

Vol. 6, No. 3 Juli 2010

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. 16	No. 3	Hal. 105-151	Surabaya Juli 2010	ISSN 0854-4263
---	---------	-------	--------------	-----------------------	-------------------

Diterbitkan oleh Perhimpunan Dokter Spesialis Patologi Klinik Indonesia

Published by Indonesian Association of Clinical Pathologists

Terakreditasi No: 43/DIKTI/Kep/2008, Tanggal 8 Juli 2008

INDONESIAN JOURNAL OF
**CLINICAL PATHOLOGY AND
MEDICAL LABORATORY**

Majalah Patologi Klinik Indonesia dan Laboratorium Medik

**SUSUNAN PENGELOLA MAJALAH INDONESIAN JOURNAL OF
CLINICAL PATHOLOGY AND MEDICAL LABORATORY**

Pelindung (Patron)

Ketua Perhimpunan Dokter Spesialis Patologi Klinik Indonesia

Penasehat (Advisor)

Prof. Hardjoeno, dr., Sp.PK(K)
Prof. Siti Budina Kresna, dr, Sp.PK(K)
Dr. R. Darmawan Setijanto, drg, M.Kes

Penelaah Ahli/Mitra Bestari (Editorial Board)

Prof. Dr. Indro Handojo, dr, Sp.PK(K)
Prof. Dr. J B Soeparyatmo, dr, Sp.PK(K)
Prof. Riadi Wirawan, dr, Sp.PK(K)
Prof. Dr. A A G Sudewa, dr, Sp.PK(K)
Prof. Tiki Pang, PhD
Prof. Marzuki Suryaatmadja, dr, Sp.PK(K)
Prof. Dr. Rustadi Sosrosuhardjo, dr, DMM, MS, Sp.PK(K)
Prof. Rahayuningsih Dharma, dr., Sp.PK(K), DSc

Penyunting Pelaksana (Managing Editors)

Prof. Dr. Prihatini, dr, Sp.PK(K), Prof. Adi Koesoema Aman, dr, Sp.PK(K), Yuli Kumalawati, dr, DMM, Sp.PK(K), Lia Gardenia Partakusuma, dr, Sp.PK(K), MM; Dr. Ida Parwati, dr, Sp.PK(K), PhD; Dr. FM Yudayana, dr, Sp.PK(K), Prof. Dr. Krisnowati, drg, Sp.Pros, Tahono, dr, Sp.PK(K), Nurhayana Sennang Andi Nanggung, dr, M.Kes, DMM, Sp.PK, Osman Sianipar, dr, DMM, MS, Sp.PK(K), Dr. Sidarti Soehita, FHS, dr, MS, Sp.PK(K), Purwanto AP, dr, SpPK, Dr. Jusak Nugraha, dr, MS, Sp.PK(K); Endang Retnowati, dr, MS, Sp.PK(K), Dr. Aryati, dr, MS, Sp.PK(K), Puspa Wardhani, dr, Sp.PK, Bastiana, dr, Maimun Zulhaidah Arthamin, dr, M.Kes, Sp.PK, Sulisty M. Agustini, dr., Sp.PK(K), Dr. Noormartany, dr., Sp.PK(K), MSi

Pelaksana Tata Usaha

Ratna Ariantini, dr, Sp.PK, Leonita Aniwati, dr, Sp.PK(K), