

**Laporan Penelitian****Deteksi pepsin pada penderita refluxs laringofaring yang didiagnosis berdasarkan *reflux symptom index* dan *reflux finding score*****Yunida Andriani, Muhammad Amsyar Akil, Masyita Gaffar, Abdul Qadar Punagi**

Bagian Ilmu Kesehatan Telinga Hidung Tenggorok Kepala Leher

Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin

Makassar - Indonesia

**ABSTRAK**

**Latar belakang:** Diperkirakan lebih dari 50% pasien dengan gangguan suara yang datang berobat ke dokter THT diakibatkan oleh refluxs laringofaring (RLF). Diduga RLF berperan pada patogenesis sejumlah kelainan pada laring, termasuk stenosis subglotik, karsinoma laring, *laryngeal contact ulcers*, laringospasme dan vokal nodul pada pita suara. Pemeriksaan *ambulatory 24 hour double-probe pH monitoring* merupakan *gold standard* untuk mendiagnosis RLF, namun pemeriksaan ini masih jauh dari kriteria ideal. Menentukan adanya pepsin pada sekret saluran napas merupakan petanda diagnostik yang sensitif untuk RLF karena pepsin tidak dihasilkan oleh sel apapun dalam saluran napas. **Tujuan:** Penelitian ini bertujuan mendeteksi keberadaan pepsin pada penderita refluxs laringofaring yang didiagnosis berdasarkan *reflux symptom index* (RSI) dan *reflux finding score* (RFS). **Metode:** Jenis penelitian ini adalah komparatif kuantitatif. Dilakukan pemeriksaan RSI dan RFS pada 51 percontoh dan dilanjutkan dengan pemeriksaan pepsin saliva menggunakan metode ELISA pada 48 percontoh lalu dilakukan uji Spearman's Rho. **Hasil:** Skor RSI >13 sebanyak 48 percontoh (94,12%) dan skor RFS >7 sebanyak 51 percontoh (100%). Pepsin terdeteksi pada saliva semua percontoh. Tidak ada hubungan yang bermakna antara skoring RSI dan RFS dengan kadar pepsin pada saliva ( $p>0,01$ ). **Kesimpulan:** RSI dan RFS dapat digunakan dalam menegakkan diagnosis RLF.

**Kata kunci:** refluxs laringofaring, *reflux symptom index*, *reflux finding score*, pepsin

**ABSTRACT**

**Background:** It is estimated that more than 50% of patients with voice disorders who come for treatment are caused by laryngopharyngeal reflux (LPR). LPR has been implicated in the etiology of many laryngeal disorders including subglottic stenosis, laryngeal carcinoma, laryngeal contact ulcer, laryngospasm and vocal nodule on the vocal cords. Ambulatory 24 hour double-probe (pharyngeal and esophageal) pH monitoring is the gold standard examination for diagnosing LPR, but it is still far from ideal criteria. The assessment of pepsin in airway secretions could be used as a sensitive diagnostic marker of LPR because pepsin is not synthesized by any type of airway cells. **Purpose:** The aim of this study was to detect the presence of pepsin on laryngopharyngeal reflux patients which diagnosed based on reflux symptom index (RSI) dan reflux finding score (RFS) at Wahidin Sudirohusodo Hospital, Makassar. **Methods:** This is a comparative quantitative study. We performed RSI and RFS examinations on 51 samples, followed by saliva pepsin detection using ELISA method on 48 samples, then analyzed with Spearman's Rho test. **Result:** RSI score >13 was found in 48 samples (94,12%) and RFS score >7 was in 51 samples (100%). Pepsin was detected on all sputum samples, however there was no significant relationship between RSI and RFS scoring with the level of pepsin in saliva ( $p>0.01$ ). **Conclusion:** Pepsin was detected on saliva of patients with laryngopharyngeal reflux who was diagnosed based on RSI and RFS. We concluded that RSI and RFS can be used as diagnostic tools for LPR.

