

EVALUASI SENSITIFITAS DAN BATAS NILAI DETEKSI CT VALUE DARI 3 PRODUK KOMERSIAL TES CEPAT ANTIGEN SARS COV-2 TERHADAP RT-PCR

William Gilbert Satyanegara¹, Vanessa Irene Pati¹, Yohanes Firmansyah², Hendsun Hendsun³, Siufui Hendrawan⁴

¹Fakultas Kedokteran Universitas Tarumanagara

Email: williamno789@gmail.com

¹Fakultas Kedokteran Universitas Tarumanagara

Email: vanessairenea@gmail.com

²Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Katolik Indonesia Atma Jaya

Email: yohanesfirmansyah28@gmail.com

³Dokter umum, Klinik Pratama Medika Plus, Jakarta, Indonesia

Email: hendsunh@ymail.com

⁴Departemen Biokimia dan Biologi Molekuler, Fakultas Kedokteran, Universitas Tarumanagara

Email: siufui@gmail.com

Masuk: 09-04-2023, revisi: 06-10-2024, diterima untuk diterbitkan: 17-10-2024

ABSTRAK

Infeksi SARS CoV-2 pertama kali dilaporkan pada tahun 2019, dan menjadi pandemi hingga saat ini. Pemeriksaan penunjang RT-PCR dengan CT value menjadi standar baku emas dalam penegakan diagnosis Keterbatasan pada pemeriksaan RT-PCR membuat tes cepat antigen menjadi alternatif pemeriksaan masal COVID-19. Secara umum, tes antigen cepat diperkirakan dapat bekerja baik pada pasien dengan kadar viral load yang tinggi (CT value <25), namun perlu adanya studi lebih lanjut mengenai nilai prediksi CT value terhadap antigen seiring dengan banyaknya produk komersial tes antigen cepat yang beredar. Hal ini membuat peneliti tertarik untuk meneliti hal tersebut. Desain penelitian ini adalah potong lintang. Pengambilan data dilaksanakan di Klinik Citra Semanan dan Klinik Sukma pada periode Januari 2021 hingga November 2022. Sampel penelitian berupa nilai CT value pada ketiga alat jenis antigen yang disamakan (Antigen A, B dan C) terhadap RT-PCR. Analisa statistik menggunakan independent t-test dan Mann Whitney, uji ROC Curve. Sebelum dilakukan pengujian statistik dilakukan uji normalitas data menggunakan uji Kolmogorov-Smirnoc dan Shapiro Wilk serta pengujian vairan antar kelompok dengan uji Levene. Ketiga alat antigen memiliki sensitifitas yang berbeda-beda. Antigen A memiliki sensitifitas sebesar 68,9%, Antigen B memiliki sensitifitas sebesar 88,9% dan Antigen C memiliki sensitifitas sebesar 82,4%. Didapatkan CT value gen ORF pada ketiga jenis antigen 24,00 dan CT value gen ORF sebesar 22,68. Nilai median CT value gen ORF produk A 20,20 (11,01-30,20), B 22,09 (12,00-30,71), dan C 21,51 (10,20-29,58) dengan p-value 0,005. Nilai median dari CT value gen N pada produk A 18,89 (7,72-28,50), B 21,18 (10-50-30,56), dan C 20,59 (9,23-29,35) dengan p-value 0,004. Nilai sensitifitas ketiga alat tersebut sangatlah bervariasi dengan rentang 68,9% hingga 88,9%. Penelitian ini didapatkan bahwa ketiga antigen ini mampu mendeteksi dengan nilai CT value pada angka 24 untuk gen ORF dan 22,68 pada gen N. Hal ini dapat membantu tenaga kesehatan untuk menjelaskan kepada pasien yang mendapatkan hasil positif, memperkirakan lama hari paska infeksi, dan besarnya pasien untuk menularkan virus tersebut kepada orang lain.

Kata Kunci: Covid-19, real time-PCR, test antigen cepat, CT-value

ABSTRACT

SARS CoV-2 infection was first reported in 2019, and has become a pandemic to date. RT-PCR supporting examination with CT value is the gold standard in establishing the diagnosis. Limitations on RT-PCR tests make rapid antigen tests an alternative to mass testing for COVID-19. In general, the rapid antigen test is thought to work well in patients with high viral load levels (CT value <25), but further studies are needed regarding the predictive value of CT value for antigen as there are many rapid antigen test commercial products circulating. This makes researchers interested in researching this matter. The research design is cross sectional. Data collection was carried out at the Citra Semanan Clinic and Sukma Clinic from January 2021 to November 2022. The research sample was the CT

value on the three antigen-type tools that were disguised (Antigens A, B and C) against RT-PCR. Statistical analysis using independent *t*-test and Mann Whitney, ROC Curve test. Prior to statistical testing, data normality was tested using the Kolmogorov-Smirnoc and Shapiro Wilk tests and testing for variance between groups with the Levene test. The three antigen tools have different sensitivities. Antigen A has a sensitivity of 68.9%, Antigen B has a sensitivity of 88.9% and Antigen C has a sensitivity of 82.4%. The CT value of the ORF gene for the three types of antigen was 24.00 and the CT value of the N gene was 22.68. The median CT value of ORF gene products A 20.20 (11.01-30.20), B 22.09 (12.00-30.71), and C 21.51 (10.20-29.58) with *p*-value 0.005. The median value of the CT value of gene N in products A 18.89 (7.72-28.50), B 21.18 (10-50-30.56), and C 20.59 (9.23-29.35) with a *p*-value of 0.004. The sensitivity values of the three tools varied greatly with a range of 68.9% to 88.9%. This study found that these three antigens were able to detect with a CT value of 24 for the ORF gene and 22.68 for the N gene. This can help health workers to explain to patients who get positive results, estimate the length of days after infection, and the magnitude patient to transmit the virus to others.

Keywords: Covid-19, real time-PCR, test antigen cepat, CT-value

1. PENDAHULUAN

Latar Belakang

Infeksi SARS-CoV 2 pertama dilaporkan pada tahun 2019, dengan kemampuannya menyebar dengan cepat dan menyebabkan sindrom pernapasan akut membuat virus ini menjadi pandemi hingga saat ini (Sun et al., 2020). Tercatat pada tahun 2021, jumlah kasus COVID 19 mencapai 240,061,637 kasus dengan angka kematian akibat COVID-19 di dunia mencapai 4,891,942. (Sisay et al., 2022) Kasus COVID-19 pertama kali dikonfirmasi di Indonesia pada tahun 2020, dan menyebar dengan luas dan cepat ke seluruh provinsi. Pada tahun 2021, Indonesia memiliki angka kasus COVID-19 sebesar 3,892,479 kasus dengan 120,013 kasus kematian (Setiadi et al., 2022).

