

Peranan Gejala Klinis dan Pemeriksaan Darah Tepi dalam Diagnosis Dini Influenza pada Pasien dengan Gejala Influenza Like Illness

Adityo Susilo¹, Suhendro Suwanto¹, Iris Rengganis², Kuntjoro Harimurti³

¹Divisi Penyakit Tropik dan Infeksi, Departemen Ilmu Penyakit Dalam FKUI RSUPNCM

²Divisi Alergi dan Imunologi Klinik, Departemen Ilmu Penyakit Dalam FKUI RSUPNCM

³Divisi Geriatri, Departemen Ilmu Penyakit Dalam FKUI RSUPNCM

ABSTRAK

Pendahuluan. Influenza merupakan penyakit infeksi yang disebabkan oleh virus influenza. Pada manusia, influenza sering menimbulkan penyakit pernapasan akut dengan manifestasi klinis berupa *influenza like illness*. Penegakkan diagnosis influenza seringkali sulit oleh karena manifestasi klinis yang tidak khas. Demam disebut sebagai gejala klinis terpenting dan limfopenia didapatkan sebagai suatu temuan laboratoris yang konsisten. Usaha untuk mengetahui proporsi dan mengelaborasi gejala klinis dan pemeriksaan darah tepi sederhana diperkirakan dapat meningkatkan probabilitas diagnosis influenza.

Tujuan. Mengetahui proporsi influenza serta mengevaluasi peranan gejala klinis dan pemeriksaan laboratorium sederhana pada pasien penyakit pernapasan akut dengan *influenza like illness* sehingga dapat digunakan sebagai faktor prediktif terhadap diagnosis influenza.

Metode. Studi potong lintang berbasis *diagnostic research* pada pasien penyakit pernapasan akut dewasa dengan gejala *influenza like illness* di Puskesmas Kecamatan Pulo Gadung dan Puskesmas Kelurahan Rawamangun antara Maret hingga Juni 2011. Spesimen analisis virus menggunakan bahan apus nasofaringeal, dengan teknik analisis PCR kualitatif dan imunokromatografi antigen.

Hasil. Dari 90 orang subyek penelitian didapatkan 13 orang (14,4%) terbukti terinfeksi virus influenza A melalui teknik PCR. Variabel demam menunjukkan hasil uji kemaknaan yang signifikan terhadap influenza ($p 0,003$) dengan *prevalence ratio* 6,28 (95% CI 1,476-26,759). Sensitivitas demam, batuk dan pilek terhadap influenza masing-masing adalah 85% dan *negative predictive value* demam sebesar 98%. Variabel determinan lainnya tidak menunjukkan hasil yang bermakna terhadap influenza pada uji kemaknaan statistik.

Simpulan. Proporsi influenza pada pasien dengan gejala ILI diperoleh cukup tinggi dengan proporsi demam yang terbukti lebih tinggi pada pasien influenza. Sensitivitas demam, batuk dan pilek terhadap influenza tinggi dengan *negative predictive value* yang memuaskan untuk seluruh variabel determinan.

Kata Kunci. Influenza, ILI, demam, darah tepi

PENDAHULUAN

Infeksi virus influenza merupakan salah satu masalah kesehatan utama di seluruh dunia. Terjadinya epidemi influenza dapat menimbulkan kepanikan di masyarakat oleh karena meningkatnya morbiditas dan mortalitas secara cepat di komunitas.¹ Di Amerika Serikat, rerata 20.000 orang meninggal setiap tahun akibat influenza dan setiap saat selalu terdapat ancaman terjadinya pandemi global. Tahun 1918 merupakan sejarah pandemi terburuk dengan 675.000 kematian di Amerika Serikat dan sekitar 40 juta kematian di dunia.²

Infeksi virus influenza terbanyak bermanifestasi

sebagai penyakit pernapasan akut (*Acute Respiratory Illness/ARI*) yang dicirikan dengan demam tinggi mendadak, hidung berair (*coryza*), batuk, peradangan saluran napas atas dan bawah, hingga nyeri kepala dan malaise. Sayangnya, gejala-gejala ini tidaklah khas untuk influenza semata dan seringkali sulit untuk dibedakan dengan infeksi akut oleh mikroorganisme lainnya yang dapat menimbulkan gejala serupa. Oleh karena itu sekumpulan gejala ini dikenal sebagai *Influenza Like Illness* (ILI).^{2,3} Beragamnya keluhan klinis yang muncul pada tiap kelompok usia menimbulkan kendala lainnya, pada usia lanjut gejala-gejala tersebut dapat menjadi sumir dan tidak nyata.^{4,5}

Tidak banyak studi tersedia yang menitikberatkan pada evaluasi klinis tersebut. Monto dkk. mengevaluasi gejala klinis yang memiliki korelasi terbaik dengan infeksi influenza, dengan batuk dan demam sebagai prediktor multivariat terbaik dengan nilai prediksi positif 79% ($p < 0,001$).¹ Penelitian lain oleh Zambon dkk. menekankan pentingnya kriteria klinis sebagai penapis utama diagnostik influenza. Menggunakan konfirmasi teknik isolasi virus, inhibisi hemaglutinin serologis dan *multiplex reverse transcriptase polymerase chain reaction* (RT-PCR), diperoleh hasil akhir nilai ketepatan prediksi secara klinis sebesar 77% (791 dari total 1033 sampel).³ Panduan influenza yang dikeluarkan di Inggris pada tahun 2006 lalu menyebutkan bahwa demam akut sebagai satu-satunya parameter klinis terpenting (*paramount symptom*) dari influenza, sementara gejala klinis lain dapat bervariasi.⁶

Studi epidemiologi influenza di Indonesia oleh Yuwono dkk pada tahun 2004 dipicu oleh merebaknya infeksi flu burung H5N1, suatu subset virus influenza A bukan musiman, yang menimbulkan mortalitas sangat tinggi di seluruh dunia. Studi yang mengambil waktu antara Agustus 2004 hingga Juli 2006 di Jakarta dan sekitarnya ini menyebutkan bahwa batuk (97,21%), pilek (98,14%) dan demam (92,56%) merupakan tiga gejala yang paling sering didapatkan pada infeksi influenza A secara umum.⁷

Penegakkan diagnosis influenza mengandalkan gejala klinis semata sangat sulit untuk dijadikan patokan dalam menentukan etiologi. Salah satu pemeriksaan penunjang untuk membantu ialah uji deteksi cepat influenza (*rapid diagnostic test*). Hingga saat ini *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) Amerika Serikat telah mencatat 11 macam uji diagnostik cepat influenza yang dapat mendeteksi infeksi virus influenza tipe A dan tipe B. Teknik ini memberikan hasil kualitatif dalam waktu 15 menit dengan sensitivitas bervariasi antara 50-70% dan spesifisitas mencapai 95%.^{8,9}

Keterlambatan hasil teknik isolasi virus sebagai standar baku diagnostik influenza menimbulkan kendala dalam diagnosis pasti dan pengambilan keputusan untuk memulai pengobatan. La Wallace dkk. menyebutkan bahwa multiplex RT-PCR influenza dapat menjadi sarana penunjang yang menjanjikan dengan sensitivitas dan spesifisitas sangat baik, masing-masing di atas 95%. Kendala ketersediaan sarana metode diagnostik ini masih menjadi permasalahan, terutama di negara-negara terbelakang dan berkembang.¹⁰

Seperti infeksi virus pada umumnya leukopenia dapat menunjang diagnosis infeksi virus influenza. Namun hingga saat ini tidak ada temuan yang konsisten terkait leukopenia dan influenza.^{4,11} Pada saat terjadinya

pandemi H1N1 influenza A di China (2009), Bin Cao dkk. melaporkan terdapat 21,4% dari total 426 sampel dengan leukopenia ringan ($< 4000/\text{mm}^3$), dengan rerata hitung leukosit $3440 \pm 220/\text{mm}^3$.¹²

Suatu hal penting dalam diagnosis influenza menurut Mohan dan Cunha, ialah bila terdapat kondisi limfopenia relatif pada hitung jenis ($< 21\%$) besar kemungkinan untuk membantu diagnosis influenza dengan ketepatan diagnosis sempurna (100%) dan bila menggunakan hasil limfopenia mutlak (jumlah limfosit $< 1000/\mu\text{L}$) ketepatannya ialah 90%.¹³ Kondisi limfopenia pada infeksi influenza juga dilaporkan oleh Beigel pada tahun 2005 saat terjadinya *outbreak* influenza A H5N1, dengan prevalensi yang bervariasi antara 58% hingga 81%.¹⁴

Studi mengenai influenza di Indonesia umumnya masih belum rutin dilakukan. Hal ini mungkin disebabkan oleh karena influenza dikenal sebagai penyakit musiman yang terutama menimbulkan masalah pada negara empat musim, sedangkan Indonesia termasuk negara dengan dua musim. Kenyataan ini menjadikan influenza kurang terevaluasi dengan baik. Shek dan Lee di dalam studinya melaporkan bahwa virus influenza ditemukan beredar sepanjang tahun di negara-negara beriklim tropik, Indonesia yang juga termasuk dalam negara tropik tentu memiliki risiko yang sama.^{15,16} Saat ini pemerintah melalui Kementerian Kesehatan sudah memulai usaha-usaha perbaikan terhadap kondisi ini dengan digulirkannya program surveilans ILI sepanjang tahun 2010.