**Keywords:** *laryngopharyngeal reflux, reflux symptom index, reflux finding score, pepsin*

**Alamat korespondensi:** Yunida Andriani, Bagian Ilmu Kesehatan THT-KL FKUNHAS, Makassar.

E-mail: yunidaandriani@ymail.com

## PENDAHULUAN

Refluks laringofaring (RLF) adalah aliran balik asam lambung ke daerah laring, faring, trakea dan bronkus yang menyebabkan kontak dengan jaringan pada traktus aerodigestif atas yang menimbulkan jejas pada laringofaring dan saluran napas bagian atas, dengan manifestasi penyakit-penyakit oral, faring, laring dan paru. Karakteristik gejala dapat berupa suara serak, berdehem (*throat clearing*), sekret di belakang hidung (*post nasal drips*), kesulitan dalam proses menelan atau rasa mengganjal di tenggorok, batuk setelah makan/saat berbaring atau batuk kronik, dan tersedak.<sup>1,2,3</sup>

Diperkirakan lebih dari 50% pasien dengan gangguan suara yang datang berobat ke dokter THT diakibatkan oleh RLF. Diduga RLF berperan pada patogenesis sejumlah kelainan pada laring, termasuk stenosis subglotik, karsinoma laring, *laryngeal contact ulcers*, laringospasme, dan vokal nodul pada pita suara. Pada anak-anak RLF dihubungkan dengan asma, sinusitis dan otitis media.<sup>4,5,6</sup>

Diagnosis RLF dapat ditegakkan dari riwayat penyakit, gejala klinik dan pemeriksaan laringoskopi, serta menentukan adanya refluks asam lambung ke laringofaring. Pemeriksaan *ambulatory 24 hour double-probe (pharyngeal and esophageal) pH monitoring* merupakan *gold standard* untuk mendiagnosis RLF, namun pemeriksaan ini masih jauh dari kriteria ideal oleh karena sensitivitas pH-metri yang dilaporkan hanya 50% sampai 80%, sekitar 12% dari pasien THT tidak dapat mentoleransi prosedur ini, modifikasi diet (untuk standarisasi prosedur) dapat menghasilkan *false-negative* dan biaya pemeriksaan pH-metri masih mahal serta tidak semua pusat pelayanan menyediakan alat ini.<sup>7</sup>

Berdasarkan penelitian menggunakan *pH probe* yang dikonfirmasi dengan kasus-kasus

RLF, Belafsky et al<sup>5</sup> mengembangkan suatu sistem skoring berdasarkan penilaian terhadap 9 gejala dari refluks menggunakan skala 0 sampai 5 dengan skala maksimal 45 untuk berbagai gejala berikut: 1) suara serak/gangguan suara; 2) berdehem/*throat clearing*; 3) sekret di belakang hidung/*post nasal drip*; 4) kesulitan dalam menelan; 5) batuk setelah makan/berbaring; 6) kesulitan bernapas/tersedak; 7) batuk kronik; 8) perasaan mengganjal di tenggorok; dan 9) rasa terbakar di dada. Sistem skoring ini dinamakan *reflux symptom index* (RSI) yang dapat membantu klinisi dalam menilai berat ringannya penyakit sebelum dan sesudah terapi. Nilai RSI lebih besar dari 13 dianggap abnormal.<sup>1,5</sup>

Selain RSI, Belafsky et al<sup>8</sup> juga telah mengembangkan *reflux finding score* (RFS) untuk menilai berat ringannya gambaran klinis berdasarkan pemeriksaan laringoskopi fiberoptik. RFS terdiri dari delapan skala yang merupakan kelainan yang ditemukan pada laring, yaitu: 1) edema subglotik; 2) obliterasi ventrikular; 3) eritema/hiperemis laring; 4) edema pita suara; 5) edema laring menyeluruh; 6) hipertrofi komisura posterior; 7) granuloma/jaringan granulasi pada laring; dan 8) mukus endolaring yang tebal. Skor maksimum dari RFS adalah 26 dan bila skor lebih dari 7 dapat didiagnosis sebagai RLF.<sup>1,8</sup>

Beberapa penelitian di luar negeri telah dilakukan untuk membandingkan keakuratan RSI dan RFS dalam mendiagnosis RLF. Penelitian yang dilakukan oleh Tamer et al<sup>9</sup> pada 40 pasien secara random mendapatkan korelasi yang signifikan antara RSI dan RFS ( $p < 0,001$ ).

