Vol. 18, No. 2 Maret 2012

ISSN 0854-4263

INDONESIAN JOURNAL OF

Clinical Pathology and Medical Laboratory

Majalah Patologi Klinik Indonesia dan Laboratorium Medik

IJCP & ML (Maj. Pat. Klin. Indonesia & Lab. Med.)	Vol. 18	No. 2	Hal. 77–146	Surabaya Maret 2012	ISSN 0854-4263

Diterbitkan oleh Perhimpunan Dokter Spesialis Patologi Klinik Indonesia

Published by Indonesian Association of Clinical Pathologists

Terakreditasi No: 66b/DIKTI/KEP/2011, Tanggal 9 September 2011

Vol. 18, No. 2 Maret 2012 ISSN 0854-4263

INDONESIAN JOURNAL OF

CLINICAL PATHOLOGY AND MEDICAL LABORATORY

Majalah Patologi Klinik Indonesia dan Laboratorium Medik

DAFTAR ISI

PENELITIAN

Korelasi Kadar Crp, TNF-α dan *Bone Mineral Density* dengan *Carboxyterminal Crosslinked Telopeptide Type I of Collagen* di Penderita *Artritis Reumatoid*
(*Correlation Between CRP, TNF-α and Bone Mineral Density with Carboxyterminal crosslinked Telopeptide Type I of Collagen in Rheumatoid Arthritis Patients*)
Kusworini Handono, BP Putra Suryana, Sulistyorini **77–82**

Korelasi antara Kadar Interferon-γ Plasma dengan Jumlah *Viral Load* di Penderita HIV
(*Correlation of Plasma Interferon-γ and Viral Load in HIV Patients*)
Hermi Indita, Endang Retnowati, Erwin Astha Triyono **83–86**

Keterkaitan Antigen NS1 Infeksi Virus Dengue dengan Serotipe Virus Dengue
(*NS1 Antigen Dengue Virus Infection Associated with Serotypes of Dengue Virus*)
Roudhotul Ismaillya Noor, Aryati, Puspa Wardhani **87–91**

Nilai Rujukan *Free Light Chain* Serum dengan Imunoturbidimetri
(*The Reference Value of Serum Free Light Chain with Immunoturbidimetry*)
Lidya Utami, Riadi Wirawan, Alida R Harahap, Abdul Muthalib, Harny Edward **92–96**

Acetosal, Buah Mengkudu (*Morinda Citrifolia L.*) dan Waktu Perdarahan
(*Acetosal, Noni Fruits Extract* (*Morinda citrifolia L.*) *and Bleeding Time*)
I Wayan Putu Sutirta Yasa, Ketut Widyani Astuti, I Gusti Made Aman **97–104**

Analisis Pola *Human Lekocyte Antigen* (HLA) Kelas I pada Penderita Demam Berdarah Dengue Populasi Indonesia di Jawa Timur
(*Analysis of HLA Class I on Dengue Haemorrhagic Fever Indonesian Population in East Java*)
F.M. Judajana, Paulus Budiono, Indah Nuraini **105–110**

Analisis Filogenetik Dengue di Indonnesia
(*Phylogenetic Analysis of Dengue Virus in Indonesia*)
Aryati **111–116**

Diagnostic of C-reactive Protein in Febrile Children
(Nilai Diagnostik C-Reactive Protein pada Anak Demam)
Johanis, Aryati, Dominicus Husada, Djoko Marsudi, M. Y. Probohoesodo **117–123**

Uji Diagnostik Metode Imunositokimia NS1 Virus Dengue, untuk Diagnosis Infeksi
(*Diagnostic Test Method for Immunocytochemical NS1 of Dengue Virus, for Infection Diagnosis*)
Nafiandi, Ellyza Nasrul, Rismawati Yaswir **124–128**

Ekspresi Koreseptor Human Immunodeficiency Virus CCR5 dan CXCR4 pada Subset Sel Limfosit T Serta Monosit
(*Human Immunodeficiency Virus Coreceptor CCR5 and CXCR4 Expression on Lymphocyte T Subset and Monocyte*)
Agnes Rengga Indrati, Hinta Meijerink, Herry Garna, Bachti Alisjahbana, Ida Parwati, Reinout van Crevel, Andre van der Venn **129–133**

TELAAH PUSTAKA

Sindrom Hormon Antidiuretik Berlebih
(*Syndrome of Inappropriate Antidiuretic Hormone* (*SIADH*))
Arleen N. Suryatenggara, Dalima A. W. Astrawinata **134–140**

Dicetak oleh (printed by) Airlangga University Press. (055/04.12/AUP-A65E). Kampus C Unair, Jln. Mulyorejo Surabaya 60115, Indonesia.
Telp. (031) 5992246, 5992247, Telp./Fax. (031) 5992248. E-mail: aupsby@rad.net.id; aup.unair@gmail.com
Kesalahan penulisan (isi) di luar tanggung jawab AUP