Indonesia sebagai negara berkembang menghadapi berbagai kendala guna mencapai taraf kesehatan yang optimal. Pencapaian kondisi pelayanan kesehatan yang paripurna dipersulit dengan rendahnya daya beli masyarakat secara umum dan kurang terkelolanya sistem asuransi kesehatan yang ada. Pusat pelayanan kesehatan primer, seperti Pusat Kesehatan Masyarakat (Puskesmas), merupakan ujung tombak di dalam pelayanan kesehatan. Oleh karena berbagai keterbatasan yang ada, usaha untuk mengevaluasi etiologi penyakit seringkali tidak dilakukan dan pengobatan antibiotik cenderung langsung diberikan pada setiap kasus dengan dugaan infeksi. Guna menyikapi hal ini diperlukan suatu pendekatan yang komprehensif agar dapat meningkatkan diagnosis influenza melalui optimalisasi pemahaman klinis dan laboratorium sederhana yang tersedia di puskesmas seperti pemeriksaan darah perifer lengkap dan hitung jenis leukosit.^{17,18} Sehingga pada akhirnya dapat membantu penentuan awal terapi antiviral, membantu kepentingan regulasi vaksinasi influenza tahunan hingga akhirnya menurunkan mortalitas dan morbiditas penyakit.^{19,20}

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui proporsi influenza pada pasien ARI dengan ILI; perbedaan proporsi demam, batuk, pilek, leukopenia dan limfopenia pada pasien influenza dan pasien ARI (*acute respiratory illness*) bukan influenza dengan ILI; nilai sensitivitas, spesifitas, *positive predictive value*, *negative predictive value* dari demam, batuk, pilek, leukopenia dan limfopenia terhadap kejadian influenza pada pasien ARI dengan ILI; dan kemampuan gabungan gejala klinis (demam, batuk pilek) dan laboratoris (leukopenia, limfopenia) untuk memprediksi dengan baik diagnosis influenza pada pasien ARI dengan ILI.

METODE

Desain penelitian berupa studi potong lintang berbasis *diagnostic research* pada pasien dewasa yang mengalami penyakit pernapasan akut (*acute respiratory illness*/ARI) dengan gejala ILI.

Populasi target pada penelitian ini adalah semua pasien dewasa dengan penyakit pernapasan akut dan keluhan gejala klinis *Influenza Like Illness* yang datang berobat ke Puskesmas. Populasi terjangkau penelitian adalah semua pasien dewasa dengan penyakit pernapasan akut dan keluhan gejala klinis *Influenza Like Illness* yang datang berobat di Puskesmas Kecamatan Pulo Gadung dan Puskesmas Kelurahan Rawamangun mulai bulan Maret 2011 hingga batas waktu tercapainya jumlah sampel yang dikehendaki untuk penelitian ini. Sampel penelitian ialah populasi terjangkau yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi dan menandatangani surat persetujuan *informed consent* untuk ikut serta pada penelitian.

Studi ini merupakan studi diagnostik dengan memanfaatkan perbedaan proporsi di antara variabel yang hendak diteliti, variabel tersebut meliputi gejala klinis demam, batuk, pilek dan terdapatnya limfopenia pada penderita. Adapun variabel yang akan digunakan dalam penelitian ini akan disajikan dalam skala nominal Untuk memenuhi kemaknaan statistik pada penelitian ini digunakan perhitungan besar sampel dengan menggunakan rumus '*rule of 10*'.²¹

Pada penelitian ini akan diteliti 5 variabel determinan yang selanjutnya akan digunakan sebagai penentu variabel keluaran berupa diagnosis influenza. Menurut suatu studi multi sentra yang melibatkan 13 negara di dunia dengan total sampel 1.133 penderita dengan manifestasi ILI, diperoleh 61% (692) di antaranya terkonfirmasi influenza melalui gabungan pemeriksaan serologi, kultur dan RT-PCR.³ Menggunakan perhitungan '*rule of 10*' maka besar sampel yang dibutuhkan pada penelitian ini adalah : $(5 \times 10) \times 100 / 61 = 81,96 \approx 82$ sampel.

Kriteria inklusi penelitian ini adalah pasien penyakit pernapasan akut dengan gejala ILI: demam $\geq 37,2^\circ\text{C}$ atau merasa seperti demam (*feverishness*) yang muncul dalam 120 jam pertama, disertai dengan 2 atau lebih gejala berikut; Batuk, pilek, hidung tersumbat, nyeri tenggorok, nyeri kepala, nyeri otot. Kriteria eksklusi adalah mereka yang menolak untuk ikut serta dalam penelitian.

Pada penelitian ini dikumpulkan data variabel determinan berupa kumpulan gejala klinis demam, batuk, pilek serta hasil laboratorium berupa leukopenia (nilai ambang $< 5000/\mu\text{L}$), limfopenia mutlak/absolut ($< 1000/\mu\text{L}$) dan limfopenia relatif pada hitung jenis ($< 21\%$). Seluruh variabel determinan disajikan dalam bentuk data nominal (Ya/Tidak) untuk selanjutnya dilakukan analisa lebih lanjut dengan membandingkan kejadian influenza yang dikonfirmasi menggunakan *Polymerase Chain Reaction* (PCR) kualitatif. Pada studi ini teknik PCR dipilih sebagai metode penentu influenza oleh karena sensitivitas dan spesifisitasnya yang memuaskan dan berbagai literatur menyebutkan kemampuan deteksinya sangat baik dan mampu mengungguli kultur virus yang merupakan standar baku diagnostik, terutama dalam hal menyingkirkan kemungkinan hasil negatif palsu yang cukup tinggi pada kultur.^{2,22,23}

Variabel determinan klinis dikumpulkan dengan menggunakan lembar pencatatan data klinis yang terlampir pada proposal penelitian dan spesimen darah tepi diambil dengan spuit steril sebanyak 3 cc dan disimpan dalam tabung EDTA. Analisis lanjutan dikerjakan di laboratorium Prodia pusat.

Spesimen apus (*swab*) nasofaring diambil dengan menggunakan *swab* steril yang disediakan dari Laboratorium Mikrobiologi Klinik dan selanjutnya spesimen disimpan di dalam medium transpor HBSS (*Hanks Basal Salt Solution*). Media ini bila dalam keadaan baik berwarna merah muda dan apabila sudah ditambahkan spesimen maka akan berubah warna menjadi kekuningan. Perubahan warna ini dapat digunakan sebagai penanda ada tidaknya kontaminasi pada larutan media transpor tersebut.

Selanjutnya, media transpor yang sudah berisi spesimen disimpan pada kulkas -70°C yang tersedia di laboratorium Prodia, sebelum dikirim ke Laboratorium Mikrobiologi Klinik, Departemen Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia untuk pemeriksaan PCR dan imunokromatografi antigen. Sampel yang terkumpul setiap harinya diambil oleh petugas Prodia atau diantarkan sendiri oleh peneliti/tim ke Laboratorium Prodia untuk pemeriksaan darah tepi dan penyimpanan media yang telah berisi spesimen di dalam lemari pendingin -70°C .

Pengolahan dan analisis data dilakukan dengan menggunakan perangkat lunak SPSS versi 17.0 for windows. Data yang dianalisa pada penelitian ini akan disajikan dalam bentuk skala nominal, sehingga untuk masing-masing variabel dilakukan uji kemaknaan statistik beda dua proporsi dengan menggunakan rumus *Pearson chi square* atau *Fisher's Exact Test* bila syarat tidak terpenuhi dalam bentuk tabel 2 x 2.

Pengukuran hubungan (*measurement of association*) setiap pertanyaan penelitian akan disajikan dalam bentuk *Prevalence Ratio (PR)*, berikut dengan nilai sensitivitas, spesifisitas, *positive predictive value* dan *negative predictive value* dari masing-masing variabel determinan tersebut. Selanjutnya direncanakan analisis menggunakan metode logistik regresi untuk menilai kuat hubungan PR di antara masing-masing variabel determinan yang memiliki kemaknaan statistik sebagai prediktor diagnosis influenza dengan *ROC (receiver operator curve)* dan nilai *AUC (area under curve)*.