Penelitian terbaru untuk mendeteksi RLF adalah dengan menentukan ada tidaknya pepsin pada laring dengan metode *immunoassay* (ELISA). Karena pepsin tidak disintesis oleh sel tipe apapun dalam saluran napas, maka adanya pepsin pada saluran napas merupakan bukti nyata

bahwa pepsin tersebut berasal dari refluks isi lambung ke laringofaring, sehingga pengukuran pepsin pada sekret saluran napas dapat menjadi petanda diagnostik yang sensitif pada RLF.<sup>6,7,10</sup>

Tujuan penelitian ini adalah untuk mendeteksi keberadaan pepsin pada penderita refluks laringofaring yang telah didiagnosis berdasarkan RFI dan RFS.

## METODE

Penelitian ini adalah studi komparatif kuantitatif selama periode Januari–Juni 2011 dengan populasi penelitian adalah semua penderita dengan satu atau beberapa keluhan berikut: suara serak, berdehem (*throat clearing*), sekret di belakang hidung (*post nasal drips*), kesulitan dalam proses menelan dan perasaan mengganjal di tenggorok, batuk setelah makan/saat berbaring, batuk kronik dan tersedak, yang datang berobat ke unit rawat jalan THT RS. Wahidin Sudirohusodo Makassar. Percontoh penelitian merupakan bagian dari populasi yang memenuhi kriteria penelitian, yaitu penderita usia 15–50 tahun dengan gejala-gejala RLF. Kriteria eksklusi adalah penderita yang menunjukkan gejala RLF tetapi disertai infeksi saluran napas atas, infeksi saluran napas bawah, tumor pada kepala-leher dan pernah menjalani radioterapi pada kepala-leher.

Lima puluh satu subjek dilakukan pengisian RSI dilanjutkan dengan pemeriksaan fleksibel nasoendoskopi (CCD-TV tipe 3521 9980) untuk menilai RFS. Dikumpulkan saliva sebanyak minimal 1 cc pada 2 buah tabung. Tabung 1 diambil dalam 15–30 menit setelah makan, dan tabung 2 diambil setelah bangun tidur. Saliva disimpan pada suhu  $-80^{\circ}\text{C}$  sebelum dilakukan pemeriksaan pepsin saliva.

Teknik pemeriksaan ELISA (Cusabio Biotech) dengan *antibody monoclonal* spesifik untuk *human pepsin*: *wash buffer* dengan pengenceran 25 kali, buat larutan *standard* dengan menambahkan 1 ml *sample diluents*: 300 ng/ml=*standard*+1 ml *sample diluents*=A; 150 ng/ml=0,5A+0,5 *sample diluents*=B; 75

ng/ml=0,5 B+0,5 *sample diluents*=C; 37,5 ng/ml=0,5 C+0,5 *sample diluents*=D; 18,75 ng/ml=0,5 D+0,5 *sample diluents*=E; 9,375 ng/ml=0,5 E+0,5 *sample diluents*=F; 4,7 ng/ml=0,5 F+0,5 *sample diluents*=G; 0 ng/ml (standar 0)=*sample diluents*=H. Tambahkan 100 ul *standard*, kontrol, dan percontoh pada *well plate*. Inkubasi selama 2 jam ( $37^{\circ}\text{C}$ ). Tambahkan 100 ul cairan *biotin-antibody* 1:100 pada setiap *well plate*. Inkubasi selama 1 jam ( $37^{\circ}\text{C}$ ), ulangi proses pencucian tersebut sebanyak 3–4 kali, biarkan selama 2 menit. *Wash buffer* yang tersisa dikeringkan. Tambahkan 100 ul cairan HRP-avidin 1:100 pada setiap *well*, inkubasi selama 1 jam ( $37^{\circ}\text{C}$ ). Lakukan pencucian ulang 5 kali. Tambahkan 90 ul *TMB substrate solution* pada setiap *well*, inkubasi selama 30 menit pada suhu kamar. Tambahkan 50 ul *stop solution* pada setiap *well*. Identifikasi densitas optik pada setiap *well* dalam 30 menit menggunakan *ELISA microplate reader set* pada 450 nm.

Hasil yang diperoleh dilakukan uji statistik Spearman's Rho untuk mencari hubungan antara skoring RSI, RFS dan keberadaan pepsin pada saliva.

