

Diagnostik Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) dengan Pemeriksaan Laboratorium Mikrobiologi Klinik

Natasya Y. Damo,¹ John P. Porotu'o,² Glady I. Rambert,² Fredine E.S Rares²

¹Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Sam Ratulangi Manado, Indonesia

²Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Sam Ratulangi Manado, Indonesia
Email: natasyadamo27@gmail.com

Abstract: The world is in fear of the pandemic Coronavirus Disease (COVID-19) which is so deadly, the World Health Organization (WHO) declared the world a global health emergency. The number of confirmed cases is still very high until now, even in Indonesia this pandemic is still not over. The transmission is so fast and wide, plus the current clinical manifestations of COVID-19 have varied, ranging from asymptomatic to severe. This literature review aims to determine the Diagnostic of COVID-19 with the most appropriate Clinical Microbiology Laboratory Examination and to find out the importance of Clinical Microbiology Laboratory examinations in COVID-19 Diagnostics. The method used is in the form of literature studies from several scientific sources that are accurate and valid regarding the Diagnostic of COVID-19 with Clinical Microbiology Laboratory Examination. The results showed that Polymerase Chain Reaction (PCR) is the gold standard in detecting COVID-19 although there are several factors that can affect the results of the PCR examination which then cause false negatives / positives. Conclusion Clinical Microbiology Laboratory Examination is very important and very helpful. Diagnostic COVID-19 in the Microbiology Laboratory can be done by using Rapid Diagnostic Test (RDT) Antigen, RDT Antibody, PCR, and Virus Culture. Diagnostic COVID-19 with the recommended Clinical Microbiology Laboratory Examination and the gold standard is PCR examination. However, there are also several factors that can affect the results of the PCR examination.

Keywords: *diagnostic, COVID-19, Clinical Microbiology Laboratory*

Abstrak: Dunia sedang dalam ketakutan dengan pandemi *Coronavirus Disease* (COVID-19) yang begitu mematikan, Organisasi Kesehatan Dunia (WHO) menyatakan dunia sebagai darurat kesehatan global. Jumlah kasus yang terkonfirmasi masih sangat tinggi hingga saat ini, bahkan di Indonesia pandemi ini masih belum berakhir. Penularannya begitu cepat dan luas, serta manifestasi klinis COVID-19 yang bervariasi, mulai dari asimtomatik hingga parah. Tinjauan pustaka ini bertujuan untuk mengetahui Diagnostik COVID-19 dengan Pemeriksaan Laboratorium Mikrobiologi Klinik yang paling sesuai dan untuk mengetahui pentingnya pemeriksaan Laboratorium Mikrobiologi Klinik dalam Diagnostik COVID-19. Metode yang digunakan berupa studi pustaka dari beberapa sumber ilmiah yang akurat dan valid mengenai Diagnostik COVID-19 dengan Pemeriksaan Laboratorium Mikrobiologi Klinik. Hasil penelitian menunjukkan bahwa *Polymerase Chain Reaction* (PCR) merupakan *gold standard* dalam mendeteksi COVID-19 meskipun terdapat beberapa faktor yang dapat mempengaruhi hasil pemeriksaan PCR yang kemudian menimbulkan *false negatif/positif*. Kesimpulan Pemeriksaan Laboratorium Mikrobiologi Klinik sangat penting dan sangat membantu. Diagnostik COVID-19 di Laboratorium Mikrobiologi dapat dilakukan dengan menggunakan *Antigen Rapid Diagnostic Test* (RDT), Antibodi RDT, PCR, dan Kultur Virus. Diagnostik COVID-19 dengan Pemeriksaan Laboratorium Mikrobiologi Klinik yang direkomendasikan dan menjadi *gold standard* adalah PCR. Namun, ada juga beberapa faktor yang dapat mempengaruhi hasil pemeriksaan PCR.

Kata Kunci: *diagnostik, COVID-19, Laboratorium Mikrobiologi Klinik*

PENDAHULUAN

Pandemi *coronavirus disease* 2019 (COVID-19) telah menimbulkan kekuatiran secara global. *World Health Organization* (WHO) telah menyatakannya sebagai darurat kesehatan global pada 30 Januari 2020.^{1,2,3,4,5} Pada 22 Januari 2020, total 571 kasus virus *corona* baru 2019 (COVID-19) dilaporkan di 25 provinsi (kabupaten dan kota) di China.^{3,4} *China National Health Commission* melaporkan rincian 17 kematian pertama hingga 22 Januari 2020. Pada 25 Januari 2020, total 1975 kasus dipastikan terinfeksi COVID-19 di daratan China dengan total 56 kematian.^{3,5} Laporan lain pada 24 Januari 2020 memperkirakan insiden kumulatif di Cina menjadi 5502 kasus.^{3,6} Pada 30 Januari 2020, 7734 kasus telah dikonfirmasi di China dan 90 kasus lainnya juga telah dilaporkan dari sejumlah negara termasuk Taiwan, Thailand, Vietnam, Malaysia, Nepal, Sri Lanka, Kamboja, Jepang, Singapura, Republik Korea, Uni Emirat Arab, Amerika Serikat, Filipina, India, Australia, Kanada, Finlandia, Prancis, dan Jerman.^{3,7} Selanjutnya, kasus penularan COVID-19 di Amerika Serikat pertama dilaporkan pada 30 Januari 2020. Sebuah laporan yang diterbitkan di *Nature* mengungkapkan bahwa otoritas kesehatan Tiongkok menyimpulkan bahwa pada 7 Februari 2020, ada 31.161 orang yang tertular infeksi di Tiongkok, dan lebih dari 630 orang telah meninggal.³