Penelitian ini tidak mengandung unsur intervensi kepada penderita yang tunduk kepada Deklarasi Helsinki. Namun pada setiap pengambilan darah dan *swab* nasofaringeal, dilakukan persetujuan tertulis (*informed consent*) dari penderita atau keluarganya. Kepada penderita dan/ atau keluarganya diberikan penjelasan tentang maksud dan tujuan penelitian serta manfaat yang diharapkan dari penelitian ini. Setelah memahami dengan jelas, penderita dan atau keluarganya diminta menandatangani surat persetujuan jika tidak berkeberatan diikutsertakan dalam penelitian.

Pada pengambilan sampel darah, di setiap tabung diberikan kode sesuai inisial pasien, urutan sampel dan tanggal pengambilan sampel, yang hanya diketahui oleh peneliti dan tim yang membantu pengambilan sampel darah. Berikut juga pada perangkat uji deteksi cepat dan media transpor virus, diberikan kode sesuai yang tercantum pada sampel darah.

HASIL

Pada penelitian ini telah dilakukan pengambilan data sampel dari kelompok pasien dewasa (>17 tahun) dengan diagnosis penyakit pernapasan akut yang datang berobat ke Pusat Kesehatan Masyarakat (Puskesmas) Kecamatan Pulo Gadung dan Puskesmas Kelurahan Rawamangun, selama periode akhir Maret hingga Juni 2011. Adapun jumlah sampel yang dikumpulkan adalah sebanyak 90 sampel (n=90) dan dari seluruh sampel tersebut, kesemuanya memenuhi persyaratan dan dapat diikutsertakan dalam analisis selanjutnya. Penjabaran

karakteristik subyek penelitian secara lebih detil dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Karakteristik subyek penelitian

Karakteristik Subyek	Sampel (n = 90)
Jenis kelamin	
Perempuan	(37.8%)
Laki-laki	(62.2%)
Usia	
Median 31 tahun (Rentang 17-76 tahun)	
17-40 tahun	67/90 (74,4%)
41-59 tahun	18/90 (20%)
≥ 60 tahun	5/90 (5,6%)
Pendidikan	
Tidak sekolah	1/90 (1,1%)
SD	12/90 (13,3%)
SMP	24/90 (26,7%)
SMA	30/90 (33,3%)
Sarjana	23/90 (25,6%)
Pekerjaan	
Tidak bekerja	8/90 (8,9%)
Ibu rumah tangga	9/90 (10%)
Pelajar/Mahasiswa	6/90 (6,7%)
Karyawan swasta	40/90 (44,4%)
Wiraswasta/Profesional	17/90 (18,9%)
Buruh/Supir	4/90 (4,4%)
Pegawai Negeri Sipil	6/90 (6,7%)
Pendapatan	
≤ Rp 1 juta/Bulan	30/90 (33,3%)
Rp 1-5 juta/Bulan	39/90 (43,3%)
>5 juta/ Bulan	0/90 (0%)
Tidak ada penghasilan	18/90 (20 %)
Pensiunan	3/90 (3,3 %)
Alamat tempat tinggal	
Jakarta Timur	73/90 (81,1%)
Kayu Putih	35/90 (38,9%)
Rawamangun	29/90 (32,2%)
Cipinang	6/90 (6,7%)
Pulo Gadung	2/90 (2,2%)
Cakung	1/90 (1,1%)
Luar Jakarta Timur	17/90 (18,9%)
Jakarta Pusat	7/90 (7,8%)
Jakarta Selatan	4/90 (4,4%)
Jakarta Utara	3/90 (3,3%)
Jakarta Barat	1/90 (1,1%)
Luar Jakarta	2/90 (2,2%)
Bulan pengambilan sampel	
Maret	4/90 (4,4%)
April	17/90 (18,9%)
Mei	44/90 (48,9%)
Juni	25/90 (27,8%)
Awitan gejala	
Median 2 hari (Rentang 1-5 hari)	
Riwayat pengobatan	1
Tidak ada	8/90 (20%)
Antipiretik/Simptomatik	42/90 (55,6%)
Antibiotik	22/90 (24,4%)

Pada penelitian ini, keluhan demam yang dibuktikan lebih lanjut melalui pengukuran suhu secara obyektif, berjumlah 46,7% dari seluruh subyek. Rerata suhu pada seluruh subyek adalah 37,11 °C dan pada kelompok influenza adalah 37.78 °C.

Rerata leukosit dari seluruh subyek adalah 9.478/μL dengan rerata hitung limfosit relatif sebesar 21,79%. Pada pemeriksaan PCR, hanya influenza A yang memberikan hasil positif sebanyak 13 sampel. Data yang lebih terperinci dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Karakteristik variabel determinan dan outcome pada penelitian

Variabel determinan	Sampel (n=90)
Demam (suhu > 37,2°C)	
Ya	(46.7%)
Tidak	(53.3%)
Suhu tubuh saat berobat	Rerata 37.11 °C
Batuk	
Ya	(87.8%)
Tidak	(12.2%)
Pilek	
Ya	(82.2%)
Tidak	(17.8%)
Hidung tersumbat	
Ya	(71.1%)
Tidak	(28.9%)
Nyeri tenggorok	
Ya	(60%)
Tidak	(40%)
Nyeri otot	
Ya	(73.3%)
Tidak	(26.7%)
Nyeri kepala	
Ya	(82.2%)
Tidak	(17.8%)
Kadar leukosit	Rerata 9478 / μ L
Kadar limfosit	Kadar absolut : Median 1955 / μ L (rentang 550-8380 / μ L) Kadar relatif : Rerata 21.79%
Positif influenza A	
PCR Takara*	(13/90)
Serologi Examan*	(5/90)
Positif influenza B	
PCR Takara*	(0/90)
Serologi Examan*	(0/90)
Usia penderita influenza	
Median 29 tahun (rentang 17-61 tahun)	
17-40 tahun	(9/13)
41-59 tahun	(3/13)
\geq 60 tahun	(1/13)
Suhu tubuh penderita influenza	Rerata 37,78 °C
Kadar leukosit penderita influenza	Median 8300 / μ L, rerata 8900 / μ L
Kadar limfosit penderita influenza	Rerata 19,35%

Sampel yang telah dikumpulkan pada pasien dilanjutkan dengan pemeriksaan PCR yang dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Klinik, Departemen Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Setiap sampel menjalani proses ekstraksi purifikasi RNA dengan volume optimal eluen akhir untuk masing-masing sampel adalah 90 μ L, baik untuk IFA A maupun IFA B. Pada penelitian ini, dari 90 sampel yang diperiksa 13 di antaranya memberikan hasil positif untuk influenza A dan tidak ada sampel yang memberikan hasil positif untuk influenza B. Pada minggu ke 12, tidak ada sampel yang positif dari 4 sampel yang didapatkan. Minggu ke 13-17 (April) 2011 didapatkan 2 kasus influenza positif dari total 17 sampel yang terkumpul (11,7%), minggu 18-22 (Mei) 5

sampel positif dari total 24 sampel terkumpul (20,8%) dan pada Juni (minggu 23-26) 6 sampel positif dari 25 sampel (24%). Hasil elektroforesis PCR IFA A dapat dilihat pada gambar 1.

Pada penelitian ini, dari 13 sampel (14,44%) yang dinyatakan positif Influenza A dengan teknik PCR, lima diantaranya dinyatakan positif oleh pemeriksaan imunokromatografi antigen (38,46%). Tidak ada sampel yang dinyatakan negatif oleh PCR namun dinyatakan positif dengan teknik ini.

Proporsi demam diuji dengan menggunakan uji *chi square*. Pada penelitian ini diperoleh hubungan yang bermakna antara demam dengan influenza dengan $p = 0,003$. Kejadian demam pada pasien influenza bila dibandingkan dengan pasien ARI bukan influenza dengan ILI adalah 85% dan 40% dengan *prevalence ratio* (PR) 6,28 (95% *Confidence Interval* /95% CI 1,476-26,759).

Proporsi batuk dianalisis dengan menggunakan uji *Fisher's* karena syarat untuk uji *chi square* tidak terpenuhi dengan nilai $p = 0,657$. Pada penelitian ini tidak didapatkan pasien influenza dengan leukopenia (leukosit < 5000/ μ L), sementara proporsi jumlah leukosit normal (leukosit 5.000-10.000/ μ L) pada kelompok influenza dibandingkan dengan kelompok ARI bukan influenza dengan ILI diperoleh $p = 0,413$.