## HASIL

Hasil penelitian menunjukkan bahwa penderita RLF terbanyak pada perempuan (62,75%) dan kelompok usia terbanyak adalah 41–50 tahun (54,9%).

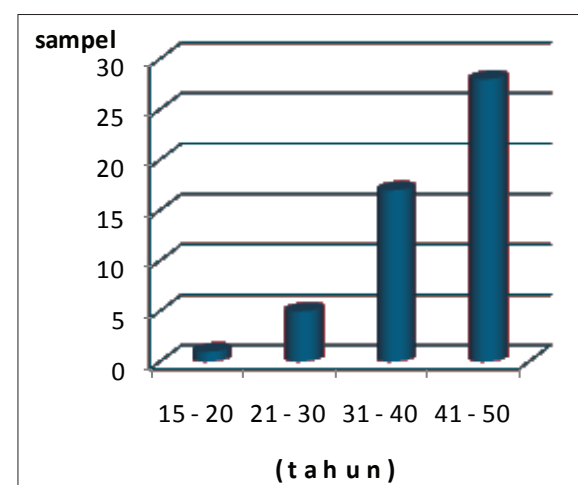


Diagram 1. Distribusi penderita RLF berdasarkan usia

**Tabel 1. Distribusi percontoh penderita RLF berdasarkan riwayat keluhan yang pernah dialami**

KELUHAN	n	%
Disfoni	33	64,70
Rasa mengganjal di tenggorok	49	96,08
Banyak lendir	46	90,20
<i>Throat clearing</i>	43	84,31
Disfagia	17	33,33
Batuk	25	49,02
Sulit bernapas/ tersedak	32	62,75
<i>Heartburn</i>	36	70,59

Pemeriksaan RSI pada 51 percontoh terdapat 3 percontoh dengan nilai RSI <13 (5,8%). Pemeriksaan RFS menunjukkan semua percontoh memiliki total skoring >7 (100%). Kelainan laring yang paling banyak ditemukan adalah eritema/ hiperemis laring (100%). Pepsin positif pada saliva yang diambil dalam 15–30 menit setelah makan sebanyak 34 dari 48 percontoh (71%). Dengan kadar pepsin terendah 4,84ng/ml dan kadar tertinggi 112,25 ng/ml. Percontoh yang negatif pepsin (14 percontoh) diperiksa ulang menggunakan saliva yang diambil saat bangun tidur dan semuanya memberikan hasil positif pepsin (100%). Hasil positif pepsin dengan kadar terendah 5,03 ng/ml dan kadar tertinggi 117,42 ng/ml. Analisis statistik Spearman's Rho tidak menemukan hubungan yang bermakna antara skoring RSI, RFS dan keberadaan pepsin dalam saliva ( $p > 0,01$ ).

**Tabel 2. Distribusi kelainan laring pada pemeriksaan nasoendoskopi**

KELAINAN ANATOMI	n	%
Edema subglotik	36	69,23
Obliterasi ventrikuler	39	75,00
Eritema/hiperemis	51	100,00
Edema pita suara	34	65,38
Edema laring menyeluruh	36	69,23
Hipertrofi kommisura posterior	36	69,23
Granuloma	2	3,84
Mukus endolaring	40	76,92

## DISKUSI

Hasil penelitian menunjukkan bahwa penderita RLF lebih banyak pada perempuan. Hal yang sama didapatkan oleh Koufman et al<sup>4</sup> serta Kornel et al,<sup>12</sup> hal ini disebabkan faktor hormonal berperan dalam meningkatkan sekresi asam lambung. Faktor hormonal pada sekresi asam dapat secara langsung menstimulasi sel parietal dan kelenjar peptik tanpa intervensi sistem saraf. Jalur hormonal ini diperantarai mulai dari hipotalamus, kelenjar pituitari anterior dan ACTH mempengaruhi kelenjar adrenal menghasilkan kortison dan adrenal yang akan merangsang sel parietal dan kelenjar peptik untuk menghasilkan HCl dan pepsin.<sup>11,13</sup>