Pemeriksaan penunjang yang memiliki sensitivitas dan spesifisitas tinggi dibutuhkan dalam manajemen dari pasien dengan COVID 19, khususnya pada masa pandemi. Pemeriksaan *Real Time Reverse Quantitative Polymerase Chain Reaction* (RT-qPCR) menjadi standar baku emas dalam penegakan diagnosis COVID-19. Pemeriksaan ini menggunakan sampel dari swab nasofaring dan tenggorokan, dan menargetkan adanya RNA virus pada kapsul (env), nukleokapsid (N), *spike* (S), gen ORF. Pada individu yang memiliki gejala COVID-19, RNA virus pada swab nasofaring diukur oleh *cycle threshold* (CT) yang dapat terdeteksi paling cepat dalam 1 hari timbulnya gejala dan memuncak pada minggu pertama munculnya gejala. CT merupakan angka siklus replikasi yang dibutuhkan untuk memproduksi sinyal fluoresen, dengan kadar CT yang rendah menunjukkan kadar tingginya kadar *viral load* dalam tubuh, dengan kadar CT dibawah 40 secara klinis dianggap sebagai positif secara PCR (Sethuraman et al., 2020).

Namun, terjadi kesejangan yang cukup besar antara jumlah sampel terhadap kapasitas laboratorium dalam menggunakan RT-PCR. Pemeriksaan RT-PCR membutuhkan alat khusus, laborat yang ahli dan terbiasa dengan teknik molekular. Selain itu, pemeriksaan ini memakan biaya yang cukup besar. Besarnya kebutuhan akan pemeriksaan diagnostik membuat diperluknya secara cepat alternatif pemeriksaan diagnosis COVID-19. Pemeriksaan deteksi antigen merupakan salah satu solusi untuk membantu menegakan diagnosis COVID-19 secara cepat (Kyosei et al., 2021).

Pemeriksaan cepat antigen sederhana dan menghasilkan hasil dalam kurang dari 30 menit. Pemeriksaan yang cepat ini membantu penegakan kasus COVID-19, mempermudah manajemen penyakit. Pemeriksaan antigen bekerja melalui teknik *lateral flow immunoassay*. (Parvu et al., 2021) Sensitivitas dari antigen berentang dari 0-94%, dengan spesifisitas yang tinggi (>97%) dengan syarat yang dikatakan layak adalah sensitivitas >80% dan spesifisitas >97%. Pemeriksaan cepat antigen diperkirakan akan bekerja baik pada pasien dengan kadar viral load yang tinggi (nilai

CT <25) yang dimana muncul pada saat fase pre-simptomatik dan gejala simptomatik awal. Hal ini membuat pemeriksaan ini sangat baik untuk penegakan diagnosis awal. Meskipun demikian, diperkirakan pasien yang datang pada saat hari ke 5-7 setelah muncul gejala diperkirakan akan menghasilkan nilai false negatif dikarenakan kadar *viral load* yang rendah. (Loho & Widodo, 2021) Dengan banyaknya antigen yang beredar di Indonesia, masih kurangnya penelitian mengenai kemampuan prediksi nilai CT oleh test antigen cepat sehingga peneliti tertarik mengenai hal ini.

Penelitian ini berfokus terhadap perbandingan sensitifitas dari 3 merk Antigen yang beredar di masyarakat Indonesia, disertai kemampuan batas CT *value* (Gen N dan Gen ORF) yang masih dapat di deteksi dari ketiga merk antigen tersebut

2. METODE PENELITIAN

Desain Penelitian dan Subjek Penelitian

Desain penelitian ini berupa *Cross Sectional* atau potong lintang untuk melihat nilai CT-value pada ketiga alat jenis antigen berupa Antigen A, Antigen B, Antigen C (Nama Disamarkan) terhadap RT-PCR. Penelitian ini dilaksanakan di Klinik Citra Semanan dan Klinik Sukma pada periode waktu November 2022. Sampel penelitian ini meliputi seluruh penderita COVID-19 yang terkonfirmasi PCR pada periode Januari 2021 hingga November 2022.

Sampel minimum yang digunakan pada penelitian ini adalah 359 sampel berdasarkan rumus besar sampel minimum terbesar dari berbagai rumus yaitu rumus besar sampel untuk mengukur perbedaan antara variable numerik dan kategorik. Metode pengambilan sampel yang digunakan pada penelitian ini berupa *total sampling*. Kriteria inklusi pasien ini adalah seluruh pasien yang didapatkan hasil RT-PCR positif dan dilakukan pemeriksaan antigen di waktu yang bersamaan. Kriteria eksklusi dalam penelitian ini adalah pasien yang dilakukan pemeriksaan antigen diluar dari merk A, B, dan C (nama disamarkan) serta tindakan PCR dan antigen tidak dilakukan dalam waktu yang bersamaan

Alat dan Bahan PCR

1. Mikropipet (dengan ukuran bervariasi)
2. Ujung penyaring (dengan berbagai ukuran)
3. Alkohol 70%.
4. Spesimen NPOP
5. Handuk/tisu kertas
6. Kantong plastik biohazard
 - a. Ekstraksi RNA (Otomatis, Manik-Manik Magnet):
 - i. Mesin ekstraktor Zixpress
 - ii. Kit ekstraktor Zixpress
 - iii. Tabung 15/50 mL
 - b. RT-qPCR
 - i. Deteksi gen XABTS 3 kit PCR 2019-nCOV
 - ii. Mesin PCR waktu nyata
 - iii. Tabung 1,5/2,0 mL
 - iv. Tabung/strip PCR 0,1/0,2 mL
 - v. Sealer/penutup tabung PCR

Tahap Ekstraksi Spesimen

ZiXpress 32 Pemurnian Asam Nukleat Otomatis

Semua reagen dan sampel harus dimasukkan ke dalam kolom 1 dan 6.

- Tambahkan 300 μ L Penyangga Pengikat ke blok sumur dalam.
- Tambahkan 8 μ L Proteinase K ke dalam sumur.
- Tambahkan 200 μ L setiap sampel (VTM) ke sumur.
- Masukkan blok berisi spesimen dan premix ke dalam mesin ekstraktor.
- Lakukan ekstraksi menggunakan set protokol cepat pada mesin Zixpress (10 menit).