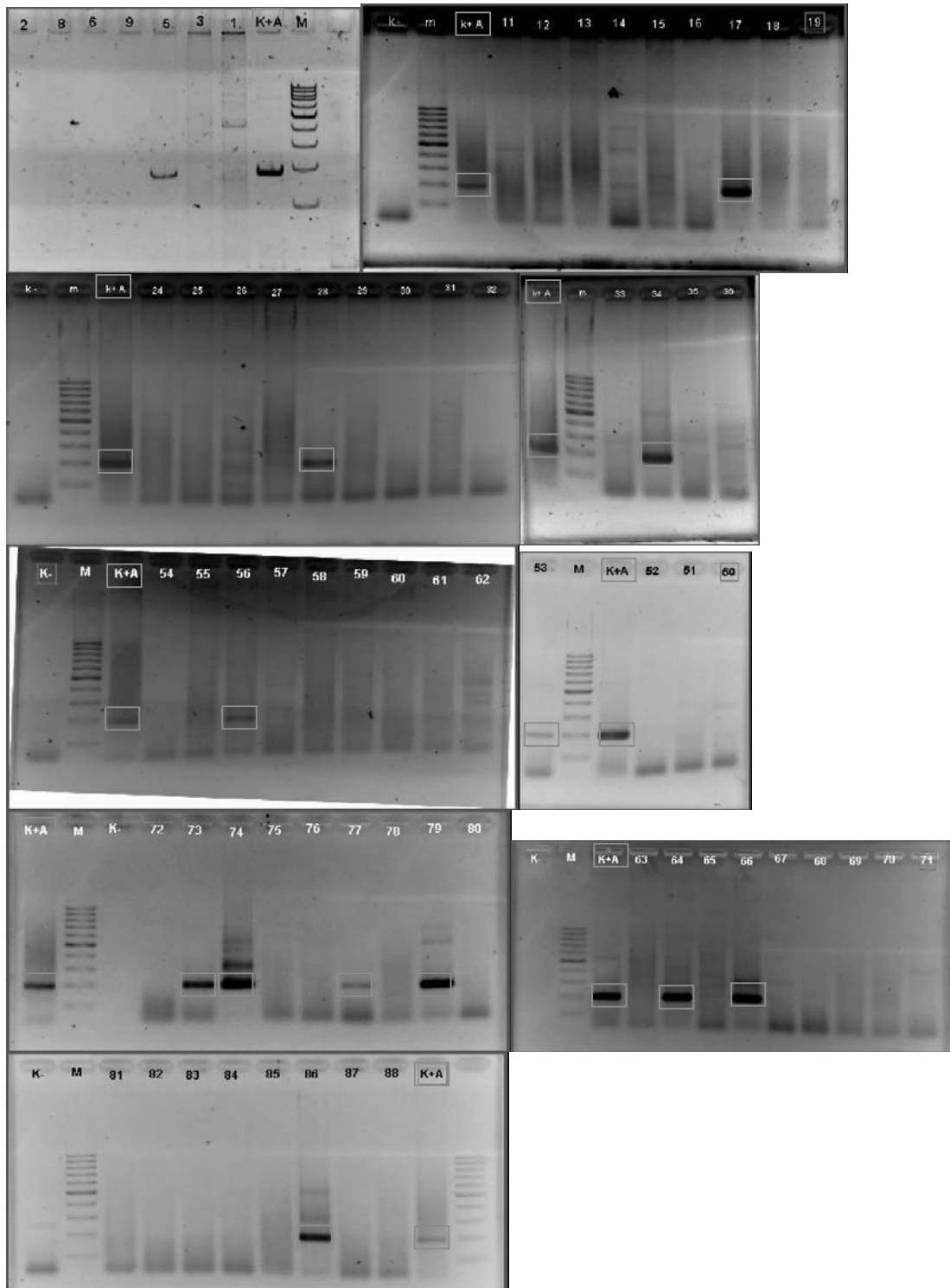
Pada penelitian ini diperoleh nilai sensitivitas untuk demam, batuk dan pilek masing-masing 85% dan untuk jumlah leukosit normal serta limfopenia relatif masing-masing adalah 69%. *Negative predictive value* untuk demam adalah 98% dan 91% untuk limfopenia relatif. Keterangan lebih terperinci untuk masing-masing variabel determinan dengan berbagai parameter diagnostiknya terhadap kejadian influenza dapat dilihat dalam tabel 3 dan tabel 4.

Analisis secara multivariat tidak dilanjutkan karena hanya terdapat satu variabel determinan dengan nilai 'p' yang memenuhi persyaratan untuk diuji lebih lanjut.

Tabel 3 Kuat hubungan masing-masing variabel determinan dengan influenza pada pasien ARI dengan ILI

Variabel Determinan	IFA (+)	IFA (-)	'p'	PR (95% CI)
Demam	11/13 (85%)	31/77 (40%)	0,003	6,286 (1,476-26,759)
Batuk	11/13 (85%)	68/77 (88%)	0,657	0,766 (0,195-3,009)
Pilek	11/13 (85%)	63/77 (81%)	1,000	1,189 (0,291-4,853)
Leukosit normal	9/13 (69%)	44/77 (57%)	0,413	1,571(0,523-4,721)
Limfopenia mutlak	2/13 (15%)	6/77 (8%)	0,325	1,864(0,498 – 6,978)
Limfopenia relatif	9/13(69%)	38/77 (49%)	0,184	2,059 (0,683-6,201)

IFA = Influenza ; 'p' = P value ; PR = prevalence ratio ; 95% CI = 95% confidence interval



Gambar 1. Elektroforesis PCR IFA A dengan hasil positif

Tabel 4 Sensitivitas, spesifisitas, PPV, NPV masing-masing variabel determinan dengan confidence interval 95%

Var Determinan	Se (95% CI)	Sp (95% CI)	PPV (95% CI)	NPV (95% CI)
Demam	85 % (65%-100%)	59 % (49%-71%)	26% (13%-39%)	98 % (90%-100%)
Batuk	85 % (65%-100%)	12 % (5%-19%)	14 % (7%-22%)	82 % (59%-100 %)
Pilek	85 % (65%-100%)	18 % (10%-27%)	15 % (7%-23%)	85% (71%-100%)
Leukosit normal	69 % (44%-94%)	43 % (32%-54%)	17 % (7%-27%)	89% (79%-99%)
Limfopenia Mutlak	15 % (-4%-35%)	92 % (86%-98%)	25 % (-5%-55%)	87 % (79%-94%)
Limfopenia relative	69% (44%-94%)	51 % (39%-62%)	19% (8%-30%)	91% (82%-99%)

Se = sensitivitas ; Sp = spesifisitas ; PPV = positive predictive value ; NPV = negative predictive value 95% CI = 95% confidence interval

DISKUSI

Pada penelitian ini didapatkan pria (62,2%) sebagai subyek ARI terbanyak dibandingkan wanita. Data yang sedikit berbeda dikemukakan oleh Zambon dkk. yang mendapatkan wanita sedikit lebih banyak mengalami ARI dibandingkan pria.³ Ou dkk. melaporkan kejadian influenza pada pria 1,5 kali lebih banyak dibandingkan wanita, sementara Cao dkk. mendapatkan pria dengan influenza sebanyak 53,8% dibandingkan wanita 46,2%.^{12,24} Sementara Zambon dkk. mendapatkan dari 1033 pasien ARI dengan ILI, 53% di antaranya adalah wanita. Pada penelitian ini, proporsi jenis kelamin subyek didapatkan lebih berimbang dengan wanita sebanyak 54% dan pria sisanya. Sehingga nampaknya memang tidak ada hubungan secara khusus antara kejadian ARI atau influenza dan jenis kelamin.

Sesuai dengan data demografis kependudukan di Indonesia, mayoritas subyek pada penelitian ini memiliki tingkat pendidikan menengah ke bawah, hanya seperempat dari seluruh subyek (25,6%) yang mengenyam bangku sekolah tinggi. Kondisi demikian tentu berpengaruh terhadap tingkat pendapatan, daya beli masyarakat dan tingkat kesejahteraan masyarakat secara umum. Aspek kesehatan tentunya juga akan terpengaruh. Kenyataan tersebut diperkuat dengan data yang diperoleh, dimana lebih dari 50% subyek memiliki penghasilan < Rp 1 juta tiap bulan atau tidak memiliki penghasilan rutin sama sekali dengan jenis pekerjaan terbanyak adalah pegawai lepasan.