LAPORAN KASUS

Penderita Dengan Hemokromatosis Primer
(*Patient with Primary Hemochromatosis*)
Kadek Mulyantari, A.A.Wiradewi Lestari, A.A.N. Subawa, Tjokorda Gede Oka, Sudewa Djelantik..... **141–144**

INFORMASI LABORATORIUM MEDIK TERBARU **145–146**

ANALISIS POLA *HUMAN LEKOCYTE ANTIGEN* (HLA) KELAS I PADA PENDERITA DEMAM BERDARAH DENGUE POPULASI INDONESIA DI JAWA TIMUR

(Analysis of HLA Class I on Dengue Haemorrhagic Fever Indonesian Population In East Java)

F.M. Judajana[1], Paulus Budiono[1], Indah Nuraini[2]

ABSTRACT

*The incidence of Dengue Haemorrhagic Fever (DHF) is obvious rapidly increasing and it may have existed previously, and specific factors precipitating of the diseases can be identified in Indonesia population. These include environmental changes, demographic factors, host immunity, micro organism variant and drug resistance suggesting that infection will continue to emerge, probably increase and emphasizes the urgent need for effective surveillance. The Immunology approach of Dengue Haemorrhagic Fever as emerging diseases has been advanced on two major fronts. First, the elucidation of the basic mechanisms associated antigen recognition, elimination, rejection and immunological protection from recurrence. Secondly, to solve the clinical problem (diagnostic, therapeutic and prevention) the application of the knowledge of immunological memory to diseases is used as a tool. Over expressed emerging pathogens such as molecularly defined mutated antigen; this antigen as a target of specific immune reaction and has been encountered as a danger signal. The current studies have shown that few immune competent cells (activated T cells and B cells) are exposed to antigen. The immune consequence of infectious tissue induced Major Histocompatibility Complex (MHC)/Human Leukocyte Antigen (HLA) molecules expression on antigen presenting cell and have also shown, that an immunological reaction occurs in all organs in response to a number of diseases. However, most infectious diseases express MHC/HLA class II molecules, in order to recognize the new mutated antigen and also express the MHC/HLA class I molecules in order to eliminate those antigen. Progress in the genetic dissection of infectious diseases will also come from the complementary analysis of the various biological and clinical phenotypes associated with a given infectious agent, strongly suggesting that host factors play an important role in susceptibility or resistance to infection. In order to know the regulation process between different types of pathogen and the host immune system, as well as the regulation factor of the cross talk between the different components of the immune response in human as the host, it is important to get an understanding of the immune genetic system. This research work is aimed at the locating and identifying the HLA class I which encode the protein as immune-component to be involved in the pathogenesis of DHF as a viral infection base on the examination on 20 DHF patients and have already examined the HLA-A, -B as HLA class I with the DNA typing-PCR. The results analysis with Chi square with Yates's Correction and the relative risk (Wolf rule) is HLA-A*11,-A*24 and HLA-B*15,-B*18 has specific association with DHF on Indonesia population in East Java. The evidence of the influence of the immune genetics marker to the DHF is provided by the following observations: (1) the level of infection often differs greatly among infected subjects, (2) some infected subjects do not develop clinical disease, (3) the clinical manifestations of disease severity, time to onset, duration of disease etc, may differ greatly among symptomatic patients. This finding opens the path to develop effective means of immunotherapy and improved the diagnosis for lesions, in order to apply the current strategies for the developing of immunodiagnostic, immunotherapy-based treatment through an infected target cell or developed new effective vaccines.*

Key words: *HLA, dengue haemorrhagic fever, immunogenetic marker*

ABSTRAK

Angka kejadian penyakit demam berdarah dengue (DBD) di Indonesia cenderung meningkat dan bernasab dengan berbagai faktor yang khas berperan terlibat dalam proses tertentu yang menyebabkan kejadian sakit tersebut. Pengaruh berbagai faktor seperti perubahan lingkungan, faktor kajian terkait demografi, host immunity, ragam jasad renik (microorganism variant) dan resistensi obat di penyakit infeksi berperan paling menonjol dalam perjalanan penyakit DBD serta sampai saat ini pemahamannya belum tuntas. Pendekatan imunologik untuk kejadian sakit DBD bermanfaat di dua sisi. Pertama, pemahaman mekanisme dasar pengenalan terkait antigen, penghilangan/penyingkiran, penolakan dan perlindungan imun. Kedua, penerapan pemahaman imunologikal memori yang bermanfaat bagi kepentingan pembaruan diagnostik, terkait pengobatan dan pencegahannya. Molekul yang terlibat mengenal kekuatan antigen virus dengue tersebut adalah Major Histocompatibility Complex (MHC) atau Human Leukocyte Antigen (HLA) molekul yang bersandi genetik dan terletak di kromosom no 6 manusia, serta merupakan salah satu petanda imunogenetik yang akan terungkapkan di sel penunjuk antigen APC (antigen presenting cell). Ungkapan molekul HLA bersama dengan antigen di permukaan APC selanjutnya berinteraksi dengan molekul T cell receptor (TCR) dalam rangka upaya penyingkiran atau penetralan antigen tersebut. Kemajuan penelitian faktor imunogenetik penyakit DBD sebagai penyakit infeksi berpijak berdasarkan analisis berbagai unsur biologik dan clinical phenotypes

