	√	√	√	√	40

Berdasarkan data pada tabel 2 (menggunakan lebih dari satu gen target) diketahui bahwa jenis reagen RT-PCR dimana jenis gen target yang dipergunakan SARS-CoV-2 yang dipergunakan di tiga lokasi tersebut adalah jenis multiplex maksimum adalah 40 siklus. adalah ORF1ab, RdRP, N dan E dengan Ct maksimum adalah 40 siklus.

**Tabel 3. Distribusi frekuensi nilai *cycle threshold* (Ct) pemeriksaan RT-PCR SARS-CoV-2 bulan september-november 2020 berdasarkan gen targetnya**

Gen target	Hasil gen target (+)	%
ORF1ab	3174	23,56
RdRP	4695	34,86
N	3964	29,43
E	1636	12,15
Total	13.469	100

Berdasarkan data pada tabel 3 selanjutnya gen N (29,43%), ORF1ab (23,56%) dan gen E (12,15%) adalah gen yang paling banyak ditemukan pada hasil pemeriksaan RT-PCR target yang paling sedikit ditemukan. SARS-CoV-2 positif adalah RdRP (34,86%),

**Tabel 4. Distribusi statistik nilai *cycle threshold* (Ct) pemeriksaan RT-PCR SARS-CoV-2 bulan september-november 2020 berdasarkan gen targetnya**

Gen target	Hasil (+)	Min	Maks	Rerata Ct	Rerata Ct (CI 95%)		Rerata nilai Ct Kontrol
					Batas atas	Batas bawah	
ORF1ab	3174	11,06	40	30,33	30,15	30,53	26,90
RdRP	4695	13,47	40	28,44	28,31	29,58	23,53
N	3964	11,32	40	28,90	28,72	29,08	24,26
E	1636	12,09	40	27,84	27,60	28,08	21,41

Berdasarkan data pada tabel 4 diketahui rentang nilai Ct hasil positif untuk keempat gen target tersebut adalah 11-40 siklus dimana dengan tingkat kepercayaan 95% diyakini bahwa rerata nilai Ct sampel yang positif untuk keempat gen tersebut berada dikisaran 27,6-30,53 siklus.

## PEMBAHASAN

Secara umum RT-PCR multiplex satu langkah (*single step*) lebih banyak digunakan pada pemeriksaan SARS-CoV-2 dengan tingkat akurasi yang tinggi (> 97%), sangat spesifik, dan dapat mengurangi risiko kontaminasi silang di antara isolat uji serta tidak memerlukan waktu yang lama karena dapat mengamplifikasi beberapa gen dari isolat yang diuji secara sekaligus. Metode single step multiplex RT-PCR ini sangat tepat bila digunakan di laboratorium-laboratorium diagnostik untuk meminimalkan biaya operasional laboratorium dan dapat diperoleh hasil dalam waktu yang singkat (Payungporn et al., 2004)

Jenis gen target yang paling banyak ditemukan adalah RdRP dan N, secara umum ini disebabkan karena merk atau vendor reagen multiplex single step RT-PCR paling banyak menggunakan dua jenis gen tersebut.

Level Ct berbanding terbalik dengan jumlah target asam nukleat dalam sampel (semakin rendah tingkat Ct semakin besar

jumlah asam nukleat target dalam sampel). (Herawati, N. 2020). Pada umumnya batas ambang nilai Ct adalah 40 dengan interpretasi: a) Nilai Ct<29: positif kuat, terdapat target asam nukleat dalam jumlah banyak; b) nilai Ct antara 30-37: positif, terdapat target asam nukleat dalam jumlah sedang; c) nilai Ct antara 38-40: positif lemah, terdapat target asam nukleat dalam jumlah sedikit dan terdapat kemungkinan kontaminasi dari lingkungan (PAMKI, 2020)