Secara global, pada 24 September 2020, ada 31.664.104 kasus COVID-19 yang dikonfirmasi, termasuk 972.221 kematian dilaporkan WHO.⁸ Di Indonesia sendiri sesuai dengan data WHO tertanggal 24 September 2020 ada 257.388 kasus konfirmasi, 55.792 kasus aktif, 100.000 kasus suspek dan 9.977 kasus meninggal.⁸ Indonesia memiliki Undang-Undang Nomor 4 Tahun 1984 tentang Wabah Penyakit Menular, Peraturan Pemerintah Nomor 40 Tahun 1991 tentang Penanggulangan Wabah Penyakit Menular, dan Peraturan Menteri Kesehatan Nomor 1501/Menkes/Per/X/2010 tentang Jenis Penyakit Menular Tertentu Yang Dapat

Menimbulkan Wabah dan Upaya Penanggulangan. Dalam rangka upaya penanggulangan dini wabah COVID-19, Menteri Kesehatan Republik Indonesia telah mengeluarkan Keputusan Menteri Kesehatan Nomor HK.01.07/MENKES/104/2020 tentang Penetapan Infeksi Novel Coronavirus (Infeksi 2019-nCoV) sebagai Jenis Penyakit Yang Dapat Menimbulkan Wabah dan Upaya Penanggulangannya. Penetapan didasari atas pertimbangan bahwa Infeksi Novel Coronavirus (Infeksi 2019-nCoV) telah dinyatakan WHO sebagai Kedaruratan Kesehatan Masyarakat yang Meresahkan Dunia (KKMMD)/*Public Health Emergency of International Concern* (PHEIC).⁹

Dalam penelitian terbaru, tingkat keparahan beberapa kasus COVID-19 mirip dengan *severe acute respiratory syndrome coronavirus* (SARS-CoV). Mortalitas diperkirakan berkisar 2% - 3%.¹⁰ Mudah-mudahan penyebaran virus ini membuat masyarakat harus menggunakan masker, sarung tangan dan *hand sanitizer* setiap hari sebagai cara untuk mencegah penyebaran yang mengakibatkan timbulnya limbah medis dalam jumlah besar di lingkungan. Jutaan orang telah diisolasi untuk mengurangi penularan virus. Pandemi ini juga telah mengubah gaya hidup masyarakat; menyebabkan hilangnya pekerjaan dan mengancam kelangsungan hidup jutaan orang, karena bisnis ditutup untuk mengendalikan penyebaran virus. Di seluruh dunia, penerbangan telah dibatalkan dan sistem transportasi telah ditutup. Secara keseluruhan, kegiatan ekonomi telah dihentikan dan pasar saham turun.¹ Ketersediaan pengujian secara luas, akurat dan cepat sangat berharga dalam mengungkap dinamika kompleks yang ada dalam SARS-CoV-2.¹¹ Untuk tujuan ini, laboratorium, universitas, dan perusahaan di seluruh dunia telah berlomba-lomba untuk mengembangkan dan memproduksi alat tes yang sangat dibutuhkan.¹¹

Salah satu dari banyak tantangan untuk mencegah penyebaran COVID-19 adalah kemampuan untuk mengidentifikasi kasus asimtomatik yang mengakibatkan

penyebaran virus ke kontak dekat. Berdasarkan sebuah studi tentang penumpang di kapal *Diamond Princess Cruise*, jumlah aktual individu yang terinfeksi SARS-CoV-2 mungkin jauh lebih tinggi daripada yang diperkirakan saat ini berdasarkan hasil tes positif. Memiliki prosedur pengujian yang akurat, mudah dan cepat dapat membantu menghilangkan penyebaran COVID-19 oleh orang dengan kasus asimtomatik. Untuk menghindari karantina yang tidak perlu pada individu negatif dan penyebaran infeksi oleh individu positif. Diagnosis dini memungkinkan dokter untuk memberikan intervensi segera bagi pasien yang berisiko lebih tinggi, agar tidak berkembang komplikasi yang lebih serius dari COVID-19.¹¹ Sampai saat ini, situasi COVID-19 di tingkat global maupun nasional masih dalam risiko sangat tinggi. Selama pengembangan vaksin masih dalam proses, dunia dihadapkan pada kenyataan untuk mempersiapkan diri hidup berdampingan dengan COVID-19.⁹

Jawaban terhadap terus berkembangnya pandemi dan kurangnya kapasitas serta reagen untuk tes laboratorium molekuler COVID-19, berbagai produsen tes diagnostik telah mengembangkan dan menjual berbagai alat tes cepat yang mudah digunakan untuk memfasilitasi pelaksanaan tes di luar laboratorium. Jenis-jenis tes sederhana ini didasarkan pada deteksi protein virus COVID-19 pada sampel dari saluran pernapasan (seperti sputum dan apusan tenggorokan) atau deteksi antibodi di dalam darah atau serum manusia yang dihasilkan sebagai respons terhadap infeksi. Oleh karena itu, menjadi sangat penting untuk dapat mengetahui diagnostik klinik maupun diagnostik laboratorium COVID-19 yang tepat. Berdasarkan latar belakang tersebut, peneliti tertarik untuk melakukan penelitian *literature review* untuk membahas dan menelaah berbagai informasi ilmiah mengenai diagnostik COVID-19 dengan pemeriksaan laboratorium mikrobiologi klinik.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini adalah penelitian yang berbentuk *literature review* yang dilakukan dengan cara identifikasi, evaluasi dan interpretasi terhadap semua hasil penelitian tertentu, topik tertentu atau fenomena yang menjadi perhatian. *Literature Review* adalah metode penelitian yang merangkum hasil-hasil penelitian primer untuk menyajikan fakta yang lebih komprehensif dan berimbang. Proses penelusuran literatur dilakukan pada beberapa database baik nasional maupun internasional seperti *Elsevier*, *PubMed*, *ProQuest* dan *ScienceDirect*, serta jurnal-jurnal nasional dengan kombinasi kata kunci sebagai berikut yaitu, *diagnostic AND Coronavirus disease 2019 (COVID-19) AND Clinical Microbiology Laboratory*

HASIL PENELITIAN

Setelah melalui tahap seleksi studi, didapatkan 22 literatur yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. *Population/Problem* dalam dua puluh dua literatur tersebut adalah *Coronavirus Disease (COVID-19)*. Dengan *outcomes* yang sama yakni *Clinical Microbiology Laboratory Testing for COVID-19*.

BAHASAN

Berdasarkan hasil penelitian dari literatur-literatur yang direview, menunjukkan bahwa penegakkan diagnostik COVID-19 dalam pemeriksaan laboratorium mikrobiologi klinik adalah dengan *Polymerase Chain Reaction (PCR)*. Penelitian Smithgall et al tahun 2020 di kota New York menunjukkan bahwa pemeriksaan molekuler yang sering digunakan adalah RT-PCR yang mana teknik ini sering dilakukan di laboratorium mikrobiologi untuk mendeteksi RNA yang spesifik terhadap virus patogen di saluran napas.¹² Sejalan dengan penelitian Uhteg K et al tahun 2020 memaparkan bahwa salah satu acuan utama dalam pemeriksaan SARS-CoV-2 dengan signifikan menggantikan metode tradisional dan membantu dalam hal *tracing* epidemiologi untuk penanganan wabah itu sendiri.¹³

Tabel 1. Hasil penelusuran literatur dengan kombinasi kata kunci: diagnostic AND Coronavirus disease 2019 (COVID-19) AND Clinical Microbiology Laboratory

No	Judul	Peneliti	Tahun	Hasil
1	Laboratory Testing of Severe Acute Respiratory Virus Coronavirus 2	Smithgall MC, Whittier S, Fernandes H	2020	Pengujian sangat penting untuk memahami dan mengelola pandemi SARS-CoV-2. Meskipun tes molekuler dan serologis memberikan data yang berarti untuk pengobatan pasien SARS-CoV-2, setiap metode memiliki kegunaan klinis yang berbeda.
2	Coronavirus Detection in the Clinical Microbiology Laboratory Are We Ready For Identifying and Diagnosing a Novel Virus?	Uhteg K, Carroll KC, Mostafa HH	2020	Wabah virus yang cepat, menghadirkan tantangan besar bagi laboratorium klinis yang dengan segera perlu untuk melakukan tes dengan sensitivitas dan spesifisitas tinggi, mendiagnosis serta mengendalikan infeksi. Metode molekuler telah menggantikan metode tradisional dan membantu laboratorium dalam pengawasan epidemiologi terhadap wabah.
3	Laboratory Diagnosis of COVID-19: Current Issues and Challenges	Tang YW, Schmitz JE, Persing DH, Stratton CW	2020	Wabah COVID-19 yang belum pernah terjadi sebelumnya di dunia menyoroti pentingnya diagnosis laboratorium virus <i>corona</i> manusia untuk membatasi penyebarannya dan dengan tepat merawat pasien yang terinfeksi parah.
4	Low performance of rapid antigen detection test as frontline testing for COVID-19 diagnosis	Schoy A, Anantharajah A, Bodéus M, Kabamba-Mukadi B, Verroken A, Rodriguez-Villalobos H	2020	<i>Viral load</i> yang lebih tinggi dikaitkan dengan tingkat deteksi antigen yang lebih baik. Sayangnya, sensitivitas keseluruhan dari COVID-19 AgRespi-Strip buruk, sehingga tidak dapat digunakan sendiri sebagai <i>frontline testing</i> untuk diagnosis COVID-19.
5	Real-time RT-PCR in COVID-19 detection: issues affecting the results	Tahamtan A, Ardebili A	2020	Hasil tes <i>real time</i> RT-PCR harus diinterpretasikan dengan hati-hati. Dalam kasus hasil real-time RT-PCR negatif dengan dicurigai adanya gejala klinis COVID-19.
6	Rapid establishment of laboratory diagnostics for the novel coronavirus SARS-CoV-2 in Bavaria, Germany, February 2020	Konrad R, Eberle U, Dangel A, Treis B, Berger A, Bengs K, et al	2020	Tes SARS-CoV-2 dari Corman et al. ini dapat digunakan dengan sistem SuperScript, tetapi perlu pengoptimalan lebih lanjut dari uji gen E, terutama untuk meningkatkan sensitivitas.
7	How many are we missing with ID NOW COVID-19 assay using direct nasopharyngeal swabs	Thwe PM, Ren P	2020	Secara retrospektif menganalisis hasil komparatif dari 182 swab nasofaring dengan metode <i>real time</i> RT-PCR. Sementara kesepakatan keseluruhan adalah 96.2%, ditemukan bahwa di antara 15 sampel yang positif dengan RT-PCR, 7 tidak ditemukan dengan ID NOW, dan tingkat negatif palsu adalah 47%.
8	Laboratory testing for the diagnosis of COVID-19	Lai CKC, Lam W	2020	Diagnosis COVID-19 sangat penting untuk manajemen klinis infeksi SARS-CoV-2 dan untuk menghadapi pandemi yang sedang berlangsung. Standar emas saat ini untuk mendeteksi COVID-19 melalui NAAT. Pengguna antigen, tes antibodi, dan POCT harus menyadari keterbatasannya. Ada kebutuhan mendesak akan teknologi diagnostik baru dengan persyaratan waktu penyelesaian yang cepat, dan kinerja yang baik untuk membantu mengendalikan pandemi atau dari mitigasi epidemi hingga kemajuan baru sebelum ketersediaan dan peluncuran vaksin yang efektif.

- 9 Implementation and evaluation of a novel real-time multiplex assay for SARS-CoV-2: in-field learnings from a clinical microbiology laboratory Williams E, Bond K, Chong B, Giltrap D, Eaton M, Kyriakou P, et al 2020 Dibandingkan dengan *gold standard* lab rujukan, uji sensitivitas terhadap SARS-CoV2 adalah 100%, spesifisitas 99.8%, nilai prediksi positif 98.1%, dan nilai prediksi negatif 100%.
- 10 Swabbing Thoroughly People for COVID-19 Positivity. Insights on the Main Bio-analytical and Microbiology Bias and Concerns Chirumbolo S 2020 Beberapa pertanyaan dasar tentang pengujian RT-qPCR harus diperdebatkan lebih lanjut. 1.) Bias pra-analisis sering terjadi. Praktik laboratorium yang baik dihentikan karena proses yang tergesa-gesa, pencemaran lingkungan terutama disebabkan oleh knalpot mesin, tetapi juga reagen kimia yang digunakan dalam pengujian, performa yang tidak terlalu lengkap dan *mini-lab* portabel dengan jaminan yang buruk. 2.) Prosedur yang buruk akan sangat mempengaruhi kinerja analitik tes RT-qPCR, terutama bila dilakukan pada subjek tanpa gejala
- 11 Comparison of commercial realtime reverse transcription PCR assays for the detection of SARS-CoV-2 Iglói Z, Leven M, Abdel-arem Abou-Nouar Z, Weller B, Matheussen V, Coppens J, et al 2020 Di sini, kami memberikan perbandingan langsung dari karakteristik kinerja utama kit RT-PCR komersial untuk mendeteksi SARS-CoV-2. Hanya satu uji silang yang bereaksi dengan virus *corona* manusia lainnya (yakni MERS) sedangkan uji lainnya tidak terjadi reksi silang.
- 12 Laboratory management for SARS-CoV-2 detection: a user-friendly combination of the heat treatment approach and rt-Real-time PCR testing Mancini F, Barbanti F, Scaturro M, Errico G, Iacobino A, Bella A, et al 2020 Pemurnian/purifikasi RNA adalah standar emas untuk mendeteksi SARS-CoV-2 dalam sampel swab, tetapi tergantung pada ketersediaan reagen kimia. Dalam studi ini, kami mengevaluasi RNA tanpa ekstraksi sebagai pilihan untuk purifikasi asam nukleat.
- 13 Judul : False-positive SARS-CoV-2 serology in 3 children with Kawasaki disease To KKW, Chua GT, Kwok KL, Wong JS, Au DCY, Lam YY, et al 2020 Deteksi antibodi dianjurkan untuk memastikan infeksi SARS-CoV-2 sebelumnya pada pasien yang IgG positif tetapi hasil PCR negatif.
- 14 Diagnostic testing for SARS-CoV-2 Boodman C, Lagacé-Wiens P, Bullard J 2020 Sensitivitas pengujian bergantung pada waktu pengambilan sampel, bervariasi menurut jenis spesimen dan tingkat keparahan penyakit, tes positif tidak selalu berarti ada *infectivity*.
- 15 Rate of re-positive RT-PCR test among patients recovered from COVID-19 Habibzadeh P, Sajadi MM, Emami A, Karimi MH, Yadollahie M, Kucheki M, et al 2020 Di antara 13 pasien, ada 9 tes RT-PCR positif, median gejala pasien ini benar-benar hilang selama 18 hari, dan 70% di antaranya memiliki angka positif yang sangat tinggi. Mengingat sensitivitas RT-PCR yang rendah untuk mendeteksi COVID-19 dalam sampel nasofaring (tingkat negatif palsu yang tinggi).
- 16 Diagnostic strategies for SARS-CoV-2 infection and interpretation of microbiological results Caruana G, Croxatto A, Coste AT, Opota O, Lamoth F, Jatón K, et al 2020 RT-PCR masih menjadi metode referensi untuk mendiagnosis infeksi SARS-CoV-2. Di sisi lain, meskipun sensitivitasnya bervariasi sesuai dengan waktu infeksi, serologi merupakan aset yang valid (a) untuk mencoba menyelesaikan kemungkinan perbedaan antara presentasi klinis dan radiologis yang sangat sugestif dan RT-PCR negatif, (b) untuk mengatasi perbedaan antara uji PCR yang berbeda dan (c) untuk tujuan epidemiologis.

- | | | | |
|--|--|------|---|
| 17 Preparedness of European diagnostic microbiology labs for detection of SARS-CoV-2, March 2020 | Matheussen V, 2020
Loens K,
Lammens C,
Vilken T,
Koopmans M,
Goossens H, | 2020 | Hambatan implementasi utama pengenalan uji molekuler SARS-CoV-2 di laboratorium diagnostic Eropa adalah ketersediaan kontrol positif dan spesifisitas panel. |
| 18 Laboratory diagnosis of novel corona virus (2019-nCoV)-present and the future | Sidiq Z,
Hanif M,
Dwivedi KK,
Chopra KK | 2020 | Deteksi molekuler berdasarkan <i>real-time</i> RT-PCR masih menjadi pilihan pertama untuk diagnosis SARS-CoV-2, dan deteksi serologis diperkenalkan sebagai alat tambahan. Terakhir, ada kebutuhan mendesak untuk meningkatkan kemampuan diagnostik dengan memperkenalkan tes perawatan lapangan yang andal dan akurat, yang akan membantu mengendalikan wabah ini secara efektif. |
| 19 Detection and quantification of SARS-CoV-2 by droplet digital PCR in real-time PCR negative nasopharyngeal swabs from suspected COVID-19 patients | Alteri C,
Cento V,
Antonello M,
Colagrossi L,
Merli M,
Ughi N, et al | 2020 | Ini memberikan hasil awal, membuktikan bahwa ddPCR adalah alat diagnostik molekuler menjanjikan untuk mendeteksi SARS-CoV-2 RNA tingkat rendah. Ini memiliki semua fitur utama dan dapat digunakan untuk meningkatkan dan mempercepat diagnosis COVID-19 dalam sampel klinis. Karena penggunaannya dapat diprediksi dalam praktik klinis rutin, konfirmasi lebih lanjut diperlukan untuk lebih memastikan sensitivitas, spesifisitas, dan keandalannya. |
| 20 Sensitivity evaluation of 2019 novel coronavirus (SARS-CoV-2) RT-PCR detection kits and strategy to reduce false negative | Zhou Y,
Pei F,
Ji M,
Wang L,
Zhao H,
Li H, et al | 2020 | Munculnya deteksi sampel campuran menantang sensitivitas detektor asam nukleat. Kami berspekulasi bahwa menggunakan <i>kit</i> sensitivitas tinggi, pengujian sampel campuran hanya cocok untuk populasi berisiko rendah. Tes antibodi dan asam nukleat harus saling melengkapi untuk meningkatkan diagnosis, terutama menyaring pasien asimtomatik dengan lebih baik dan mengurangi negatif palsu dari pasien pra-morbid dengan latensi virus rendah. |
| 21 A Novel Multiplex qRT-PCR Assay to Detect SARS-CoV-2 Infection: High Sensitivity and Increased Testing Capacity | Petrillo S,
Carrà G,
Bottino P,
Zanotto E,
De Santis MC,
Margarita JP,
et al | 2020 | Kami menemukan bahwa deteksi multipleks qRT-PCR dapat secara efektif mendeteksi infeksi SARS-Cov-2 pada spesimen manusia dengan sensitivitas 100%. |
| 22 The Microbiology of Coronaviruses | Zafar H | 2020 | SARS-CoV-2 termasuk dalam <i>beta coronavirus</i> . Viabilitas virus pada permukaan yang berbeda berkisar antara 3 hingga 72 jam. PCR adalah tes pilihan. Jika tidak ada obat dan vaksin antivirus, penerapan tindakan pencegahan membantu memerangi hasil spesifik yang mengancam jiwa. |

Penelitian Tang YW et al tahun 2020 pada tahap analitik untuk pemeriksaan SARS-CoV-2, metode yang menjadi pilihan utama adalah metode molekuler dengan *real time reverse transcription* (RT-PCR).¹⁴ Penelitian Tahamtan A et al tahun 2020 mendapatkan bahwa pemeriksaan dengan metode *real time* RT-PCR saat ini diakui sebagai “*gold standard*” atau pemeriksaan

definitif dalam hal mendeteksi virus termasuk SARS-CoV-2 yang merupakan penyebab COVID-19.¹⁵ Penelitian Lai CKC dan Lam W tahun 2020 memaparkan bahwa standar emas saat ini untuk mendeteksi COVID-19 aktif tetap deteksi virus oleh *nucleic acid amplification test* (NAAT) dalam spesimen pernapasan.¹⁶ Penelitian Chirumbolo S tahun 2020

standar emas yang diakui saat ini adalah purifikasi RNA untuk kasus COVID-19.¹⁷ Penelitian Mancini F et al tahun 2020 menjelaskan bahwa *purification* / pemurnian / purifikasi RNA standar emas untuk deteksi SARS-CoV-2.¹⁸ Penelitian Boodman C et al tahun 2020 mendapati bahwa pengujian untuk SARSCoV-2 bergantung pada reaksi berantai polimerase transkripsi terbalik (RT-PCR).¹⁹ Penelitian Habibzadeh P et al tahun 2020 menjelaskan bahwa uji RT-PCR adalah uji laboratorium terpenting yang saat ini kami andalkan untuk diagnosis penyakit *Coronavirus* 2019 (COVID-19).²⁰ Penelitian Caruana G et al tahun 2020 metode *nucleic acid amplification tests* (NAATs) tetap menjadi standard diagnosis COVID-19 karena memiliki sensitivitas yang tinggi pada tahap awal penyakit.²¹ Penelitian Sidiq Z et al tahun 2020 pemeriksaan secara molekuler yang bisa lebih diandalkan dalam mendiagnosis COVID-19 yakni dengan *real time* RT-PCR.²² Penelitian Alteri C et al tahun 2020 mendapatkan bahwa metode molecular dengan RT-PCR merupakan pemeriksaan yang paling dianjurkan untuk mendeteksi SARS-CoV-2.²³ Penelitian Zhou Y et al tahun 2020 pemeriksaan dengan RT-PCR masih dianggap merupakan standar baku deteksi virus secara molekuler.²⁴ Penelitian Petrillo S et al tahun 2020 menjelaskan bahwa *Quantitative real-time reverse transcription-polymerase chain reaction* (qRT-PCR) merupakan metode pemeriksaan laboratorium yang paling banyak digunakan diseluruh dunia dalam rangka untuk mendeteksi SARS-CoV-2.²⁵ Hal ini juga sejalan dengan penelitian Zafar H tahun 2020 diantara beberapa pemeriksaan yang ada untuk diagnostik, pemeriksaan secara molekuler yaitu teknik *polymerase chain reaction* (PCR) yang paling banyak digunakan dan bisa diandalkan.²⁶

Sesuai dengan penelitian literatur-literatur yang direview, pemeriksaan PCR direkomendasikan dan dijadikan sebagai “*gold standard*” dalam mendiagnostik *Coronavirus Disease* 2019 (COVID-19)

dikarenakan sensitivitas dan spesifisitas yang tinggi dari pemeriksaan PCR, sejalan dengan penelitian Uhteg K et al tahun 2020 metode deteksi asam nukleat lebih spesifik dalam penegakkan diagnosis dibandingkan metode tradisional termasuk kultur sel.¹³ Penelitian Tang YW et al tahun 2020 mendapatkan PCR menjadi pilihan utama karena memiliki keunggulan dalam pemeriksaan amplifikasi dan analisisnya.¹⁴ Penelitian Tahamtan A et al tahun 2020 pemeriksaan ini mengungguli pemeriksaan lainnya karena memiliki sensitivitas dan spesifisitas yang tinggi.¹⁵ Penelitian Iglói Z et al tahun 2020 menunjukkan bahwa semua *kit* RT-PCR yang disertakan dalam penelitian ini menunjukkan efisiensi PCR 90%, sementara sebagian besar tes menunjukkan sensitivitas yang baik untuk setidaknya satu dari target yang dimasukkan.²⁷ Sejalan dengan itu penelitian Sidiq Z et al tahun 2020 bahwa metode ini memiliki keuntungan yaitu dapat menganalisis dan amplifikasi sampel dalam sistem yang tertutup secara bersamaan sehingga menurunkan angka positif palsu yang dapat timbul karena kontaminasi dari amplifikasi.²² Penelitian Petrillo S et al tahun 2020 memaparkan bahwa pemeriksaan ini sering digunakan karena sensitivitas yang tinggi.²⁵

Di sisi lain, dalam beberapa literatur-literatur yang direview menyebutkan bahwa negatif palsu ataupun positif palsu pada pemeriksaan PCR dapat terjadi, dikarenakan oleh beberapa faktor, sejalan dengan penelitian Tahamtan A et al tahun 2020 mendapatkan bahwa pemeriksaan dengan metode PCR dapat menimbulkan hasil positif palsu dan negatif palsu. Banyak kasus yang dilaporkan sebagai suspek COVID-19 dengan gejala klinis yang khas dan CT-Scan yang spesifik tapi tidak didiagnosis sebagai COVID-19. Beberapa faktor berpengaruh terhadap tidak konsistennya hasil *real time* RT-PCR, pengambilan spesimen dari tempat yang salah dan waktu yang tidak tepat juga berpengaruh terhadap hasil negatif palsu pada pemeriksaan ini. Begitu juga dengan cara pengambilan sampel dan transportasi

sampai ke laboratorium juga cara pengerjaan spesimen dalam laboratorium yang memiliki teknik dan cara tertentu dapat menentukan hasil akhir dari tes. Menjalankan standar laboratorium sesuai protokol dan keselamatan, pengambilan spesimen bukan hanya di satu bagian tubuh namun lebih dari satu, tidak hanya pada saluran napas atas tapi juga saluran napas bawah. Sedangkan untuk menghindari terjadinya positif palsu, yang sering berhubungan dengan kontaminasi sampel spesimen maka laboratorium tetap menjalankan standar protokol tes sesuai dengan alur pemeriksaan yang ada. Proses pemeriksaan spesimen yang sesuai prosedur, standard laboratorium yang baik, kualitas *kit real time RT-PCR* dapat mempengaruhi dan menurunkan ketidakakuratan yang dapat ditimbulkan.¹⁵ Penelitian Lai CKC dan Lam W et al tahun 2020 kinerja RT-PCR berdasarkan waktu sejak onset gejala atau paparan, perkiraan tingkat hasil negatif palsu adalah 100% pada hari paparan, 38% pada hari ke 5 (*estimated as the first day of symptoms / perkiraan sebagai gejala hari pertama*), 20% pada hari ke-8, dan 66% pada hari ke-21.¹⁶ Penelitian Chirumbolo S tahun 2020 menjelaskan dari subjek asimtomatik, menunjukkan tingkat kegagalan yang jelas tinggi, karena banyak terkait bias dan kesalahan analitis.¹⁷ Penelitian Habibzadeh P et al tahun 2020 mengingat sensitivitas rendah (tingkat negatif palsu yang tinggi) dari tes RT-PCR untuk diagnosis COVID-19 dalam sampel nasofaring.²⁰ Penelitian Caruana G et al tahun 2020 mendapati bahwa hasil negatif palsu dapat terjadi karena beberapa faktor seperti tidak adekuatnya sampel yang diambil melalui hidung, tingkat virulensi yang rendah, waktu pengambilan sampel, tipe spesimen (NP swab, OP swab, feses, sputum), dan transportasi (suhu, container).²¹ Penelitian Alteri C et al tahun 2020 tetapi pemeriksaan ini belum optimal dalam deteksi virus penyebab COVID-19 karena adanya angka negatif palsu yang cukup tinggi yaitu 20-30% dengan tingkat virulensi rendah merupakan penyebab

utama terjadinya bias dalam pemeriksaan RT-PCR ini.²³ Penelitian Petrillo S et al tahun 2020 menjelaskan bahwa meskipun pemeriksaan ini sering digunakan karena sensitivitas yang tinggi, namun hasil negatif palsu juga banyak timbul terutama pada pasien dengan tingkat virulensi yang rendah.²⁵ Penelitian Zafar H tahun 2020 mendapati bahwa meskipun demikian dalam pemeriksaan PCR dapat terjadi hasil yang meragukan karena adanya kemungkinan positif palsu dan negatif palsu. Sehingga perlu dilakukan tes sebanyak minimal 2x yang berjarak 1 minggu untuk pemeriksaan molekular berupa PCR maupun pemeriksaan serologis. Penyimpanan spesimen juga berpengaruh terhadap hasil dari pemeriksaan, dimana spesimen harus disimpan dalam suhu beku -70 °C atau lebih untuk menjaga viabilitas dari isolasi virus.²⁶

SIMPULAN

Diagnostik Covid-19 di Laboratorium Mikrobiologi dapat dilakukan dengan RDT Antigen, RDT Antibodi, PCR, dan Kultur. Diagnostik *Coronavirus Disease* (COVID-19) dengan Pemeriksaan Laboratorium Mikrobiologi Klinik yang direkomendasikan dan menjadi gold standar ialah Pemeriksaan PCR (*Polymerase Chain Reaction*). Namun ada juga beberapa faktor yang dapat mempengaruhi hasil pemeriksaan PCR dan menyebabkan negatif palsu maupun positif palsu terhadap hasil. Pemeriksaan Laboratorium Mikrobiologi Klinik sangat penting dalam mendiagnostik COVID-19 karena sangat membantu dalam berbagai aspek.

Konflik Kepentingan

Penulis menyatakan tidak terdapat konflik kepentingan dalam studi ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Saadat S, Rawtani D, Hussain CM. Environmental perspective of COVID-19. *Science of the Total Environment*. 2020;728:1-2