[1] Departemen Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. E-mail: fmyoeda@yahoo.com
[2] Lembaga Penyakit Tropis Universitas Airlangga

yang bernasab dengan kejadian infeksi virus. Hal tersebut menunjukan bahwa faktor genetik pejamu/hospes sangat berperan terhadap kerentanan kejadian sakit karena infeksi. Upaya penelitian ini bermaksud untuk memahami proses mengatur keimunan dari berbagai ragam perbedaan penyakit dan sistem imun hospes, misalnya 'the cross talk' berbagai komponen imun, khususnya dengan sistem imunogenetik. Fokus penelitian ini adalah untuk mengenali molekul HLA –A, -B, yang termasuk ruang lingkup gen yang mengendalikan sistem imun hospes dan mampu berungkap sebagai gen yang rentan yang bernasab bermakna dengan DBD yang terjadi di hospes. Sasaran penelitian adalah sejumlah penderita DBD di Jawa Timur dengan jumlah sampel darah penderita yang akan diteliti sebanyak 20 buah. Cara memeriksa sistem HLA-A,-B dengan uji DNA mencirikan-PCR dan hasil temuan gen tersebut akan dianalisis selanjutnya dengan metode chi-square dengan perbaikan menurut Yate. Nilai peluang seorang untuk mendapatkan penyakit DBD dinyatakan dengan menguji kebahayaan relatif dengan rumus Wolf. Hasil telitian adalah jenis HLA-A*11,-A*24 dan HLA-B*15,-B*18 yang khas dan berhubungan bermakna dengan kejadian sakit DBD di sejumlah penduduk Indonesia di Jawa Timur. Hasil pengenalian gen HLA sebagai petanda imunogenetik tersebut secara statistik bertalian dengan kejadian sakit DBD dan dapat dimanfaatkan sebagai faktor penentu yang perlu diperhitungkan dalam strategi rekayasa vaksin yang tepat guna dan tepat sasaran.

Kata kunci: HLA, demam berdarah dengue, petanda imunogenetik

PENDAHULUAN

Angka kejadian sakit demam berdarah dengue (DBD) menunjukkan peluang peningkatan angka kematian di Indonesia. Di Jawa Timur angka kejadian sakit DBD pada tahun 2006 sebesar 56,28 per 100.000 penduduk, sedangkan di Surabaya terdapat 149 penderita per 100.000 penduduk.[1]

Kejadian sakit DBD tersebut memberikan masalah kesehatan masyarakat di segala tingkatan umur, karena masih terdapat kesulitan untuk menetapkan diagnostik dini dan belum ditemukan cara mencegah yang tepat sasaran. Berbagai upaya strategi pencegahan telah dilakukan untuk mengatasinya disertai peningkatan kemampuan cara mendiagnosis dini, serta perbaikan cara mengobatinya, tetapi masalah kesehatan tersebut belum dapat diatasi secara memuaskan. Hal tersebut karena pemahaman perjalanan penyakit demam dengue belum tuntas.[1]

Interaksi berbagai faktor internal seperti: sistem genetik dan imun, serta faktor lingkungan memberikan sumbangan utama pada pemahaman perjalanan penyakit DBD melalui telitian yang telah dilakukan.

Susunan dan ciri komponen antigenik substansi tertentu penyebab kejadian infeksi (virus, bakteri, parasit, jamur) serta pola imunogenetik di hospes berperan penting terhadap proses imun yang terjadi, baik imunitas alami maupun yang adaptif, yang akan berpengaruh terhadap besar intensitas dan kekuatan respons imun yang terjadi.[2–5]

Pemahaman yang tepat dan rinci susunan substansi antigen, merupakan awal yang penting untuk pengenalian substansi biologik yang terbanyak terlibat di setiap tahap perjalanan kejadian sakit atau disebut "tingkatan cara menjadi penyakit (*stage of disease process*)".[2,3]

Gagasan utama pencegahan yang sedang diupayakan dan mendekati penyelesaiannya adalah adanya vaksin dengue tertentu berdasarkan galur virus dengue (DEN-1, DEN-2, DEN-3, DEN-4) yang menonjol terlibat dalam perjalanan penyakit DBD. Vaksin tersebut terpajan di sejumlah penderita tertentu di area yang pasti, sehingga perlu diselidiki pola imunogenetik HLA kelas I di inang. Karena vaksin tersebut berlaku sebagai faktor penentu yang kuat dan wajib diperhitungkan dalam rekayasa vaksin tertentu yang akan dibuat.[2,4,5]