Gen XABT 3 - Kit PCR Ganda Waktu Nyata untuk mendeteksi 2019-nCoV

1. Persiapan campuran induk

Komponen	Volume (μ L) untuk 1 sistem reaksi	Volume (μ L) untuk N sistem reaksi
Larutan reaksi amplifikasi asam nukleat Campuran	18	18 x N
Campuran enzim	2	2 x N
Total	20	20 x N

2. Setelah mencampur master mix dengan baik, masukkan 20 μ L ke dalam strip tube atau piring/pelat.
3. Masukkan 5 μ L sampel RNA, kontrol positif dan kontrol negatif ke dalam masing-masing lubang.
4. Setelah dikeluarkan, tutup strip dengan penutup dan sentrifus dengan ringan. Jika pelat digunakan, tutup sumur dengan sealer pelat.
5. Pindahkan tabung strip atau pelat ke instrumen PCR waktu nyata dengan kondisi berikut.

Langkah	Suhu ($^{\circ}$ C)	Waktu	Siklus	Mode pemerolehan
1	50	10 menit	1	
2	95	3 detik	1	
3	95	5 detik	45	Memperoleh pada FAM, VIC, ROX, Cy5
	60	30 detik		

Prosedur Penelitian

Penelitian diawali dengan melakukan perizinan kepada Komisi Etik Penelitian dan kepala klinik mengenai kaji etik penelitian. Data yang diambil merupakan data sekunder, yaitu data rekam medis secara berturut-turut untuk mendapatkan: (1) Variabel bebas dalam penelitian ini 3 jenis alat test cepat antigen; (2) Variabel tergantug dalam penelitian ini adalah Nilai sensitifitas dari ketiga jenis alat antigen serta batas *CT value* gen ORF dan gen N yang dapat dideteksi oleh ketiga jenis alat tersebut

Analisa Statistik

Analisa utama dalam penelitian ini adalah membandingkan besaran nilai sensitifitas dari ketiga jenis antigen tersebut dalam memprediksi kejadian COVID-19 (Berdasarkan PCR). Nilai sensitifitas didapatkan dari hasil bagi total responden yang mengalami antigen positif dan PCR positif dibagi dengan total responden yang mengalami PCR positif dalam satu jenis kit antigen. Ketiga hasil nilai sensitifitas akan dibandingkan secara deskriptif.

Analisa statistik yang digunakan dalam penelitian ini meliputi uji kategorik-numerik berupa *Independent t-test* dan *Mann Whitney*, uji *ROC Curve*. Uji normalitas data akan dilakukan dengan menggunakan uji *Kolmogorov-Smirnov* dan *Shapiro Wilk*. Uji selanjutnya untuk varians antar kelompok dilakukan dengan menggunakan uji *Levene Test*. Uji *anova* akan dilakukan bila dari

hasil analisa data didapatkan sebaran normal dan varian sama, sedangkan bila sebaran normal dan varian berbeda akan dilakukan uji *one way anova*, dan bila secara tidak normal maka diuji dengan uji *Kruskal Wallis*. Bila hubungan antara dua variable terdapat perbedaan rerata yang signifikan atau nilai *p-value* <0,05, maka dilanjutkan dengan melakukan uji kemampuan predictor menggunakan uji *ROC* untuk mendeteksi gen ORF dan N dengan SARS CoV-2. Prediktor yang baik pada nilai *ROC* atau *AUC* adalah penyimpangan sudut diatas 45 derajat dengan nilai *p-value* <0,05. Nilai akurasi ini nantinya akan terbagi berdasarkan 5 kelompok. Sangat baik (*excellent*) dengan nilai 0,90-1,00, baik (*good*) dengan nilai 0,80-0,90, cukup (*fair*) dengan nilai 0,70-0,80, buruk (*poor*) dengan nilai 0,60-0,70, dan gagal dikatakan bila nilai 0,50-0,60. Pada suatu kondisi dimana nilai *AUC* dibawah 0,50 maka dilakukan metode konversi dengan rumus $(1-AUC)$ dasar lalu dilanjutkan dengan menilai kemampuan akurasi variable sebagai parameter predictor. Setelah penentuan kurva *ROC*, maka akan ditentukan titik potong atau cut-off point pada variable gen ORF dan gen N kepada keseluruhan test antigen dan masing-masing tes antigen cepat. Selanjutnya, dari nilai cut-off poin tersebut dicari nilai atau besaran sensitivitas, spesifisitas, nilai prediksi negative, dan nilai prediksi positif dari masing-masing variable bebas dalam memperkirakan variable tergantung.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini, terdapat total 359 individu yang memiliki PCR reaktif yang dicantumkan pada Tabel 1. Sebanyak 244 individu diperiksa antigen A, 81 individu diperiksa antigen B, dan 34 individu diperiksa dengan antigen C

Tabel 1. Karakteristik Dasar Hasil Antigen

Jenis Antigen	Hasil Antigen		Total
	Reaktif	Nonreaktif	
Antigen A	168 (68,9%)	76 (31,1%)	244 (100%)
Antigen B	72 (88,9%)	9 (11,1%)	81 (100%)
Antigen C	28 (82,4%)	6 (17,6%)	34 (100%)
Total	268 (74,7%)	91 (25,3%)	359 (100%)

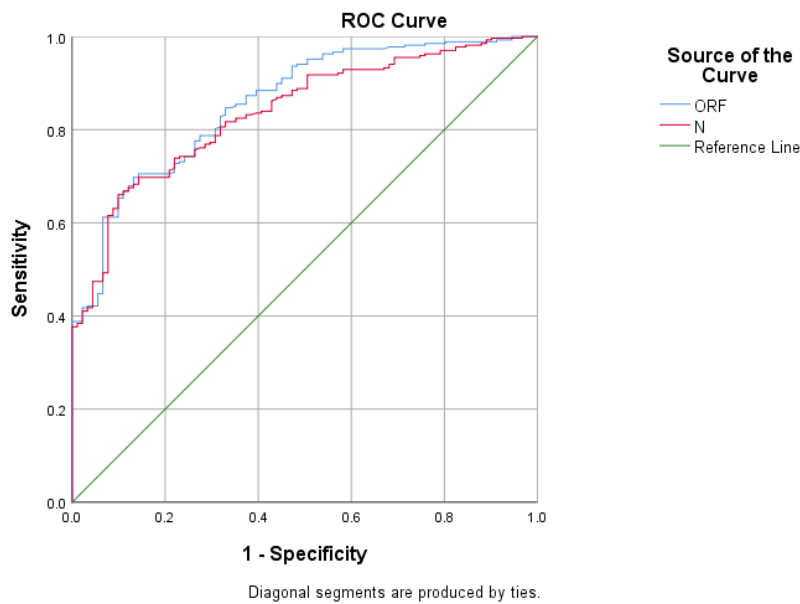
Berdasarkan hasil di atas diketahui persentasi hasil antigen reaktif terbesar (nilai sensitifitas terbesar) adalah antigen B dengan 88,9% (72 individu) dan terkecil adalah antigen A dengan 68,9% (168 individu). Analisis *Kruskal Wallis* dilakukan untuk menilai adanya perbedaan yang signifikan hasil reaktif pada ketiga jenis antigen dengan hasil *CT value* (Tabel 2), dan menunjukkan bahwa perbedaannya signifikan, dengan *p value* 0,005 pada gen ORF dan *p value* 0,004 pada gen N.