## KESIMPULAN DAN SARAN

Selama periode september hingga november 2020 terdapat 50.950 sampel pemeriksaan RT-PCR SARS-CoV-2 dengan 6366 sampel (12,49%) hasilnya positif, sisanya sebanyak 44.584 sampel (87,51%) hasilnya negatif.. Jenis pemeriksaan RT-PCR yang dilakukan adalah multiplex dengan target gen berupa ORF1ab, RdRP, N dan E. Target gen yang paling banyak ditemukan adalah RdRP dan N. Rentang nilai *cycle threshold* yang diperoleh berada di angka 11-40 siklus dimana nilai Ct sampel yang positif berada dikisaran Ct 27,60 s.d. 30,53 siklus.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kami sampaikan kepada kepala BBLK Palembang, Direktur RS PUSRI Medika dan Direktur RSMH atas dizinkannya pengambilan data hasil

pemeriksaan RT-PCR Covid-19 untuk penelitian ini.

<https://doi.org/10.1089/VIM.2004.17.58>  
8

## DAFTAR PUSTAKA

Gorbalenya, A. E., Baker, S. C., Baric, R. S., de Groot, R. J., Drosten, C., Gulyaeva, A. A., Haagmans, B. L., Lauber, C., Leontovich, A. M., Neuman, B. W., Penzar, D., Perlman, S., Poon, L. L. M., Samborskiy, D. V., Sidorov, I. A., Sola, I., & Ziebuhr, J. (2020). The species Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. In *Nature Microbiology* (Vol. 5, Issue 4, pp. 536–544).  
<https://doi.org/10.1038/s41564-020-0695-z>

PAMKI. (2020). *Arti Klinis Nilai Ct*.  
<https://pamki.or.id/wp-content/uploads/2020/08/ARTI-KLINIS-NILAI-Ct.pdf>

Payungporn, S., Phakdeewirot, P., Chutinimitkul, S., Theamboonlers, A., Keawcharoen, J., Oraveerakul, K., Amonsin, A., & Poovorawan, Y. (2004). Single-step multiplex reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) for influenza A virus subtype H5N1 detection. *Viral Immunology*, *17*(4), 588–593.

Ren, L. L., Wang, Y. M., Wu, Z. Q., Xiang, Z. C., Guo, L., Xu, T., Jiang, Y. Z., Xiong, Y., Li, Y. J., Li, X. W., Li, H., Fan, G. H., Gu, X. Y., Xiao, Y., Gao, H., Xu, J. Y., Yang, F., Wang, X. M., Wu, C., ... Wang, J. W. (2020). Identification of a novel coronavirus causing severe pneumonia in human: a descriptive study. *Chinese Medical Journal*, *133*(9), 1015–1024.  
<https://doi.org/10.1097/CM9.000000000000000722>

Riedel S, E. a. (2019). *Jawetz, Melnick, & Adelberg's Medical Microbiology* (M. R (ed.)). McGraw Hill.  
<https://accessmedicine.mhmedical.com/content.aspx?bookid=2629&sectionid=217775573>

Rothan, H. A., & Byrareddy, S. N. (2020). The epidemiology and pathogenesis of coronavirus disease (COVID-19) outbreak. *Journal of Autoimmunity*, *109*(February), 102433.  
<https://doi.org/10.1016/j.jaut.2020.102433>

Satuan Tugas Penanganan COVID-19. (2020). Analisis Data COVID-19

Indonesia (Update Per 30 Agustus 2020) - Berita Terkini | Covid19.go.id. In *Portal COVID-19 Indonesia*. <https://covid19.go.id/p/berita/analisis-data-covid-19-indonesia-update-20-september-2020>

World Health Organization. (2020). *Laboratory testing for coronavirus disease 2019 (COVID-19) in suspected human cases*. World Health Organization.

Zhu, N., Zhang, D., Wang, W., Li, X., Yang, B., Song, J., Zhao, X., Huang, B., Shi, W., Lu, R., Niu, P., Zhan, F., Ma, X., Wang, D., Xu, W., Wu, G., Gao, G. F., & Tan, W. (2020). A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019. *New England Journal of Medicine*, 382(8), 727–733. <https://doi.org/10.1056/nejmoa2001017>