Kelompok usia terbanyak penderita RLF pada penelitian ini adalah 41–50 tahun, hal yang sama juga didapatkan oleh Belafsky et al<sup>11</sup> dan juga oleh Kornel et al.<sup>12</sup> Pada usia di atas 40 tahun terjadi perubahan mukosa laring, yaitu edema lapisan superfisial pada lamina propria terutama pada wanita setelah menopause. Perubahan terjadi pada kelenjar di laring menyebabkan produksi mukus berkurang, secara histologis pada usia tua sedikit ditemukan granular retikulum endoplasmik dan aparatus Golgi di mukus dan serosa laring, sehingga secara kualitas dan kuantitas sekresinya berkurang. Perubahan juga terjadi pada mukosa epitel plika vokalis menjadi lebih tipis, menyebabkan pada usia di atas 40 tahun keadaan laring menjadi rentan apabila terpapar zat asam, sehingga meningkatkan angka kejadian RLF. Selain itu terjadi juga perubahan daerah supralaring berupa atropi dari otot-otot wajah, faring dan otot-otot mastikasi disertai kelemahan sfingter esofagus sehingga memudahkan terjadinya refluks.<sup>13,14</sup>

Pada penelitian ini seluruh percontoh memiliki nilai RFS >7, namun terdapat 3 orang percontoh dengan nilai RSI <13. Faktor subjektivitas sangat berpengaruh dalam penilaian RSI. Keluhan yang berat bagi seseorang bisa jadi tidak menjadi masalah bagi orang lain. Namun secara keseluruhan RSI dapat digunakan untuk menegakkan diagnosis RLF terutama pada

sarana kesehatan yang tidak memiliki fasilitas endoskopi dan sangat berguna dalam menilai keberhasilan terapi. Belafsky<sup>8</sup> menyatakan bahwa adanya hubungan antara semakin besarnya nilai RSI dan skoring VHI (*voice handicap index*) mengindikasikan bahwa RSI memiliki validitas yang sangat baik.

Kelainan laring yang paling banyak ditemukan pada penelitian ini adalah eritema/hiperemis dari laring, khususnya eritema aritenoid (100%). Walaupun eritema/hiperemis laring relatif tidak spesifik untuk diagnosis RLF, namun lebih dari 50% penderita RLF terdapat eritema/hiperemis. Koufman menyatakan bahwa edema laring (bukan eritema) merupakan penemuan laring yang paling sering dihubungkan dengan refluks.<sup>4,8</sup>

Keberadaan pepsin pada saliva merupakan variabel utama pada penelitian ini. Adanya pepsin menunjukkan bahwa terdapat refluks asam lambung ke saluran napas atas karena pepsin tidak dihasilkan oleh sel manapun di tubuh kecuali oleh sel parietal lambung. Pada penelitian didapatkan hasil yang umumnya positif pepsin pada saliva penderita yang dikumpulkan dalam 15–30 menit setelah makan, yaitu sebanyak 34 percontoh (71%) dari 48 percontoh yang diperiksa.

Kadar pepsin terendah pada percontoh saliva yang diambil dalam 15–30 menit setelah makan adalah 4,84 ng/ml dan kadar tertinggi adalah 112,25 ng/ml. Penelitian yang dilakukan oleh Knight<sup>7</sup> menemukan pepsin positif pada 22% dari 63 percontoh saliva dengan median konsentrasi 180 ng/ml. Penelitian tersebut menggunakan saliva yang diambil pada saat subjek merasakan gejala yang berhubungan dengan RLF dan satu tabung berisi saliva yang diambil setelah makan, namun tidak disebutkan tabung mana yang memberikan hasil positif terhadap pepsin. Sementara penelitian yang dilakukan oleh Printza et al<sup>15</sup> dengan metode assay menggunakan bovine fibrinogen tidak menemukan adanya pepsin pada percontoh saliva yang mereka periksa.

Wang et al<sup>16</sup> melakukan penelitian yang sama

di Guangzhou Cina dan menemukan bahwa pepsin terdeteksi pada sekret oral sebanyak 93,8% dari 32 penderita RLF yang didiagnosis berdasarkan RSI dan RFS, 75% dari 24 penderita laringitis kronik dan 20% dari 15 orang kontrol normal. Level pepsin yang didapat secara signifikan berbeda di antara ketiga kelompok tersebut ( $p=0,000$ ). Konsentrasi rata-rata pepsin pada kelompok RLF adalah 199,59 ng/ml, laringitis kronik 6,37 ng/ml dan kelompok kontrol 0,36 ng/ml.