Pola sistem HLA adalah salah satu petanda imunogenetik yang mengendalikan pengaturan sistem imun, yang akan memproses serta menyajikan antigen/virus dengue yang selanjutnya merupakan sistem pengendali rangkaian respons imun yang mempunyai sasaran menetralkan atau menyingkirkan penyebab infeksi yang terjadi.[4,5]

Pengenalian HLA individu yang berkebahayaan terpajan infeksi virus dengue bernilai kuat dan bermanfaat, khususnya mempunyai gambaran yang jelas dan rinci terkait penyebab perjalanan penyakit (etiopatogenesis) infeksi DBD. Hal tersebut berdasar interaksi molekul, serta pola kerentanan tubuh yang terkait aktivitas infeksi baik primer maupun ulangan, sehingga dapat dirancang gagasan penatalaksanaan tertentu berupa pencegahan yang tepat guna.[4,5]

Fokus penelitian ini untuk menyelidiki jenis molekul HLA kelas I sebagai gambaran kerentanan gen yang bernasab dengan kejadian DBD di hospes. Sasaran penelitian adalah sejumlah penderita DBD di Jawa Timur dengan 20 sampel darah penderita yang diteliti.

METODE

Penelitian ini merupakan bentuk kajian observasional eksploratif dan berada dalam lingkup penelitian genetik. Sasaran penelitian adalah penderita DBD yang memenuhi patokan penerimaan sampel dan sebagai pembanding adalah orang Indonesia yang sehat serta tidak pernah menderita DBD tersebut.

Sampel penelitian adalah *purposive sampling* (non-acak/random) di sejumlah penderita yang memenuhi patokan penerimaan sampel ditetapkan dan mereka menetap di Jawa Timur.

Patokan penerimaan sampel adalah, penderita DBD berdasar modifikasi patokan WHO.[6] Demam tinggi mendadak 2−5 hari, tanpa sebab yang jelas, ada manifestasi perdarahan termasuk hasil uji *tourniquet* positip, petechia, bercak timbul kemerahan (echimosis), perdarahan gusi, muntah darah (hematemesis)/keluar tinja hitam (melena), hepatomegali, tanda syok, nadi lemah, penyempitan tekanan nadi (*pulse pressure*), tekanan darah rendah (hipotensi), anggota gerak (akral) dingin, kulit lembab dan penderita gelisah.[6,7]

Patokan laboratorik; trombosit kurang (trombositopenia) (kurang dari 100.000/mm^3), kepekatan darah (hemokonsentrasi)/peningkatan nilai hematokrit 20% atau lebih. Diagnosis ditetapkan bila terdapat dua atau lebih gejala klinik disertai trombositopenia dan hemokonsentrasi (WHO, 2000; WHO 2003). Diagnosis keberadaan infeksi DBD ditetapkan dengan uji imunoserologis (IgM DHV, IgG DHV), penemuan virus dengue (NS1 Antigen) atau isolasi virus dengue.[8]

Sampel darah penderita sejumlah 20 buah diperoleh dari Departemen Penyakit Dalam Divisi Penyakit Tropik dan Infeksi dan Departemen Kesehatan Anak RSUD Dr. Soetomo Surabaya, serta dari tempat praktik dokter spesialis dengan pendiagnosan sudah ditetapkan DBD dan jumlah darah yang diambil dari setiap sampel antara 2,5−5 mL. Semua sampel penderita DBD selain menjalani pemeriksaan klinis dokter spesialis Anak dan Penyakit Dalam juga menjalani pemeriksaan uji penyaringan laboratorik yang diawali pengujian darah lengkap termasuk hitung trombosit, dan NS 1 Antigen. Pemeriksaan laboratorik untuk menetapkan diagnosis DBD sesuai dengan patokan untuk DBD (Hb, PCV, hitung leukosit dan trombosit).[8]

Sampel yang diambil sebagai pembanding sejumlah 34, adalah orang Indonesia yang sehat dengan jenis kelamin, umur dan suku bangsa yang sesuai. Semua pemeriksaan HLA dilakukan di Laboratorium *Human Genetic* di Lembaga Penyakit Tropis, Universitas Airlangga.

Cara memeriksa digunakan sistem HLA-A,-B dengan uji *DNA typing-PCR* dan hasilnya dianalisis dengan perangkat lunak (*software*) Invitrogen® yang terdiri dari tiga (3) tahap.