Tabel 2. Analisis *Kruskal Wallis* terhadap hasil *CT value*

Antigen	Gen ORF			Gen N		
	Mean (SD)	Median (min – maks)	<i>p value</i>	Mean (SD)	Median (min – maks)	<i>p value</i>
A	19,57 (4,50)	20,20 (11,01 – 30,20)	0,005	18,47 (4,77)	18,89 (7,72 – 28,50)	0,004
B	21,79 (4,89)	22,09 (12,00 – 30,71)		20,96 (5,16)	21,18 (10,50 – 30,56)	
C	20,66 (4,92)	21,51 (10,20 – 29,58)		19,32 (5,03)	20,59 (9,23 – 29,35)	
Total	20,28 (4,74)	20,81 (10,20 – 30,71)		19,23 (5,00)	19,59 (7,72 – 30,56)	

Kurva *ROC* digunakan untuk melihat nilai prediktor terhadap seluruh jenis antigen (Gambar 1). Ditemukan hasil *area under curve* (*AUC*) *CT value* gen ORF 0,858 dan *p value* 0,000, yang berarti signifikan. Sedangkan *AUC CT value* gen N mencapai 0,838 dan *p value* 0,000 yang juga

signifikan. Garis yang dihasilkan juga di atas garis referensi, membuktikan bahwa spesifisitas dan sensitivitas tinggi untuk mendiagnosis COVID-19.

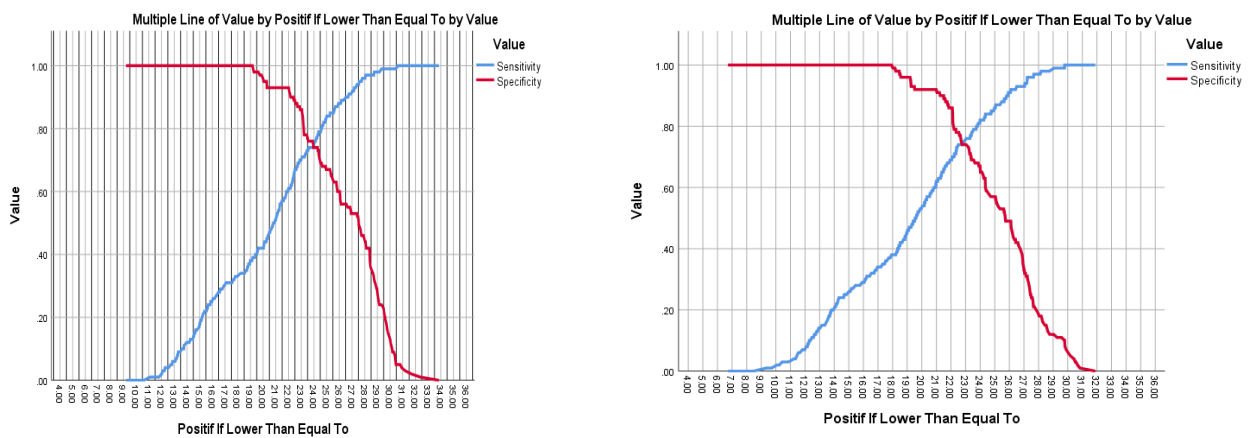


Gambar 1. Kurva ROC Seluruh Jenis Antigen

Tabel 3. Area Under Curve (AUC) Seluruh Jenis Antigen

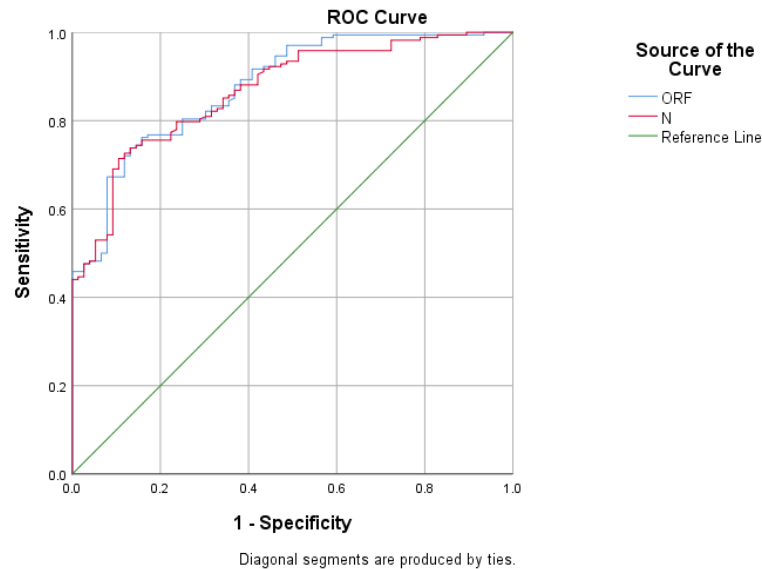
Variabel	Area	Std. Error	p value	Asymptotic 95% CI	
				Lower Bound	Upper Bound
Gen ORF	0,858	0,021	0,000	0,816	0,899
Gen N	0,838	0,022	0,000	0,795	0,880

Pada Gambar 2, dipaparkan kurva spesifisitas dan sensitivitas terhadap gen ORF pada seluruh jenis antigen. Nilai *cut-off* yang ditemukan adalah 24,00, yang memiliki arti seluruh jenis antigen dapat mendeteksi reaktivitas COVID-19 saat *CT value* gen ORF bernilai 24,00. Sedangkan gen N pada seluruh jenis antigen memiliki nilai *cut-off* 22,68. Hal ini memiliki makna bahwa seluruh jenis antigen dapat mendeteksi reaktivitas COVID-19 saat *CT value* gen N bernilai 22,68.



Gambar 2. Cut-off Value Gen ORF (kiri) dan N (kanan) pada Seluruh Jenis Antigen.