Usia subyek pada penelitian ini memiliki rentang lebar antara 17 hingga 76 tahun dengan median 31 tahun sementara pada kelompok yang dinyatakan positif influenza, median usianya lebih muda, 29 tahun (rentang 17-61 tahun). Beberapa penelitian serupa menunjukkan data yang kurang lebih sama terkait dengan usia. Zambon dkk. mendapatkan rerata usia penderita influenza adalah 36 tahun.³ Sementara Bin cao dkk. melaporkan rerata usia dari 456 penderita

influenza H1N1 pandemik 2009 di Cina yang lebih muda, 23,4 tahun.¹² Ou dkk. menyebutkan angka 34,4 tahun sebagai rerata usia penderita influenza di Shanghai dengan rentang yang lebih luas antara 4 tahun hingga 77 tahun.²⁴

Data tersebut menunjukkan bahwa influenza merupakan suatu penyakit yang tidak mengenal usia dan dapat menyerang siapapun. Beigel dkk. menekankan meskipun influenza dapat bermanifestasi sebagai suatu penyakit yang relatif ringan dan dapat hilang dengan sendirinya, risiko manifestasi klinis yang berat selalu mengancam.²³

Kewaspadaan lebih harus diberikan pada beberapa kelompok dengan risiko tinggi. Rothberg dkk. menyebutkan kelompok usia yang sangat muda dan sangat tua memiliki risiko lebih tinggi untuk mengalami komplikasi influenza. Selain itu terdapatnya penyakit kronis seperti penyakit jantung, penyakit paru, diabetes, penyakit ginjal kronik, demensia, stroke hingga kelainan reumatologi kronis yang dimiliki oleh seorang penderita influenza menambah tingginya risiko mortalitas tersebut meskipun usia masih relatif lebih muda.^{22,25}

Pada studi ini mayoritas pasien ARI dengan ILI berada pada rentang usia 17-40 tahun sebanyak 74,4%, begitu pula pada kelompok yang terbukti influenza, 69% di antaranya berada pada rentang usia ini. Hanya satu pasien influenza yang termasuk dalam kelompok usia lanjut (61 tahun). Namun, pada studi ini data penyakit kronis lain sebagai faktor risiko tidak tersedia dan tentu kekurangan ini perlu untuk disempurnakan pada penelitian-penelitian selanjutnya.

Asal subyek dengan influenza mayoritas berasal dari daerah Kayu Putih dengan dua subyek lainnya datang dari luar Jakarta Timur. Peneliti menduga hasil yang lebih akurat dapat diperoleh apabila jumlah dan cakupan subyek ARI dengan ILI dapat diperbanyak. Selain itu data demografis lain terkait dengan kondisi lingkungan rumah para subyek juga perlu dikumpulkan sehingga dapat memberikan manfaat yang lebih besar terkait dengan pola transmisi virus.

Hal lain yang patut untuk digarisbawahi adalah mengenai penggunaan antibiotika. Seperempat dari seluruh subyek mengaku sudah minum obat-obatan tersebut. Namun sayangnya pada studi ini tidak dilakukan telaah lebih lanjut mengenai cara subyek mendapatkan obat ini, apakah dibeli sendiri secara bebas, mendapatkan dari dokter atau mungkin memanfaatkan 'sisa' obat yang ada di rumah. Hal ini dapat menjadi suatu keprihatinan terkait dengan isu 'misuse' antibiotika dengan risiko resistensi yang mengancam.

Subyek ARI terbanyak di penelitian ini dikumpulkan pada bulan Mei (48,9%). Sementara untuk kasus influenza

sendiri didapatkan kurang lebih sama antara bulan Mei - Juni, sekitar 20 %. Kejadian influenza secara umum pada studi ini adalah 14,44% dari keseluruhan sampel.

Menurut laporan *Global Influenza Surveillance Network* (GISN) WHO, pada tahun 2011 ini regio Asia Tenggara memiliki jumlah kasus influenza yang lebih rendah dibandingkan dengan tahun lalu, dan secara global virus influenza saat ini berada pada kondisi aktivitas rendah (*low activity*) sejak Maret 2011. Pada minggu ke 27 tahun 2011, dari 892 spesimen yang dikumpulkan di Cina, hanya 49 di antaranya yang dinyatakan positif untuk influenza (5,4 %). Di Amerika Serikat 2 spesimen positif dari 707 sampel, Korea Selatan 1 positif dari 220 sampel (masing-masing < 1 %) dan Australia 7 dari 154 sampel (4,5 %). India memberikan data yang agak berbeda dengan 78 sampel positif dari 182 sampel (42,8 %).²⁶ Memanfaatkan data yang diperoleh pada penelitian ini, secara ringkas kejadian influenza pada populasi penelitian ini masih terbilang lebih tinggi setiap bulannya, dalam hal ini antara April hingga Juni.

Peran evaluasi gejala klinis sebagai penentu awal diagnosis influenza sudah banyak disinggung di berbagai literatur.^{1,3,5,7,10,12,22-24,27-30} Meskipun seringkali membingungkan, kumpulan gejala klinis yang menyerupai influenza tetap merupakan indikator yang paling sensitif terhadap diagnosis ARI dan influenza.²⁸

Pada penelitian ini, demam ($> 37,2^{\circ}\text{C}$) merupakan variabel determinan dengan hasil uji kemaknaan yang memuaskan terhadap kejadian influenza ($p = 0,003$). Rerata suhu seluruh sampel pada penelitian ini adalah $37,11^{\circ}\text{C}$ dan pada kelompok influenza nilai tersebut secara klinis lebih tinggi yaitu $37,8^{\circ}\text{C}$. Nilai tersebut sama dengan rerata parameter suhu oleh Monto dan Zambon.^{1,3} Beigel menampilkan nilai yang lebih tinggi $38,3^{\circ}\text{C}$.^{22,23} Terbuktinya demam sebagai satu parameter klinis yang berperan utama pada influenza di penelitian ini merupakan satu temuan yang konsisten dengan *guidelines* yang digunakan di Inggris, dan sepengetahuan peneliti analisis klinis ini merupakan yang pertama di Indonesia.

Penelitian sebelumnya oleh Yuwono dkk. mendapatkan demam sebagai 3 besar gejala yang diperoleh pada influenza (suhu $37,1^{\circ}\text{C}$ – $38,4^{\circ}\text{C}$) meskipun pada penelitian yang dilakukan oleh Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan (LitBangKes) itu mayoritas melibatkan pasien anak, dan sayangnya tidak dilakukan analisis kemaknaan lebih lanjut.⁷ Silvennoinen dkk. mendapatkan demam sebagai gejala yang paling menonjol pada pasien anak dengan rerata suhu yang juga lebih tinggi, 90% dengan suhu $> 38,0^{\circ}\text{C}$ dan 50% suhu tubuh $> 39,0^{\circ}\text{C}$.²⁹ Bahkan pada kelompok usia lanjut, demam tetap menjadi keluhan klinis yang paling

sensitif pada kasus ILI secara umum.³⁰

Kejadian demam pada kelompok influenza di penelitian ini adalah 85%, jauh lebih tinggi bila dibandingkan dengan kelompok ARI bukan influenza dengan ILI yang hanya 40%. Kejadian demam ini serupa dengan data yang dimiliki oleh Ou dkk. dengan 86%.²² Pada penelitian ini, terjadinya demam pada influenza ialah 6,28 kali lebih besar dibandingkan tanpa demam (*Prevalence Ratio* 6,28; 95% CI 1,476-26,759) dengan hasil sensitivitas yang memuaskan yaitu 85% dan *negative predictive value* yang sangat memuaskan mendekati 100%.

Studi lain oleh Eskin dan Levy menyebutkan demam memiliki *likelihood ratio* (+) sebesar 1,8 (95% CI 1,1-2,9) terhadap influenza pada semua kelompok usia.³¹ Monto dkk. menyimpulkan bila demam merupakan parameter terbaik untuk influenza dengan hasil *Positive predictive value*/PPV bila dikombinasi dengan batuk adalah 79% dan nilai tersebut akan semakin meningkat bila suhu tubuh diperoleh semakin tinggi pada saat datang berobat.¹

Oleh karena besarnya manfaat klinis tersebut, melalui studi ini dapat digarisbawahi bahwa demam merupakan parameter dengan makna klinis yang penting terhadap terjadinya influenza dan apabila kondisi demam tidak dapat dibuktikan secara obyektif maka diagnosis influenza perlu dievaluasi lebih lanjut dengan parameter diagnostik lain mengingat hasil sensitivitas dan *negative predictive value* dari demam yang diperoleh pada studi ini, sangat baik untuk influenza.