Tahap awal adalah isolasi DNA dengan *PureLink*™ *Genomic DNA Kits for purification of genomic DNA*. Sebanyak –200 μL sampel darah l dipusingkan, kemudian menyiapkan lisat dengan menggunakan *buffer digestion*, yaitu pelet dimasukkan air suling (*distilled water*) dan ditambahkan 20 μL proteinase K. Kemudian ditambahkan buffer lisis dan *ethanol* ke dalam lisat dan 20 μL RNase A ke dalam sampel, selanjutnya divortex dan diinkubasi pada suhu kamar selama dua (2) menit. Kemudian ditambahkan 200 μL *PureLink*™ *Genomic lysis/binding buffer* dan *vortex* untuk mendapatkan larutan homogen. Inkubasi pada suhu 55° C selama 10 menit, kemudian sampel dimasukkan ke dalam lajur ligat (kolom spin) *PureLink*™ dan kolom dibilas dengan 500 μL buffer pencuci 1. Kemudian dipusingkan dengan kecepatan putar 10.000 × g selama satu (1) menit diikuti dengan 500 μL buffer pencuci 2, dan selanjutnya dipusingkan dengan kecepatan maksimum selama 3 menit pada suhu kamar. Penghindaran (elusi) DNA dengan 200 μL *PureLink*™ *Genomic elution buffer*. Inkubasi dilalukan selanjutnya pada suhu ruang selama satu (1) menit, dan dipusingkan dengan kecepatan maksimum selama satu (1) menit pada suhu kamar, hasil DNA kemudian dapat disimpan di lemari pendingin/4° C.

Tahap kedua adalah pemeriksaan penentuan gen HLA dengan menyiapkan sejumlah besar sampel (*aliquot*) untuk PCR *buffer* diteteskan di sumuran (96 sumuran). Kemudian ditambahkan DNA *taq polimerase* serta sejumlah air di setiap sumuran volume DNA yang dicampurkan sekitar 75–100 nano gram/liter. Seluruh sumuran ditutup dengan nampan tertutup rapat (*sealed tray*) dan di atasnya ditempatkan balok pemadan panas (*Heat Equalizing Block*). Kemudian dimasukkan ke dalam *Perkin Elmer* dengan *SSP UniTray*®. Penetapan dengan Gel Elektroforesis menggunakan agarosa bermutu tinggi (*high quality agarose*) yang berkemampuan melarutkan 50−5000 pasang basa fragmen DNA. Invitrogen™ DNA *grade* agarose (sandi produk #75000500) yang terbaik adalah pada 2%. Kemudian gel disiapkan dengan 0,5X TBE *buffer*, setelah ditambah 2 μL dari 10 mg/mL *ethidium bromide* untuk setiap 100 mL *agarose solution* dan campur dengan baik. Dalam hal ini digunakan 0,5X TBE *buffer* dalam ruang gel sebagai *running buffer*. Isolat DNA diteteskan di sumuran di atas gel elektroforesis. Gel tersebut dapat dijalankan atau digerakkan pada 10 volt per sentimeter panjang gel.

Tahap ketiga, adalah analisis dengan perangkat lunak *Invitrogen*® menggunakan tafsiran pencatatan gel yang bertujuan untuk memeriksa lajur positip. Primer yang dipakai antara 50 pasang basa sampai dengan 100 pasang basa, kemudian lajur positip ditandai di kertas kerja. Analisis akhir untuk menentukan kekhasan alel HLA dengan menggunakan perangkat lunak yang disediakan khusus oleh *Invitrogen*®. Analisis statistik dengan metode perbaikan *chi-square* menurut Yate yang menyatakan nilai peluang seorang untuk mendapatkan penyakit DD dinyatakan dengan menguji kebahayaan relatif dengan rumus *Wolf*.[5]

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian menggunakan sebanyak dua puluh (20) sampel darah penderita yang terkena infeksi virus demam dengue (IVD) baik yang berlandaskan keluhan

dan tanda demam dengue yang "tidak terbedakan (*undifferentiated*)", maupun demam yang didiagnosis DBD yang sesuai dengan patokan WHO 1997 yang dimodifikasi.[6]

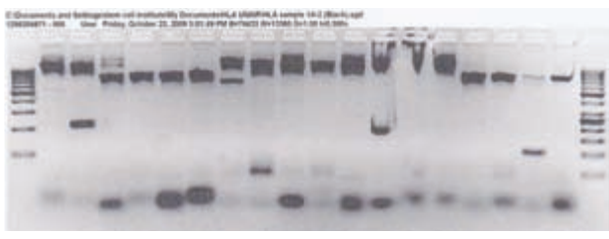
Sampel penelitian tersebut di atas bercirikan 12 laki-laki (60%) dan 8 tahun perempuan (40%) dengan rentang umur 2–45 tahun serta rincian yang digolongkan tidak terbedakan sejumlah dua (2) kasus (10%), demam dengue (DD) enam (6) kasus (30%) dan DBD derajat I sejumlah lima (5) kasus (25%), DBD derajat II sejumlah tujuh (7) kasus (35%). Setelah menjalani pengesahan diagnostik yang berlandaskan pemeriksaan NS1 antigen (ELISA) dan IgM virus DHF, maka hasil periksaan selanjutnya seperti dipaparkan di bawah ini.

Hasil Isolasi DNA

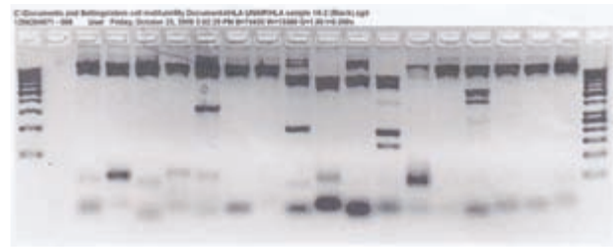
Isolasi DNA dengan *Pure Link* Genomic* DNA buatan Invitrogen® di semua sampel tersebut dengan hasil DNA murni sekitar 1,7–1,9 dan jumlah yang disarankan berkisar antara 75–125 ng/μL (20 sampel DNA). Penemuan kemurnian DNA di sampel darah pada penelitian ini untuk pemeriksaan sistem HLA diperlukan nilai kemurnian yang tinggi sebesar 1,7. Hasil kemurnian DNA isolasi yang dilakukan dan tidak diperiksa sebanyak dua (2) sampel, karena kemurnian yang rendah adalah sebesar 1,1 dan 1,2.

Hasil Menemukan HLA Dengan PCR

Dalam hasil isolat DNA ditemukan jenis alel dengan meneteskannya di nampan yang khusus buatan Initrogen® (SSP *UniTray*) yang di setiap sumurannya (96 sumuran) telah terpajan primer yang khas untuk jenis alel tertentu (primer di setiap alel HLA *sequence* berbeda). Kemudian dilakukan pengerjaan PCR dengan memakai alat buatan *Perkin Elmer*. Hasil PCR setiap sampel akan tergambar melalui tahapan pemajanan di gel elektroforesis dan gambaran yang dinilai dengan *Marker Ladder* 50 dan 100 pasangan basa (*base pairs*) pada DNA sampel penderita DBD dan populasi pembanding.



Gambar 1. Hasil elektroforesis (IA-1) pada DNA sampel penderita DBD



Gambar 2. Hasil elektroforesis (IA-2) pada DNA sampel penderita DBD

Gambar 3. Hasil gel elektroforesis (IA-3) pada DNA sampel populasi pembanding

Gambar 4. Hasil elektroforesis (IA-4) pada DNA sampel populasi pembanding

Tahap analisis hasil periksaan HLA Kelas I (HLA A, HLA B) dengan menggunakan perangkat lunak *SSP UniTray** yang berasal dari masing-masing perangkat Invitrogen® (tiap perangkat bersistem analisis yang berciri sesuai tahun pembuatan perangkat HLA Invitrogen® tersebut).

Semua sampel (penderita maupun pembanding orang sehat) yang telah dielektroforesis tersebut di atas, hasil yang terpajan pada tabel 1.

Tabel 1. Sebaran dan pertalian alel HLA-A penderita BDB

Alelle	DHF		Pembanding	
	n=20	Fa	n=34	Fa
A*11	6	0,258	23	0,361
A*24	10	0,423	16	0,238
A*26	2	0,072	8	0,117
A*33	2	0,072	1	0,014
A*68	3	0,103	3	0,044
A*02	2	0,072	6	0,088
A*01	3	0,103	4	0,058

Fa = kekerapan alel

Penafsiran sebaran berbagai gambaran alel yang didapat dari 20 sampel penelitian dan 34 pembanding, kemudian dianalisis statistik untuk menentukan kekerapan di setiap alel dengan hasil sbb: terdapat pertalian dan kekerapan alel di HLA A*24 yang tinggi dengan diikuti dengan kekerapannya di HLA A*11 yang tinggi di penderita DBD.

Berdasarkan pajanan hasil kekerapan HLA tersebut, tampak bahwa HLA A*24 dan HLA A* 11 juga cukup tinggi baik di penderita DBD maupun di orang sehat sebagai pembanding. Hal tersebut menunjukkan bahwa penyakit DBD di sejumlah penderita Indonesia merupakan penyakit yang endemis dan mereka mempunyai kerentanan genetik terkait galur virus dengue tertentu yang berkembang di Jawa Timur.

Penafsiran pajanan di tabel 1 menunjukkan HLA A*24 dengan kekerapan alel yang tinggi di sejumlah penderita DBD dibandingkan dengan yang terdapat di sejumlah orang sehat yang tidak pernah sakit DBD. Demikian pula di tabel 1 terpajan HLA A*11 dengan kekerapan alel yang cukup tinggi dibandingkan dengan populasi normal yang tidak pernah sakit DBD.

Di tabel 2 terpapar pertalian positip di HLA B*15 dengan kekerapan alel yang tinggi di sejumlah penderita demam dengue dibandingkan dengan yang terdapat di mereka yang normal dan tidak sakit DBD, serta di tabel 2 terpapar adanya pertalian positif di HLA B*18 dengan kekerapan alel yang cukup tinggi sekalipun lebih rendah daripada yang terdapat di sejumlah orang sehat yang keadaannya sama.

Tabel 2. Sebaran dan pertalian alel HLA-B penderita DBD

Alelle	DHF		Pembanding	
	n=20	Fa	n=34	Fa
B*15	9	0,398	11	0,161
B*18	5	0,213	23	0,338
B*40	2	0,062	8	0,117
B*44	2	0,062	1	0,014
B*53	3	0,093	3	0,044
B*54	2	0,062	6	0.088
B*56	3	0.093	4	0,058
B07	1	0.031	1	0,014

Fa = kekerapan alel

Hasil telitian yang serupa juga didapatkan di Cuba, tetapi menunjukkan hasil yang berbeda. Namun, penelitian yang dilakukan di Thailand menunjukkan hasil yang mirip khususnya terkait kekhasan HLA A A*24.[9–11]

Pertalian gen HLA yang ditemukan dengan kejadian sakit infeksi virus dengue merupakan gambaran pengendalian genetik tertentu dari tubuh hospes terhadap penyebab infeksi (kerentanan) dan rangkaian respons imun yang menyertai. Pemahaman pertalian HLA dengan kebahayaan terpajan penyakit kepada seseorang adalah sebagai nilai yang menunjukkan kekuatan kepekaan seseorang terhadap kejadian penyakit.[12–14]

Hal tersebut di atas menunjukkan bahwa pendekatan imunologik merupakan salah satu cara yang tepat untuk memahami proses kejadian sakit infeksi dengan penyelidikan yang mendalam terhadap respons hospes sehubungan berbagai ciri komponen biologik yang terlibat paling menonjol dalam imunopatogenesis DBD.

Penyelidikan terhadap kekuatan imun hospes khususnya yang rentan/peka berdasarkan *Immunological memory* ditinjau dari kendali imunogenetik terhadap kepekaan individu kejadian sakit infeksi yang diakibatkan oleh mikroorganisme yang pernah terpajan sebelumnya di hospes, yang berdampak menghebatnya manifestasi kejadian penyakit tersebut sebagai wabah.[12–15]

Pengenalian terhadap semua penentu yang terlibat dalam imunopatogenesis tersebut bermanfaat untuk memperbaiki cara mendiagnosis, cara mengobati dan menganalisis resistensi obat, serta modifikasi upaya pencegahan.[14–16]

Keperluan mendesak terkait hasil telitian ini diharapkan memberi manfaat untuk pengenalian individu dalam jumlah penderita di Jawa Timur yang berkebahayaan menderita infeksi DBD (predisposisi genetik) dan dapat dimanfaatkan sebagai penentu pengawas biologik yang bermanfaat dalam rekayasa vaksin yang sesuai dan tepat sasaran.

Data HLA A*24, A*11 dan HLA B*15, B*18 yang berkekerapan yang tinggi pada penelitian ini memberikan gambaran yang lebih jelas, tepat dan rinci tentang kendala genetik yang berpengaruh bagi etiopatogenesis DBD dan diharapkan bermanfaat untuk salah satu kendala yang perlu diperhatikan dalam memperbaiki penatalaksanaan penyakit DBD pada masa mendatang yang berlandaskan pola imunogenetik sejumlah penderita tersebut.

Berlandaskan penelitian ini, diharapkan bermanfaat untuk pengukuhan kendala genetik yang rentan dan diharapkan berlanjut dengan rangkaian penelitian yang analisisnya berujung bagi imunogenetik yang berasosiasi dengan infeksi virus dengue.

Kendala imunogenetik hospes perlu diperhatikan keterkaitannya dengan kendala genetik mikroorganisme penyebab yang berpengaruh, karena memberikan ragam dampak klinis yang berbeda.[12,13]

Kesulitan mendapat gambaran keterkaitan HLA dan penyakit DBD di sejumlah penderita lain di seluruh Indonesia, karena pemetaan imunogenetika di setiap suku/sejumlah penderita beragam, sehingga sulit mendapatkan kesatuan data HLA yang khas/tertentu yang peka /rentan terhadap infeksi virus dengue.

Pendayagunaan sistem imunogenetika sebagai petanda genetik yang merupakan salah satu cara untuk mendekati strategi diagnosis dini di hospes terhadap serbuan virus dengue melalui telitian jenis substansi HLA kelas 1 yang terbanyak berperan dalam perjalanan penyakit DBD.

SIMPULAN DAN SARAN

Hasil telitian adalah jenis HLA-A*11,-A*24 dan HLA-B*15,-B*18 yang khas dan berhubungan bermakna dengan kejadian sakit DBD di sejumlah penderita Indonesia di Jawa Timur. Hasil kenalian gen HLA yang bertalian dengan kejadian sakit DBD dapat dimanfaatkan sebagai faktor penentu yang kuat diperhitungkan dalam strategi rekayasa vaksin DBD untuk mendapatkan nilai ketepatgunaan yang tinggi. Penelitian ini berfokus di analisis sistem imunogenetika yang terkait dengan kejadian sakit DBD dan bermanfaat sebagai petanda genetik serta pengawas bagi biokompatibilitas vaksin yang harus dibentuk (dihasilkan) secara mandiri.