Pemeriksaan ELISA pada percontoh dengan pepsin negatif pada saliva yang diambil dalam 15–30 menit setelah makan sebanyak 14 percontoh kembali diulang dengan percontoh saliva yang diambil sesaat setelah bangun tidur. Ke-14 saliva ini memberikan hasil positif pepsin dengan kadar terendah 5,03 ng/ml dan kadar tertinggi 117,42 ng/ml. Hal ini dapat diakibatkan oleh adanya *nocturnal reflux*, ketika mekanisme fisiologis antirefluks (*swallowing rate*, salivasi, tekanan pada LES dan UES, pengosongan lambung) berkurang pada saat tidur, dan sinyal “*heartburn*” ikut tertekan pada saat tidur.<sup>16</sup>

Beberapa keadaan dapat mengakibatkan pepsin tidak terdeteksi pada saliva penderita RLF, seperti cara pengambilan dan penyimpanan saliva yang salah dapat mengakibatkan kerusakan saliva, waktu pengumpulan saliva yang terlalu lama dapat mengakibatkan pepsin kembali masuk ke esofagus akibat proses menelan, faktor pH saliva yang berfungsi sebagai buffer untuk mempertahankan pH alkali pada rongga mulut juga dapat mengakibatkan kerusakan pada pepsin sebab pepsin mengalami denaturasi pada pH >6,5.<sup>15</sup>

Berdasarkan analisis statistik menggunakan korelasi Spearman's Rho tidak ditemukan hubungan yang bermakna antara besarnya skoring RSI dan RFS dengan tingginya kadar pepsin pada saliva. Hal ini berbeda dengan hasil yang didapatkan oleh Wang et al<sup>16</sup> yang menemukan total skor RSI dan RFS lebih tinggi pada kelompok dengan pepsin positif dibanding pepsin negatif. Jumlah percontoh yang lebih banyak dan metode penelitian yang berbeda karena digunakannya

kontrol orang normal pada penelitian itu dapat menjadi faktor penyebab perbedaan tersebut. Selain itu faktor ras, waktu pengambilan saliva, jenis makanan yang dikonsumsi sebelum pengambilan saliva dan jenis *ELISA kit* yang digunakan juga dapat mengakibatkan perbedaan tersebut. Cusabio Biotech merupakan salah satu reagen pemeriksaan ELISA yang dapat mendeteksi pepsin pada cairan tubuh termasuk saliva. *Crossreactivity* dapat terjadi pada semua jenis pemeriksaan, tetapi dengan tehnik pemeriksaan yang baik dan benar, *cross reactivity* yang dapat memberi hasil false (+) dapat dihindari. Walaupun secara statistik tidak ditemukan hubungan yang bermakna antara RSI, RFS dan kadar pepsin, namun penilaian RSI dan RFS sangat berguna dalam menegakkan diagnosis RLF terutama di daerah-daerah dengan sarana kesehatan yang masih terbatas. Pemeriksaan pepsin sendiri meskipun merupakan pemeriksaan dengan sensitivitas 100% dan spesifisitas 89% untuk RLF, namun karena pepsin mudah mengalami kerusakan dan pemeriksaannya masih terbatas pada sarana laboratorium tertentu serta biaya pemeriksaan yang mahal sehingga masih sulit diaplikasikan di semua daerah selain di daerah yang maju dan lengkap sarana kesehatannya. Pepsin juga bukan merupakan satu-satunya enzim yang terdapat pada reflus yang dapat mengakibatkan kerusakan mukosa laring, namun adanya pepsin pada saliva menunjukkan adanya reflus asam lambung ke laringofaring.<sup>7</sup>

Pada penelitian ini terdapat percontoh dengan nilai RSI dan atau RFS yang tinggi namun kadar pepsin yang terdeteksi sedikit, hal ini menunjukkan bahwa pepsin dapat menimbulkan kerusakan mukosa walaupun kadarnya sedikit. Perlu diingat juga bahwa kandungan reflus yang lain seperti garam empedu juga dapat meningkatkan derajat kerusakan mukosa. Faktor pertahanan mukosa dan *esophageal clearance* juga berperan dalam timbulnya kerusakan mukosa dan keluhan akibat kerusakan tersebut.<sup>3</sup>