Menurut panduan Influenza yang dikeluarkan oleh British Infection Society bekerja sama dengan British Thoracic Society, Health Protection Agency dan Departemen Kesehatan Inggris, pasien ARI dengan ILI yang datang berobat ke pusat pelayanan kesehatan primer dengan demam tinggi akut yang prominen dalam waktu kurang dari 48 jam saat terdapatnya ancaman epidemik influenza merupakan kandidat utama untuk dilakukan evaluasi virus secara mikrobiologis (kultur atau PCR) menggunakan spesimen apus nasofaringeal maupun apus tenggorok sebelum diberikan terapi antivirus oseltamivir segera tanpa mempertimbangkan kelompok usia. Manfaat evaluasi mikrobiologis tersebut berhubungan dengan kepentingan epidemiologis dan penentuan status epidemik yang selanjutnya dapat mempengaruhi kebijakan pengobatan lebih lanjut.⁶

Evaluasi faktor risiko juga harus dilakukan guna menentukan apakah pasien harus dirujuk ke rumah sakit untuk perawatan lebih lanjut mengingat tingginya risiko kejadian komplikasi pada kelompok dengan faktor risiko tersebut. Penggunaan uji deteksi cepat dengan teknik

imunokromatografi antigen hingga saat ini masih belum dijadikan standar acuan dan harus dimanfaatkan dengan cermat.⁶

Seperti yang telah disinggung sebelumnya, Indonesia sebagai negara tropik memiliki ancaman beredarnya virus influenza sepanjang tahun dan hal ini dapat dilihat dari hasil studi, sekitar 11 – 24 % pasien ARI dengan ILI disebabkan oleh influenza tiap bulannya antara April hingga Juni 2011. Mengacu kepada panduan, maka melalui hasil penelitian ini disarankan kepada para tenaga medis untuk melakukan evaluasi secara mikrobiologis terhadap kemungkinan influenza apabila demam secara nyata diperoleh pada pasien ARI dengan ILI.

Tingginya kejadian demam pada infeksi virus influenza, disertai dengan nyeri kepala dan malaise, menurut Khanna dkk. disebabkan oleh karena pelepasan sitokin proinflamasi dalam jumlah besar seperti TNF- α dan interferon oleh sel tubuh yang terinfeksi virus.³² Terjadinya peningkatan kadar TNF- α secara luar biasa, serta kadar IL-6, IL-12 serta IFN- γ juga diobservasi oleh Heltzer dkk. pada kelompok pasien influenza berat dibandingkan influenza sedang maupun kontrol.³³ Kondisi T-helper hipersitokinemik juga dilaporkan oleh Bermejo-Martin dkk. pada kasus influenza berat.³⁴

Batuk seringkali disebut sebagai parameter klinis terpenting lainnya setelah demam, namun demikian pada penelitian ini tidak didapatkan hubungan yang bermakna antara batuk dan influenza ($p = 0,657$). Kejadian batuk untuk kelompok influenza pada studi ini didapatkan sedikit lebih rendah dibandingkan kelompok ARI bukan influenza dengan ILI, 85% dan 88% secara berurutan. Cunha menyinggung mengenai pentingnya keterlibatan saluran napas sebagai manifestasi utama dari infeksi influenza. Pada kasus influenza ringan sampai sedang tanpa komplikasi, umumnya ditandai dengan tracheobronchitis dan keterlibatan saluran napas kecil lainnya yang bermanifestasi sebagai batuk nonproduktif, disertai demam dan nyeri kepala yang muncul tiba-tiba.³⁵

Tingginya kejadian batuk pada influenza banyak didokumentasikan di penelitian-penelitian lain. Yuwono dkk. menyebutkan sebanyak 97,21 % penderita influenza mengeluarkan batuk.⁷ Zambon dan Monto mendapatkan kejadian batuk yang sedikit lebih rendah. Di Cina, Ou dkk. serta Bin Cao dkk. menuliskan prevalensi batuk pada penderita influenza H1N1 pandemik 2009 masing-masing 66% dan 69,5%.^{12,22} Silvennoinen mendapatkan batuk pada 77% pasien influenza anak di semua kelompok umur.²⁹

Namun tidak demikian halnya dengan penderita usia lanjut, dimana gejala cenderung tidak khas, sementara

gejala lain yang tipikal untuk pasien usia lanjut menjadi semakin prominen pada kasus ILI seperti penurunan kemampuan fungsional sehari-hari sebesar 71%, diikuti dengan menurunnya fungsi fisik pada 66% kasus dan yang terbesar adalah menurunnya kemampuan kognitif sebanyak 87% dari seluruh kasus.³⁰ Pada studi ini, hanya satu subyek berusia lebih dari 60 tahun dengan hasil PCR positif.

Batuk sebagai suatu keluhan subyektif, tentu akan menimbulkan kesulitan apabila ingin diukur secara obyektif. Hampir semua subyek ARI yang dilibatkan pada penelitian ini mengeluhkan adanya batuk (87,8%) dan diperoleh prevalensi yang hampir berimbang pada masing-masing kelompok. Namun demikian, tidak bermaknanya nilai 'p' pada variabel determinan batuk membuktikan pernyataan yang dilontarkan oleh *guidelines* maupun literatur lain mengenai sulitnya menjadikan keluhan klinis semata sebagai acuan untuk menentukan etiologi pada kasus ARI dengan manifestasi ILI.^{1,3,5,7,22,23,27,28,31,32,36} Selain itu, rendahnya kejadian influenza pada penelitian ini boleh jadi ikut berpengaruh terhadap hasil uji kemaknaan statistik.

Variabel determinan lain yang coba untuk dianalisis pada penelitian ini adalah keluhan pilek. Variabel ini juga memberikan kemaknaan statistik yang lemah dengan nilai $p > 0,005$ dan jumlah kejadian pilek pada subyek yang juga berimbang di antara kedua kelompok. Pilek sebagai bagian dari infeksi pernapasan hampir selalu termasuk di dalam tiga besar gejala yang dikeluhkan oleh penderita influenza secara umum. Beberapa hal yang diperkirakan menjadi kendala pada evaluasi variabel determinan batuk diduga juga berperan sama pada variabel pilek. Sehingga parameter batuk dan pilek dinilai tidak mampu meningkatkan kemampuan prediksi terhadap diagnosis influenza pada studi ini.

Meskipun demikian, Hannoun dan banyak penulis lainnya tetap menekankan pentingnya evaluasi klinis sebagai prasarana utama dalam penentuan definisi kasus influenza untuk kepentingan deteksi dini, penatalaksanaan yang optimal hingga kepentingan surveilans.⁵ Beberapa penelitian berskala besar, multisentra dan menggunakan tenaga ahli dengan fasilitas memadai berusaha membuktikan manfaat dari analisis klinis terhadap kejadian influenza.¹ Ebell menuliskan di dalam artikelnya, saat ini terdapat dua metanalisis yang menyatakan bahwa demam, batuk, menggigil dan berkeringat dapat meningkatkan *likelihood ratio* terhadap influenza.³⁷ Hal serupa juga diungkapkan oleh Eskin dan Levy.³¹

Pada variabel laboratoris didapatkan rerata leukosit pada seluruh subyek masih dalam kisaran normal dengan

median leukosit pada kelompok influenza adalah 8300/ μ L (rentang 5200-14500 / μ L). Tidak ada subyek dengan influenza yang menunjukkan hasil darah leukopenia, 9 subyek dengan leukosit normal dan 4 lainnya dengan leukositosis.

Hasil ini agak berbeda dengan data yang diperoleh dari Cao dkk. yang menuliskan kejadian leukopenia ringan pada 21,4% kasus dengan rerata leukosit pasien influenza adalah 3440 ± 220 / μ L.¹² Ou dkk mendapatkan hasil leukosit normal dan rendah pada 86,7% kasus.²⁴ Satu penelitian oleh Mohan dan Cunha menunjang data yang diperoleh pada penelitian ini, dimana kejadian leukopenia sulit untuk diperoleh pada penderita influenza.¹³ Studi terkait evaluasi darah tepi pada influenza memang tidak banyak. Saat ini hanya terdapat satu studi yang melakukan analisis hubungan antara jumlah leukosit dan influenza. Pada studi tersebut disebutkan angka 4000 / μ L sebagai nilai ambang yang dapat meningkatkan *likelihood* influenza menjadi 76%.³⁷

Meskipun leukopenia tidak ditemukan pada penelitian ini, kadar leukosit yang normal lebih sering ditemui pada pasien influenza disertai dengan keluhan demam dan gejala lain yang tipikal (69% pada influenza vs 57% pada ARI bukan influenza dengan ILI). Meskipun terdapat ketidakbermaknaan statistik (p 0,413), manfaat klinis terhadap temuan kadar leukosit normal yang 1,5 kali lebih tinggi pada kelompok subyek influenza ini tetap dapat dimanfaatkan secara bijaksana (*Prevalence Ratio* 1,571; 95% CI 0,523 – 4,721).

Hasil yang lebih baik didapatkan pada analisis limfosit. Pada penelitian ini didapatkan proporsi dan *prevalence ratio* limfopenia relatif pada pasien dengan influenza yang lebih baik daripada proporsi limfopenia mutlak. Persentase kejadian limfopenia relatif juga secara nyata lebih tinggi pada influenza dibandingkan dengan kelompok ARI dengan ILI bukan influenza (69% vs 49%) dengan rerata hitung limfosit relatif pada kelompok influenza yang juga lebih rendah (19,35%).