2. Park C, Lee J, Hassan ZU, Ku KB, Kim SJ, Kim HG, et al. Robust and sensitive detection of SARS-CoV-2 using PCR based methods. *bioRxiv*. 2020:7. doi: <https://doi.org/10.1101/2020.07.03.186304>
3. Rothan HA, Byrareddy SN. The epidemiology and pathogenesis of coronavirus disease (COVID-19) outbreak. *Journal of Autoimmunity*. 2020;109:1-3
4. Lu H. Drug treatment options for the 2019-new coronavirus (2019-nCoV). *Bioscience Trends*. 2020;14(1):69-71
5. Wang W, Tang J, Wei F. Updated understanding of the outbreak of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) in Wuhan, China. *Journal of Medical Virology*. 2020; 92:441-2
6. Nishiura H, Jung S, Linton NM, Kinoshita R, Yang Y, Hayashi K, et al. The Extent of Transmission of Novel Coronavirus in Wuhan, China, 2020. *Journal of Clinical Medicine*. 2020; 9:1
7. Bassetti M, Vena A, Giacobbe DR. The novel Chinese coronavirus (2019-nCoV) infections: Challenges for fighting the storm. *European Journal of Clinical Investigation*. 2020;50(3):1
8. WHO. COVID-19-global-data. Available from: <https://covid19.who.int/WHO-COVID-19-global-table-data.csv>
9. Kesehatan Kesehatan RI. Pedoman Pencegahan dan Pengendalian Coronavirus Disease (COVID-19). Kementerian Kesehatan. 2020. Available from: https://covid19.go.id/storage/app/media/Protokol/2020/Juli/REV-05_Pedoman_P2_COVID-19_13_Juli_2020.pdf
10. Singhal T. A Review of Coronavirus Disease-2019 (COVID-19). *The Indian Journal of Pediatrics*. 2020;87(4):283
11. Carter LJ, Garner L V., Smoot JW, Li Y, Zhou Q, Saveson CJ, et al. Assay Techniques and Test Development for COVID-19 Diagnosis. *ACS Central Science*. 2020;6(5):591
12. Smithgall MC, Whittier S, Fernandes H. Laboratory Testing of Severe Acute Respiratory Virus Coronavirus 2. *Advances in Molecular Pathology*. 2020;3:14. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.yamp.2020.07.002>
13. Uhteg K, Carroll KC, Mostafa HH. Coronavirus Detection in the Clinical Microbiology Laboratory: Are We Ready for Identifying and Diagnosing a Novel Virus? *Clin Lab Med*. 2020; 40(4):469,462-463
14. Tang YW, Schmitz JE, Persing DH, Stratton CW. Laboratory diagnosis of COVID-19: Current issues and challenges. *Journal of Clinical Microbiology*. 2020; 58(6):1,4
15. Tahamtan A, Ardebili A. Real-time RT-PCR in COVID-19 detection: issues affecting the results. *Expert Review of Molecular Diagnostics*. 2020; 20(5):1-2
16. Lai CKC, Lam W. Laboratory testing for the diagnosis of COVID-19. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2020; 538: 227-228.
17. Chirumbolo S. Swabbing Thoroughly People for COVID-19 Positivity. Insights on the Main Bio-analytical and Microbiology Bias and Concerns. *Curr Microbiol*. 2020; 77(11): 3680-3684
18. Mancini F, Barbanti F, Scaturro M, Errico G, Iacobino A, Bella A, et al. Laboratory management for SARS-CoV-2 detection: a user-friendly combination of the heat treatment approach and rt-Real-time PCR testing. *Emerging Microbes and Infections*. 2020; 9(1):1393

19. Boodman C, Lagacé-Wiens P, Bullard J. Diagnostic testing for SARS-CoV-2. *CMAJ*. 2020; 192(26): E713
20. Habibzadeh P, Sajadi MM, Emami A, Karimi MH, Yadollahie M, Kucheki M, et al. Rate of re-positive RT-PCR test among patients recovered from COVID-19. *Biochemia Medica*. 2020; 30(3):1-2
21. Caruana G, Croxatto A, Coste AT, Opota O, Lamoth F, Jatou K, et al. Diagnostic strategies for SARS-CoV-2 infection and interpretation of microbiological results. *Clinical Microbiology and Infection*. 2020; 26(9):1179
22. Sidiq Z, Hanif M, Dwivedi KK, Chopra KK. Laboratory diagnosis of novel corona virus (2019-nCoV)-present and the future. *Indian Journal of Tuberculosis*. 2020;67(4):S130.
23. Alteri C, Cento V, Antonello M, Colagrossi L, Merli M, Ughi N, et al. Detection and quantification of SARS-CoV-2 by droplet digital PCR in real-time PCR negative nasopharyngeal swabs from suspected COVID-19 patients. *PLoS One*. 2020;15(9):8,2-7
24. Zhou Y, Pei F, Ji M, Wang L, Zhao H, Li H, et al. Sensitivity evaluation of 2019 novel coronavirus (SARS-CoV-2) RT-PCR detection kits and strategy to reduce false negative. *PLoS One*. 2020;15(11):1
25. Petrillo S, Carrà G, Bottino P, Zanotto E, De Santis MC, Margaria JP, et al. A novel multiplex qrt-pcr assay to detect sars-cov-2 infection: High sensitivity and increased testing capacity. *Microorganisms*. 2020; 8(7):1-10
26. Zafar H. The microbiology of coronaviruses. *Journal of Pakistan Medical Association*. 2020; 70 (Suppl 3):S46
27. Iglói Z, Istenik M, Abdel-Karem Abou-Nouar Z, Weller B, Matheussen V, Coppens J, et al. Comparison of commercial realtime reverse transcription PCR assays for the detection of SARS-CoV-2. *J Clin Virol*. 2020;129:1-2