Hasil kurva ROC antigen A dapat dilihat di Gambar 3 dan Tabel 4, yang menunjukkan AUC gen ORF bernilai 0,878 dan gen N bernilai 0,868, serta keduanya memiliki *p value* 0,000 menandakan adanya signifikansi. Pada kurva tersebut juga ditunjukkan garis spesifisitas dan sensitivitas berada di atas garis referensi.

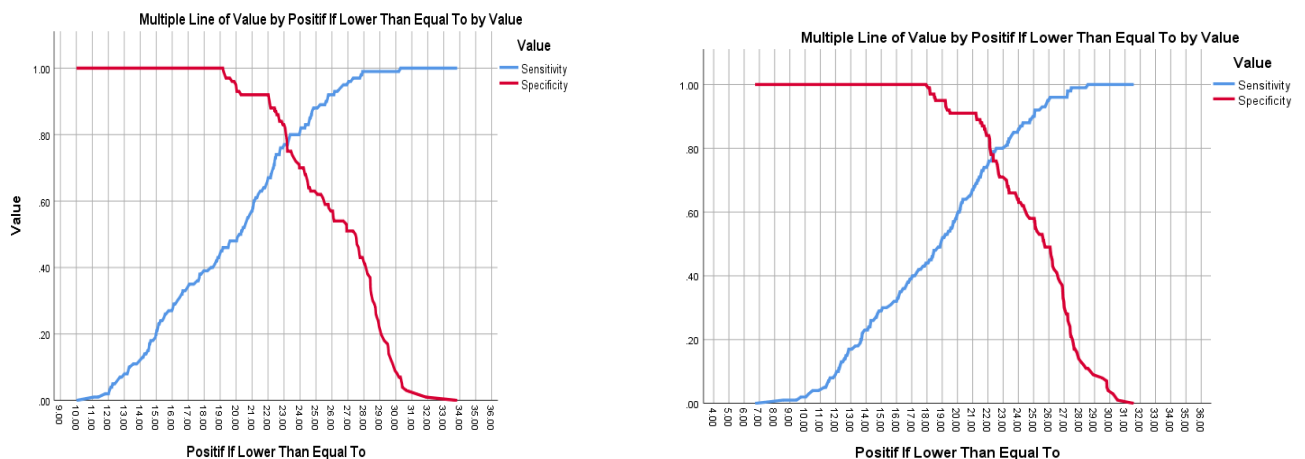


Gambar 3. Kurva ROC Antigen A

Tabel 4. Area Under Curve (AUC) Antigen A

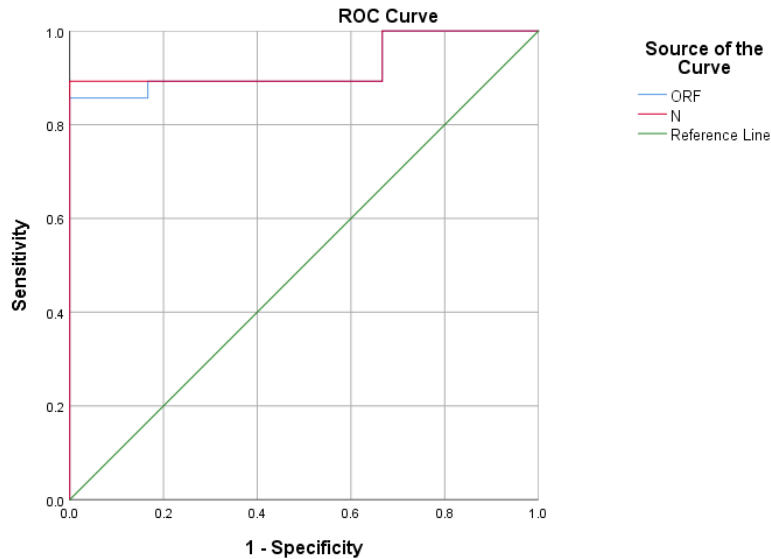
Variabel	Area	Std. Error	<i>p value</i>	Asymptotic 95% CI	
				Lower Bound	Upper Bound
Gen ORF	0,878	0,022	0,000	0,834	0,921
Gen N	0,868	0,023	0,000	0,823	0,913

Penilaian antigen A menggunakan kurva dan memiliki nilai *cutoff* 23,16 pada gen ORF dan nilai *cutoff* 22,23 pada gen N (Gambar 4).



Gambar 4. Titik Potong Gen ORF (kiri) dan N (kanan) pada Antigen A

Sedangkan kurva ROC antigen C pada Gambar 5 menandakan AUC 0,923 pada gen ORF dan AUC 0,929 pada gen N (Tabel 5). Keduanya memiliki *p value* yang bermakna dengan 0,001 pada kedua gen. Garis kurva juga berada di atas garis referensi.