Dari penelitian ini didapatkan bahwa penggunaan RSI dan RFS berguna dalam menegakkan diagnosis RLF. RSI sendiri selain

merupakan pemeriksaan yang sederhana dan sangat mudah dilakukan, juga tidak membutuhkan peralatan khusus sehingga dapat digunakan oleh para praktisi kesehatan yang tidak memiliki sarana endoskopi.

#### Ucapan terima kasih:

1. dr. Agussalim Bukhari, M.Med, PhD, SpGK atas bantuannya dalam pemeriksaan ELISA.
2. Dr. dr. Burhanuddin Bahar, MS atas bantuannya dalam analisis statistik.

#### DAFTAR PUSTAKA

1. Ford CN. Evaluation and management of laryngopharyngeal reflux. *JAMA* 2005; 294:1534-40.
2. Center for voice and swallowing UC Davis health system. Laryngopharyngeal reflux disease. Available from: <http://www.ucdmc.ucdavis.edu>. Accessed Juli 2010.
3. Makmun D. Penyakit reflus gastroesofageal. Dalam: Sudoyo AW, Setyohadi B, Alwi I, Simadibrata M, Setiati S, editors. Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam. Edisi ke-4. Jakarta: Balai Penerbit FKUI; 2006. h.317-20.
4. Koufman JA. The otolaryngologic manifestations of gastroesophageal reflux disease (GERD): a clinical investigation of 225 patients using ambulatory 24-hour pH monitoring and an experimental investigation of the role of acid and pepsin in the development of laryngeal injury. *Laryngoscope* 1991; 101(4 Pt 2 Suppl 53):1-78.
5. Belafsky PC, Postma GN, Koufman JA. Validity and reliability of the reflux symptom index (RSI). *J Voice* 2002; 16(2):274-7.
6. Johnston N, Bulmer D, Gill GA, Panetti M, Ross PE, Pearson JP, Pignatellui M, et al. Cell biology of laryngeal epithelial defenses in health and disease: further studies. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2003; 112(6):481-91.
7. Knight J, Lively MO, Johnston N, Dettmar PW, Koufman JA. Sensitive pepsin immunoassay for detection of laryngopharyngeal reflux. *Laryngoscope* 2005; 115:1473-8.
8. Belafsky PC, Postma GN, Koufman JA. Validity and reliability of the reflux finding score (RFS). *Laryngoscope* 2001; 111:1313-7.
9. Tamer MA, Stemple JC, Elluru RG, Sobeih TM. Reflux symptom index versus reflux finding score.

- Ann Otol Rhinol Laryngol 2007; 116(6):436-40.
10. Ali ME. Laryngopharyngeal reflux: diagnosis and treatment of controversial disease. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2008; 8(1):28-33.
  11. Belafsky PC, Postma GN, Koufman JA. Laryngopharyngeal reflux symptoms improve before changes in physical findings. *Laryngoscope* 2001; 111(6):979-81.
  12. Kornel Y, Sarbini TB, Madiadipoera THS. Efektivitas terapi omeprazole terhadap perbaikan tingkat gejala klinis dan patologis laring pada penderita refluks laringofaring. *Majalah Kedokteran Bandung* 2008; 40(3):102-9.
  13. Ossof RH, Shapshay SM, Woodson GE, Netterville JL. The aging larynx. In: Woodson GE, editor. *The larynx*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2003. p. 251-8.
  14. Serbalik A. The aging voice. Available from: <http://www.med-speech.com/images/Aging%20voice.ppt>. Accessed August 2011.
  15. Printza A, Speletas M, Triaridis S, Wilson J. Is pepsin detected in the saliva of patients who experience pharyngeal reflux? *Hippokratia* 2007; 11(3):145-9.
  16. Wang L, Liu X, Liu Y, Zeng F, Wu T, Yang C, et al. Correlation of pepsin-measured laryngopharyngeal reflux disease with symptoms and signs. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2010; 143(6):765-71.