Penelitian sejenis disarankan untuk dilakukan di seluruh kawasan di Indonesia untuk mendapatkan gambaran global terkait petanda imunogenetik yang mengendalikan pola respons imun tubuh hospes yang akan memberikan kepastian penyesuaian/kerentanan vaksin yang akan dihasilkan sebagai salah satu pencegahan yang tepat sasaran.

Berdasarkan telitian yang telah banyak dilakukan, maka gagasan dasar pembuatan vaksin yang tepat guna harus berdasarkan kepada dua gagasan yang mendasar dan yang harus dipenuhi, yaitu jenis: galur virus dengue yang virulen serta dapat berciri dan berkembang di kawasan yang penyakitnya endemik serta pola sistem HLA sistem imunogenetik hospes yang khas dan terdapat di sejumlah penderita yang akan divaksinasi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Teriring ucapan terima kasih kepada sejawat Prof. Dr. Sugeng Sugijanto, dr., Sp.A(K) dan TE. Widijatmoko, dr, SpPK yang telah membantu terlaksananya penelitian ini dengan partisipasinya dalam pengumpulan sampel penelitian demam berdarah dengue.

DAFTAR PUSTAKA

1. Soegijanto S. Bahaya yang mengintai endemisitas DBD di Indonesia. Dalam: Demam Berdarah Dengue. Soegijanto S, Surabaya, Airlangga University Press, 2006; 25–44.
2. Lezama JAF, Ramos C, Zuniga J, Juarez`Palma L. HLA class I and II polymorphism in Mexican Mestizo patients with dengue fever. Acta Tropica 2009; 112: 193–197.
3. Janeway. Basic Concept in Immunology. In: Immunobiology. Seventh Edit. Edited by. K. Murphy Travers. Published by Garland science, New York USA, 2008; 38–45.
4. Judajana.F.M. Imunogenetika dan respon imun. Dalam: Gangguan system imun mukosa intestinal. Second Edit. Edited by Pitono Suparto, Subijanto M S, Suhartono TP, FM Judajana. Surabaya, Gideon Printing, 2003; 1–11.
5. Judajana.F.M. A new dimension of immunopathogenesis on emerging and reemerging infectious disease. Seminar Tropical Disease on emerging and reemerging infectious disease, Surabaya , Juli 2008; 25–29.
6. World Health Organization. Dengue Haemorrhagic Fever: Diagnosis, Treatment, Prevention and Control. Second edition., Geneva, World Health Organization, 1997.
7. World Health Organization. Guideline for treatment of dengue/ dengue haemorrhagic fever in small hospital. Regional office South East Asia, New Delhi, 1999.
8. Andajani S. Peran Protein NS1 Terhadap Gangguan Fungsi Hepar Pada Infeksi Dengue (Disertasi). Program Pasca Sarjana Unair, 2009; 61–64.
9. Siera B, Alegre R, Perez AB, Garcia G, Ramirez K. HLA A,-B and –DRB1 allele frequency in Cuban individual with antecedents of dengue disease. Human Immunology, 2007; 68: 531–540.
10. Stephens HAF, Klaytong R, Sirikong M. HLA –A and –B allele associations with secondary dengue virus infections correlate with disease severity in etnic Thais. Tissue Antigens, 2009; 60: 309–318.
11. Trachtenberg E, Vinson M, Hayes E, Hsu YM. HLA Class I (A,B) and class II (DRB1, DQA1, DQB1) alleles and haplotypes in the ethnic Han from the Southern China. Tissue Antigens, 2009; 70: 455–463.
12. Abbas A K, Lithmann A H, Pillai S. The Major Histocompatibility Complex. In: Celluler and Molecular Immunology. Sixth Edit., Philadelphia, USA, WB Saunders Elsevier Publisher, 2006; 97–112.
13. De Vries, RR, Van Rood JJ. Immunogenetic and Disease. In: The Genetic Basis of Common Disease. Edited by Richard A King. Oxford United Kingdom, Oxford University Press, 1992; 92–114.
14. Davenport MP, Hill AVS. Reverse Immunogenetics: From HLA-Disease association to vaccine candidate. Molecular Med.Today, 1996; 38–45.
15. Fauci, S.A. New and reemerging disease: the importance of Biomedical Research. Emerg of Infect Dis. July–Sep 1998; 1–6.
16. Festenstein H, Demont P. HLA and H-2. In: Basic Immunogenetics Bio-logy and Clinical Relevance. Edited by Turk. Published by Edward Arnold Ltd. London United kingdom, 1978; 30–52.