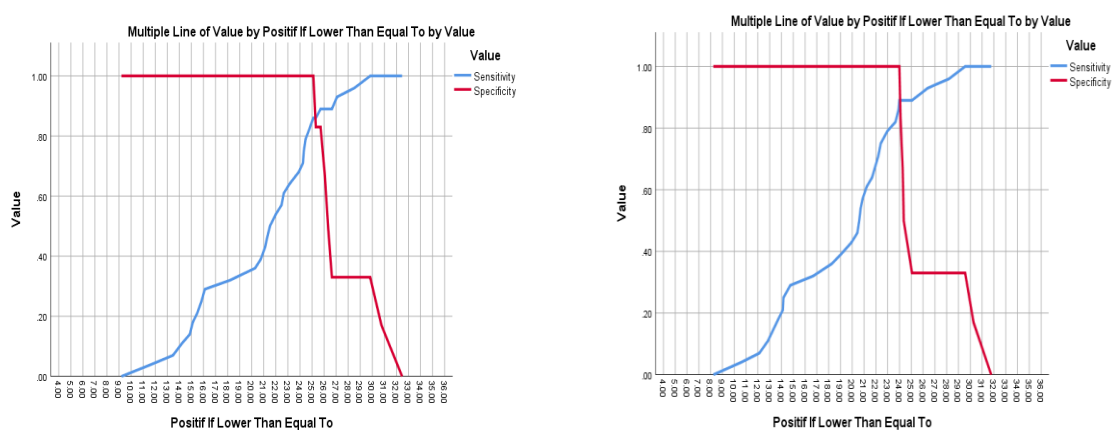


Gambar 5. Kurva ROC Antigen C

Tabel 5. Area Under Curve (AUC) Antigen C

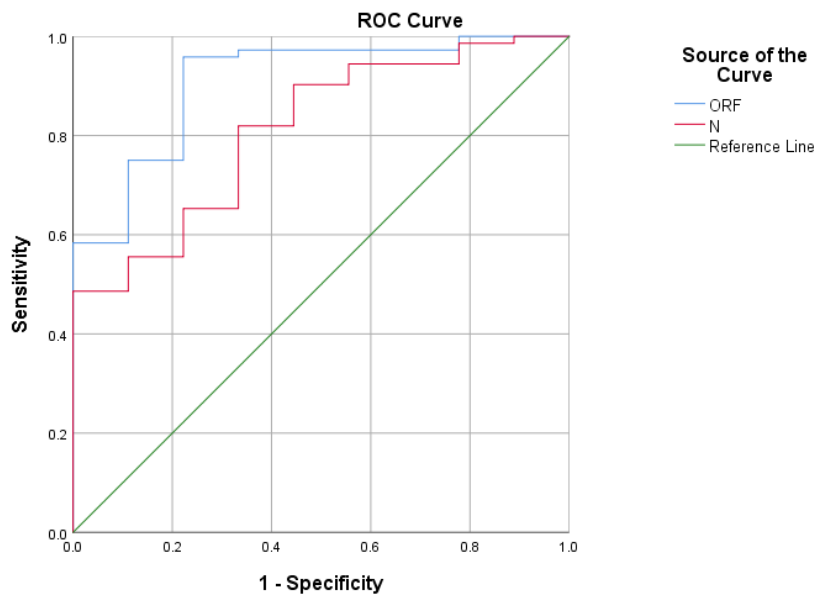
Variabel	Area	Std. Error	<i>p value</i>	Asymptotic 95% CI	
				Lower Bound	Upper Bound
Gen ORF	0,923	0,047	0,001	0,831	0,921
Gen N	0,929	0,045	0,001	0,839	0,913

Gen ORF dan gen N dianalisis untuk menemukan titik potong. Antigen C dapat memberikan hasil reaktif dengan nilai *cutoff* 25,20 pada gen ORF dan 24,00 pada gen N (Gambar 6).



Gambar 6. Titik Potong Gen ORF (kiri) dan N (kanan) pada Antigen C.

Hasil kurva ROC yang menganalisis antigen B terdapat pada Gambar 7. Nilai AUC yang didapatkan pada gen ORF adalah 0,909 dan gen N adalah 0,810 (Tabel 6). Hasil yang didapatkan signifikan (*p value* 0,000 dan 0,003, secara berurutan).

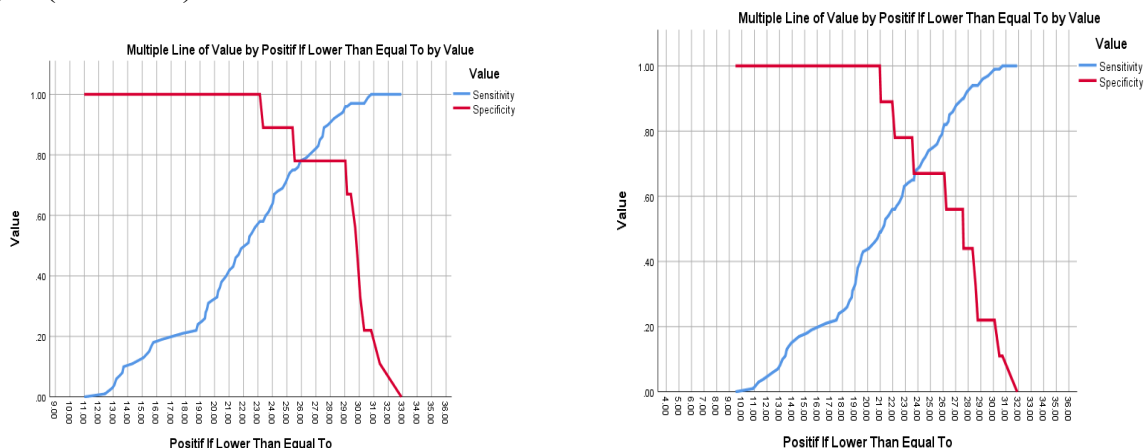


Gambar 7. Kurva ROC Antigen B

Tabel 6. Area Under Curve (AUC) Antigen B

Variabel	Area	Std. Error	p value	Asymptotic 95% CI	
				Lower Bound	Upper Bound
Gen ORF	0,903	0,049	0,000	0,812	1,000
Gen N	0,810	0,068	0,003	0,677	0,944

Penilaian terhadap gen ORF antigen B memiliki nilai cutoff 25,89 dan terhadap gen N bernilai 23,60 (Gambar 8).



Gambar 8. Titik Potong Gen ORF (kiri) dan N (kanan) pada Antigen B

Pemeriksaan tes antigen cepat SARS CoV-2 menggunakan konsep dari *lateral flow immunoassay* untuk mendeteksi adanya infeksi. Pemeriksaan sederhana ini mendeteksi bagian dari virus yang ditemukan pada sekret saluran napas atau oral. (Peto et al., 2021) Alat ini memiliki empat lapisan yang meliputi lapisan sederhana, lapisan pelepas konjugasi, lapisan deteksi, dan lapisan kontrol. Lapisan sederhana tercampur dengan penyangga garam dan surfaktan agar sampel dapat berinteraksi di lapisan selanjutnya. Lapisan pelepas konjugasi mengandung antibodi secara spesifik menganalitis dan berkonjugasi membentuk partikel warna atau berpedar. Analitis yang

berkojugasi akan melewati lapisan deteksi berpendar atau memberikan warna. Lapisan kontrol berfungsi untuk memastikan sampel mengalir dengan baik. (Koczula & Gallotta, 2016) Kelebihan dari pemeriksaan antigen dibandingkan pemeriksaan RT-PCR adalah pemeriksaan ini mudah dilakukan, reagen yang dibutuhkan sudah tersedia dalam alat tes sederhana, harga lebih terjangkau dan hasil sudah dapat keluar kurang dari 30 menit (OECD, 2020).

Pemeriksaan RT-PCR merupakan pemeriksaan standar emas dalam penegakan diagnosis COVID-19. Pemeriksaan ini menargetkan lebih dari 1 genom RNA virus, seperti gen selubung (E), nukleokapsid (N), spike (S), *RNA-dependent RNA polymerase* (RdRp), dan *Opening Reading Frame 1* (ORF1). Pada pemeriksaan ini virus RNA akan mengalami transkripsi terbalik untuk menghasilkan sekuens DNA komplementer (cDNA), yang kemudian akan di amplifikasi, denaturasi dan elongasi primer untuk membentuk cDNA yang teramplifikasi. DNA ini dapat dideteksi menggunakan pengujian fluoresensi. Pemeriksaan PCR membutuhkan seseorang yang ahli, dengan standar lab yang tinggi, pengontrol suhu dan pendingin untuk menyimpan reagen (Feng et al., 2020).