Secara teoritis influenza diketahui dapat mempengaruhi aktivitas sel darah putih melalui jalur infeksi intraselulernya, dengan keterlibatan limfosit sitotoksik yang lebih dominan.³⁸ Lewis dan Gilbert menyinggung perihal penurunan jumlah Limfosit B dan T pada pasien influenza yang disertai dengan sedikit perubahan fungsi pada stimulasi lectin, tanpa adanya perubahan rasio CD4:CD8. Selain itu penurunan ini juga dapat muncul sebagai konsekuensi dari migrasi sel limfosit tersebut dari intravaskuler kepada jaringan yang terinfeksi.³⁹

Tingginya kejadian limfopenia baik absolut maupun relatif oleh Mohan dan Cunha diperkirakan oleh karena

pasien influenza yang dilibatkan pada studi tersebut merupakan kelompok pasien influenza yang membutuhkan perawatan di rumah sakit.¹³ Hasil yang kurang lebih serupa juga didapatkan pada pasien H5N1 berat.⁶

Pada penelitian ini, analisis tidak dilanjutkan dengan metode multivariat oleh karena keterbatasan kemaknaan statistik yang diperoleh pada masing-masing variabel determinan. Namun demikian, studi ini tetap dapat memberikan kontribusi manfaat untuk kepentingan klinis (*Clinical Importance*) sesuai dengan tujuan utama dilakukannya studi ini. Memanfaatkan data dan bukti klinis yang diperoleh, jelas terlihat bahwa penderita ARI dengan gejala-gejala yang menyerupai influenza merupakan kunci untuk masuknya klinisi kepada kemungkinan infeksi influenza. Selanjutnya disarankan, apabila gejala ILI tersebut tidak disertai dengan demam nyata, $\geq 37,8$ °C, yang muncul dalam 48 jam pertama kewaspadaan terhadap influenza perlu dievaluasi ulang.

Ketiga parameter klinis yang dianalisis pada penelitian ini memberikan nilai sensitivitas yang baik dan *negative predictive value* memberikan manfaat klinis yang lebih besar dengan demam memiliki nilai yang mendekati sempurna.

Teknis perlakuan sampel memegang peranan yang besar dalam penelitian ini. Ketersediaan lemari pendingin -70 °C s/d -80 °C menjadi suatu keharusan untuk mempertahankan komponen virus untuk tetap baik selama berada di dalam media transpor. Pada penelitian ini media HBSS merupakan medium terpilih disesuaikan dengan anjuran WHO. Primer untuk influenza juga menggunakan primer yang disesuaikan dengan *strain* influenza yang bersirkulasi di Indonesia. RT-PCR digunakan sebagai standar untuk menentukan diagnosis influenza pada studi ini dikarenakan sensitivitas dan spesifisitas yang sangat memuaskan.^{2,10,13,22,23,40,41}

Analisis PCR secara kualitatif dipilih pada studi ini karena sesuai dengan Metode dan analisa secara kuantitatif umumnya lebih ditujukan untuk menilai respons terapi pada influenza.⁴¹ Pada studi ini evaluasi tidak dilanjutkan kepada *strain* influenza dikarenakan kendala teknis namun peneliti merasa manfaat yang lebih besar dapat diperoleh apabila evaluasi ini dapat dilakukan mempertimbangkan kemungkinan terdapatnya jenis avian flu yang memiliki risiko fatal lebih besar.

Uji imunokromatografi antigen yang sedianya merupakan suatu uji deteksi cepat untuk kepentingan klinis, pada studi ini lebih ditujukan sebagai analisa perbandingan efektivitas deteksi dibandingkan PCR dengan menggunakan bahan yang sama-sama berasal

dari *frozen sampel* dan tidak digunakan sebagai modalitas utama pada studi ini. Pada evaluasi tersebut diperoleh kemampuan deteksi yang menurun, sensitivitas 38%, namun dengan spesifisitas yang baik 100%.

Berbagai kendala teknis penelitian dan banyaknya faktor terkait yang harus dikoordinasikan dengan sempurna menjadi kendala di lapangan. Keterbatasan sarana dan prasarana pendukung juga diperkirakan ikut berperan dalam kendala penelitian ini. Perihal perizinan, dengan birokrasi yang berlapis menjadi suatu permasalahan lain yang mempengaruhi kemudahan dan aksesibilitas pengambilan sampel. Selain itu, penelitian ini yang mendapat dukungan dari *Iwate Medical University* di Jepang Utara juga terpengaruh oleh karena musibah tsunami yang baru saja menimpa Jepang terutama dalam hal keterlambatan pasokan reagen PCR, media transpor virus dan kit imunokromatografi cepat.

Kelahiran utama penelitian ini bertitik berat pada manfaat klinis yang besar terhadap diagnosis influenza dengan menggunakan parameter sederhana yang dapat dilakukan di mayoritas pelayanan kesehatan primer. Selain itu, pada studi ini perlakuan terhadap sampel sangat dijaga ketat agar dapat memberikan hasil deteksi molekuler terbaik.

Keterbatasan utama pada penelitian ini terletak pada rendahnya jumlah variabel keluaran (*outcome variable*) influenza pada seluruh subyek, sehingga mempengaruhi hasil uji kemaknaan statistik univariat. Salah satu faktor yang berperan kemungkinan disebabkan oleh karena kekeliruan menggunakan asumsi untuk menentukan proporsi influenza dalam menghitung besar sampel studi.

Penulis menyadari kelemahan dan keterbatasan penelitian ini sehingga sangat diperlukan konfirmasi dan validasi lanjutan melalui penelitian lainnya dalam skala yang lebih besar dan sentra yang lebih banyak guna memperbaiki generalisasi hasil di luar populasi penelitian ini.

Pada sub-bab ini akan dibahas seberapa jauh hasil penelitian ini bisa diaplikasikan pada populasi yang lebih luas. Sesuai dengan prinsip representasi sampel terhadap populasi dan teknik pengambilan sampel (*sampling*), maka penilaian generalisasi dilakukan terhadap validitas interna serta validitas eksterna I dan II.

Penilaian terhadap validitas interna dilakukan dengan memperhatikan apakah subyek yang menyelesaikan penelitian (*actual study subjects*) dapat merepresentasikan sampel yang memenuhi kriteria pemilihan subyek (*intended sample*). Pada penelitian ini, subyek yang memenuhi kriteria pemilihan subyek namun

tidak dapat diikutsertakan sebagai sampel penelitian berjumlah 7 orang yang terutama disebabkan oleh karena menolak untuk diambil darah karena takut sejumlah 5 orang dan 2 orang lagi gagal untuk diambil darah karena kendala teknis. Sehingga apabila dihitung dari jumlah total sampel nilainya tidak melebihi 10%. Atas dasar itu, validitas interna dari penelitian ini diperkirakan baik.

Untuk validitas eksterna I, penilaian dilakukan terhadap representasi subyek yang direkrut sesuai dengan kriteria pemilihan (*intended sample*) terhadap populasi terjangkau (*accessible population*). Populasi terjangkau penelitian ini adalah pasien ARI dewasa dengan gejala meyerupai influenza yang datang berobat ke Puskesmas Kecamatan Pulo Gadung dan Puskesmas Kelurahan Rawamangun dalam periode Akhir Maret hingga Juni 2011. Teknik perekrutan subyek (*sampling*) dari populasi terjangkau diambil secara berurutan (*consecutive sampling*) pada periode tersebut dan diusahakan untuk selalu diambil setiap hari oleh tim penelitian pada hari dan jam kerja Puskesmas. Berdasarkan hal tersebut, validitas eksterna I dari penelitian ini dianggap cukup baik.

Untuk validitas eksterna II, penilaian dilakukan secara *common sense* dan berdasarkan pengetahuan umum yang ada. Dalam hal ini, perlu dinilai apakah populasi terjangkau dari penelitian ini merupakan representasi dari populasi target (pasien ARI dewasa dengan gejala ILI yang datang berobat ke puskesmas). Dengan mempertimbangkan demam, batuk, pilek, jumlah leukosit dan hitung limfosit sebagai suatu kondisi klinis – faali yang dasar dan diperkirakan sama pada manusia secara umum tanpa memperhatikan pendahuluan jenis kelamin, maupun kondisi sosial ekonomi, maka diperkirakan hasil penelitian ini dapat digeneralisasi pada populasi target sehingga validitas eksterna II dari penelitian ini dapat dinilai baik. Namun untuk proporsi influenza pada studi ini, sebaiknya hanya dapat digunakan pada saat aktivitas penyakit influenza dalam kondisi *low activity*.