Beban genomik dinilai jumlahnya berdasarkan amplifikasi siklus yang dibutuhkan untuk membuat hasil PCR positif dinamakan sebagai cycle threshold value atau *CT value*. *CT value* ini mempunyai hubungan dengan *viral load*, dimana semakin tinggi *viral load*, maka *CT value* akan semakin rendah, begitu pula sebaliknya. *CT value* dipengaruhi oleh beberapa faktor meliputi pengambilan sputum, penyimpanan, pengiriman sampel, jarak waktu dari pengambilan sampel, target dari asam nucleus, alat pengujian, metode ekstraksi, amplifikasi instrument yang digunakan dan masih banyak lagi (Basu et al., 2020; Centre for Disease Control, 2020).

Dari hasil penelitian ini menunjukkan bahwa didapatkan rerata dari *CT value* gen ORF pada Antigen A sebesar 19,57 (4,50), Antigen B 21,79 (4,89), dan Antigen C sebesar 20,66 (4,99) dengan p-value 0,005. Sementara rerata *CT value* gen N pada Antigen A sebesar 18,47 (4,77), Antigen B 20,96 (5,16), dan Antigen C 19,32 (5,03). Penelitian serupa yang dilakukan oleh Alice Berger, et al di Swiss (2021), pada 1064 sampel nasofaring, menggunakan alat antigen Panbio (Diagnostik Cepat Abbott, Amerika Serikat) dan Standard™ Q (SD Biosensor, yang didistribusikan oleh Roche, Switzerland). Berdasarkan hasil dari *CT value* gen E yang diuji, gabungan dari kedua antigen memiliki nilai CT sebesar 22,5 ($\pm 5,1$, 21,5), yang dimana antigen Standard Q mendapatkan nilai 22,6 ($\pm 4,9$, 21,8) dan Panbio sebesar 22,5 ($\pm 5,4$, 21,0), dengan p-value 0,450 (Berger et al., 2021).

Penelitian yang dilakukan oleh Barbara Baro, et al di Spanyol (2021) pada lima jenis produk antigen terhadap pemeriksaan PCR yang menggunakan 316 sampel swab nasofaring, didapatkan 30 sampel dengan *CT value* < 30, dan dari hasil tersebut Abbott mendeteksi 23 dari 30 sampel, Siemens 26 dari 30 sampel, Roche 25 dari 30 sampel, Lepu 25 dari 30 sampel dan Surescreen 21 dari 30 sampel. (Baro et al., 2021) Pada penelitian yang dilakukan Gilbert Greub, et al di Swiss (2021), pada tiga puluh jenis tes antigen cepat untuk mendeteksi SARS-CoV-2, yang salah satunya melibatkan produk Clungene. Dari hasil tersebut menjelaskan bahwa saat *CT value* < 29 sensitivitas Clungene berada di 69,6% (55,9, 81,2), *CT value* < 26 92,7% (80,1, 98,5%) dan *CT value* < 23 sebesar 94,3% (80,8, 99,3) dengan nilai dalam kurung merupakan nilai 95% interval kepercayaan (Greub et al., 2021).

Penelitian yang dilakukan oleh Nahal, et al di Swiss (2021), yang mengevaluasi performa tujuh alat test cepat antigen cepat dalam mendeteksi virus SARS CoV-2. Didapatkan bahwa antigen didapatkan memiliki spesifisitas yang tinggi, namun memiliki spesifisitas yang rendah. Hasil penelitiannya mengungkapkan dari enam alat test antigen cepat, tidak ada satupun yang mampu

mendeteksi *viral load*, saat jumlahnya kurang dari 1.8×10^7 /mL dan *CT value* lebih dari 19 (Eshghifar et al., 2021). Pada penelitian lain, yang dilakukan oleh Sidonie Lambart-Niclot, et al di Perancis pada 138 sampel nasofaring, yang dimana 94 (68,8%) positif dalam pemeriksaan RT-PCR. Dari nilai sampel positif, tes antigen cepat hanya mampu mendeteksi 47 sampel, dimana sensitivitas tersebut hanya 50% (95%CI, 19,5-60,5%), dengan median dari *CT value* sampel yang didapatkan positif 21, dan median dari *CT value* sampel yang didapatkan negatif sebesar 28,3 (Lambert-Niclot et al., 2020). Hal ini menjadi kekurangan dari pemeriksaan antigen tes cepat dimana alat ini tidak mampu untuk mengamplifikasi target dari RNA untuk meningkatkan sensitivitas. Kadar *viral load*, yang tinggi didapatkan pada hari 1-3 paska infeksi (Information, 2022).

4. KESIMPULAN DAN SARAN

Ketiga alat antigen memiliki sensitifitas yang berbeda-beda. Antigen A memiliki sensitifitas sebesar 68,9%, Antigen B memiliki sensitifitas sebesar 88,9% dan Antigen C memiliki sensitifitas sebesar 82,4%. Penelitian ini didapatkan bahwa ketiga antigen ini mampu mendeteksi dengan nilai *CT value* pada angka 24 untuk gen ORF dan 22,68 pada gen N. Hal ini dapat membantu tenaga kesehatan untuk menjelaskan kepada pasien yang mendapatkan hasil positif, memperkirakan lama hari paska infeksi, dan besarnya pasien untuk menularkan virus tersebut kepada orang lain.

REFERENSI

- Baro, B., Rodo, P., Ouchi, D., Bordoy, A. E., Saya Amaro, E. N., Salsench, S. V., Molinos, S., Alemany, A., Ubals, M., Corbacho-Monné, M., Millat-Martinez, P., Marks, M., Clotet, B., Prat, N., Estrada, O., Vilar, M., Ara, J., Vall-Mayans, M., G-Beiras, C., ... Mitjà, O. (2021). Performance characteristics of five antigen-detecting rapid diagnostic test (Ag-RDT) for SARS-CoV-2 asymptomatic infection: a head-to-head benchmark comparison. *Journal of Infection*, 82(6), 269–275. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2021.04.009>
- Basu, A., Zinger, T., Inglima, K., Woo, K., Atie, O., Yurasits, L., See, B., & Aguero-Rosenfeld, M. E. (2020). Performance of Abbott ID Now COVID-19 Rapid Nucleic Acid Amplification Test Using Nasopharyngeal Swabs Transported in Viral Transport Media and Dry Nasal Swabs in a New York City Academic Institution. *Journal of Clinical Microbiology*, 58(8). <https://doi.org/10.1128/JCM.01136-20>
- Berger, A., Nsoga, M. T. N., Perez-Rodriguez, F. J., Aad, Y. A., Sattonnet-Roche, P., Gayet-Ageron, A., Jaksic, C., Torriani, G., Boehm, E., Kronig, I., Sacks, J. A., de Vos, M., Bausch, F. J., Chappuis, F., Renzoni, A., Kaiser, L., Schibler, M., & Eckerle, I. (2021). Diagnostic accuracy of two commercial SARS-CoV-2 antigen-detecting rapid tests at the point of care in community-based testing centers. *PLOS ONE*, 16(3), e0248921. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0248921>
- Centre for Disease Control. (2020). *Overview of Testing for SARS-CoV-2, the virus that causes COVID-19* | CDC. <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/hcp/testing-overview.html>
- Eshghifar, N., Busheri, A., Shrestha, R., & Beqaj, S. (2021). Evaluation of Analytical Performance of Seven Rapid Antigen Detection Kits for Detection of SARS-CoV-2 Virus. *International Journal of General Medicine*, Volume 14, 435–440. <https://doi.org/10.2147/IJGM.S297762>
- Feng, W., Newbigging, A. M., Le, C., Pang, B., Peng, H., Cao, Y., Wu, J., Abbas, G., Song, J., Wang, D.-B., Cui, M., Tao, J., Tyrrell, D. L., Zhang, X.-E., Zhang, H., & Le, X. C. (2020). Molecular Diagnosis of COVID-19: Challenges and Research Needs. *Analytical Chemistry*, 92(15), 10196–10209. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.0c02060>
- Greub, G., Caruana, G., Schweitzer, M., Imperiali, M., Muigg, V., Risch, M., Croxatto, A., Opota, O., Heller, S., Albertos Torres, D., Tritten, M.-L., Leuzinger, K., Hirsch, H. H., Lienhard, R., & Egli, A. (2021). Multicenter Technical Validation of 30 Rapid Antigen Tests for the

- Detection of SARS-CoV-2 (VALIDATE). *Microorganisms*, 9(12), 2589. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9122589>
- Information, I. (2022). *COVID-19 Pandemic Response, Laboratory Data Reporting: CARES Act Section 18115 A. Reporting Requirements Section 1: Reporting Requirements by Entity and Type of Testing. Section 4*, 1–9.
- Koczula, K. M., & Gallotta, A. (2016). Lateral flow assays. *Essays in Biochemistry*, 60(1), 111–120. <https://doi.org/10.1042/EBC20150012>
- Kyosei, Y., Yamura, S., Namba, M., Yoshimura, T., Watabe, S., & Ito, E. (2021). Antigen tests for COVID-19. *Biophysics and Physicobiology*, 18, bppb-v18.004. <https://doi.org/10.2142/biophysico.bppb-v18.004>
- Lambert-Niclot, S., Cuffel, A., Le Pape, S., Vauloup-Fellous, C., Morand-Joubert, L., Roque-Afonso, A. M., Le Goff, J., & Delaugerre, C. (2020). Evaluation of a rapid diagnostic assay for detection of sars-cov-2 antigen in nasopharyngeal swabs. *Journal of Clinical Microbiology*, 58(8). <https://doi.org/10.1128/JCM.00977-20>
- Loho, T., & Widodo, D. (2021). Rapid Antigen Detection Test for Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2: How to Use It Properly? *Acta Medica Indonesiana*, 53(1), 119–131. <https://actamedindones.org/index.php/ijim/article/view/1680>
- OECD. (2020). Testing for COVID-19: How to best use the various tests? *OECD Policy Responses to Coronavirus (COVID-19)*, December, 1–14. https://read.oecd-ilibrary.org/view/?ref=1036_1036993-cfmlc0vov2&title=Test
- Parvu, V., Gary, D. S., Mann, J., Lin, Y.-C., Mills, D., Cooper, L., Andrews, J. C., Manabe, Y. C., Pekosz, A., & Cooper, C. K. (2021). Factors that Influence the Reported Sensitivity of Rapid Antigen Testing for SARS-CoV-2. *Frontiers in Microbiology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.714242>
- Peto, T., Affron, D., Afrough, B., Agasu, A., Ainsworth, M., Allanson, A., Allen, K., Allen, C., Archer, L., Ashbridge, N., Aurfan, I., Avery, M., Badenoch, E., Bagga, P., Balaji, R., Baldwin, E., Barraclough, S., Beane, C., Bell, J., ... Zinyama, R. (2021). COVID-19: Rapid antigen detection for SARS-CoV-2 by lateral flow assay: A national systematic evaluation of sensitivity and specificity for mass-testing. *EClinicalMedicine*, 36, 100924. <https://doi.org/10.1016/j.eclinm.2021.100924>
- Sethuraman, N., Jeremiah, S. S., & Ryo, A. (2020). Interpreting Diagnostic Tests for SARS-CoV-2. *JAMA*, 323(22), 2249. <https://doi.org/10.1001/jama.2020.8259>
- Setiadi, W., Rozi, I. E., Safari, D., Daningrat, W. O. D., Johar, E., Yohan, B., Yudhaputri, F. A., Lestari, K. D., Oktavianthi, S., Myint, K. S. A., Malik, S. G., & Soebandrio, A. (2022). Prevalence and epidemiological characteristics of COVID-19 after one year of pandemic in Jakarta and neighbouring areas, Indonesia: A single center study. *PLOS ONE*, 17(5), e0268241. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0268241>
- Sisay, A., Abera, A., Dufera, B., Endrias, T., Tasew, G., Tesfaye, A., Hartnack, S., Beyene, D., & Desta, A. F. (2022). Diagnostic accuracy of three commercially available one step RT-PCR assays for the detection of SARS-CoV-2 in resource limited settings. *PLoS ONE*, 17(1 January). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0262178>
- Sun, J., He, W.-T., Wang, L., Lai, A., Ji, X., Zhai, X., Li, G., Suchard, M. A., Tian, J., Zhou, J., Veit, M., & Su, S. (2020). COVID-19: Epidemiology, Evolution, and Cross-Disciplinary Perspectives. *Trends in Molecular Medicine*, 26(5), 483–495. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2020.02.008>