SIMPULAN

Proporsi influenza pada pasien ARI dengan ILI diperoleh cukup tinggi pada studi ini, sebesar 14,44%, pada saat virus influenza di dunia berada dalam kondisi aktivitas rendah (*low activity*). Proporsi demam lebih tinggi pada kelompok influenza dibandingkan dengan kelompok ARI bukan influenza dengan ILI, sementara tidak didapatkan perbedaan proporsi batuk, pilek, leukopenia maupun limfopenia antara kelompok influenza dan kelompok ARI bukan influenza dengan ILI. Diperoleh nilai sensitivitas yang tinggi untuk demam, batuk, pilek terhadap kejadian

influenza dengan nilai *negative predictive value* terhadap influenza yang memuaskan untuk seluruh variabel determinan. Gabungan gejala klinis dan laboratoris tidak dapat meningkatkan probabilitas diagnosis influenza pada pasien ARI dengan ILI.

DAFTAR PUSTAKA

1. Monto AS, Gravenstein S, Elliott M, Colopy M, Schweinle J. Clinical signs and symptoms predicting influenza infection. *Arch Intern Med.* 2000;160:3243-47.
2. Taubenberger JK, Layne SP. Diagnosis of influenza virus: coming to grips with the molecular era. *Mol Diag.* 2001;4(6):291-305.
3. Zambon M, Hays J, Webster A, Newman R, Keene O. Diagnosis of Influenza in the Community: Relationship of Clinical Diagnosis to Confirmed Virological, Serologic or Molecular Detection of Influenza. *Arch Intern Med.* 2001;161:2116-22.
4. Danzig L, Fukuda K. Influenza. Dalam Wilson RW, Lawrence W, Drew NK, Henry MA, Sande DA, Relman JM, dkk. (Penyunting) *Current diagnosis and treatment in infectious disease*, 1st ed. USA: Lange Mcgraw Hill: 2001.
5. Hannoun C. Case definition for influenza surveillance. *Eur J Epid.* 2003;18:737-38.
6. British Infection Society, British Thoracic Society, Health Protection Agency. Provisional guidelines : Clinical management of patients with an influenza like illness during an influenza pandemic. [diakses pada Agustus 2011]. Tersedia di www.dh.gov.uk
7. Yuwono D, Putranto RH, Sehatman, Subangkit, Susilowati, Klino, dkk. Epidemiological study of influenza in Jakarta and surrounding areas. *Bul Penel Kes.* 2008; 36(2):71-82.
8. CDC. Role of Laboratory diagnosis of influenza. [diakses pada April 2009]. Tersedia di www.CDC.gov
9. Tsuda Y, Sakoda Y, Sakabe S, Mochizuki T, Namba Y, Kida H. Development of an immunochromatographic kit for rapid diagnosis of H5 avian influenza virus infection. *Microbiol Immunol.* 2007;51(9):903-07.
10. Wallace LA, McAulay KA, Douglas JDM, Elder AG, Stott DJ, Carman WF. Influenza diagnosis: from dark isolation into the molecular light. *J Inf.* 1999;39:221-26.
11. Kamps BS, Hoffmann C, Preiser W. Influenza report. Jakarta: Penerbit PT Indeks: 2007. Hal 20-70.
12. Cao B, Li XW, Mao Y, Wang J, Lu HZ, Chen YS, dkk. Clinical features of the initial cases of 2009 pandemic influenza A (H1N1) virus infection in China. *N Engl J Med.* 2009;361:2507-17.
13. Mohan SS, McDermott BP, Cunha BA. The diagnostic and prognostic significance of relative lymphopenia in adult patients with influenza A. *Letters respond. Am J Med.* 2005;118(11):1307-09.
14. Beigel JH, Farrar J, Maung A, Hayden FG, Hyer R, De Jong MD, dkk. Avian influenza A (H5N1) infection in humans. *N Engl J Med.* 2005;353:1374-85.
15. Shek LP, Lee BW. Epidemiology and seasonality of respiratory tract virus infections in the tropics. *Abstrak. Paediatr Respir Rev.* 2003;4(2):105-11.
16. Chew FT, Doraisingham S, Ling AE, Kumarasinghe G, Lee BW. Seasonal trends of viral respiratory tract infections in the tropics. *Epidemiol Inf.* 1998;121(1):121-28.
17. WHO. Pandemic (H1N1) 2009 – update 90. [diakses pada Februari 2010]. Tersedia di <http://www.WHO> Pandemic (H1N1) 2009 - update 90.mhtml
18. Trifonov V, Khabanian H, Rabadan R. Geographic dependence, surveillance, and origins of the 2009 influenza A (H1N1) virus. *N Engl J Med.* 2009;2(361):115-19.
19. Glezen WP. Prevention and treatment of seasonal influenza. *N Engl J Med.* 2008;359:2579-85.
20. Beigel JU, Bray M. Current and future antiviral therapy of severe seasonal and avian Influenza. *Antiviral Res.* 2008;78(1):91-102.
21. Grobbee DE, Hoes AW. *Clinical epidemiology: Principles, Methods and applications for clinical research.* Massachusetts: Jones and Bartlett Publishers, LLC: 2009. hal 58-102.
22. Weisberg SS. Influenza. *J Dis Mon.* 2007;53:435-46.
23. Beigel JH. Influenza: Coincise definitive review. *Crit Care Med.* 2008; 36(9): 2660-66.
24. Ou Q, Lu Y, Huang Q, Cheng X. Clinical analysis of 150 cases with the novel influenza A (H1N1) virus infection in Shanghai, China. *Biosc Tr.* 2009; 3(4):127-30.
25. Rothberg MB, Haessler SD, Brown RB. Complications of viral influenza. *Am J Med.* 2008;121:258-64.
26. WHO. Global Influenza Surveillance Network. [diakses pada Juli 2011]. Tersedia di http://www.who.int/gho/epidemic_diseases/influenza/virological_surveillance/viruses/en/index.html
27. Harper S, Klimov A, Uyeki T, Fukuda K. Influenza. *Clin Lab Med* 2002;22:863-82.
28. Fleming DM. Influenza diagnosis and treatment: a view from clinical practice. *Philos Trans R Soc Lond B.* 2001; 356: 1933-43.
29. Silvennoinen H, Peltola V, Lehtinen P, Vainionpää R, Heikkinen T. Clinical presentation of influenza in unselected children treated as outpatients. *Pediatr Inf Dis J.* 2009;28:372-75.
30. Hui DS, Woo J, Hui E, Foo A, IP M, To KW, dkk. Influenza-like illness in residential care homes: a study of the incidence, etiological agents, natural history and health resource utilisation. *Thorax.* 2008;63:690-97.
31. Eskin B, Levy R. Does this patient have influenza? *Ann Emerg Med.* 2007;49:103-05.
32. Khanna M, Kumar P, Choudhary K, Kumar B, Vijayan VK. Emerging influenza virus: A global threat. *J Biosc.* 2008;33(4):475-482.
33. Heltzer ML, Coffin SE, Maurer K, Bagashev A, Zhang Z, Orange JS, dkk. Immune dysregulation in severe influenza. *J Leukoc Biol.* 2009;85(6):1036-43.
34. Bermejo-Martin JF, de Lejarazu RO, Pumarola T, Rello J, Almansa R, Ramirez P, dkk. Th1 and Th17 hypercytokinemia as early host response signature in severe pandemic influenza. *Crit Care.* 2009; 13:R201.
35. Cunha BA. Influenza: Historical aspects of epidemic and pandemics. *Inf Dis Am.* 2004;18:141-55.
36. Hannoun C. Case definition for influenza surveillance. *Eur J Epid.* 2003;18:737-38.
37. Ebell MH. Diagnosing and treating patients with suspected influenza. *AAFP.* 2005. [diakses pada Januari 2011]. Tersedia di www.aafp.org/afp.
38. Sturlan S, Sachet M, Baumann S, Kuznetsova I, Spittler A, Bergmann M. Influenza A Virus Induces an Immediate Cytotoxic Activity in All Major Subsets of Peripheral Blood Mononuclear Cells. *Plos One* 2009;4(1):1-12.
39. Lewis DE, Gilbert BE, Knight V. Influenza virus infection induces functional alterations in peripheral blood lymphocytes. *Abstrak. J Immunol.* 1986:137.
40. Landry ML, Cohen S, Ferguson D. Real-time PCR compared to Binax NOW and cytospin-immunofluorescence for detection of influenza in hospitalized patients. *J Clin Virol.* 2008;43:148-51
41. Ellis JS, Zambon MC. Molecular diagnosis of influenza. *Rev Med Virol.* 2002:375-89.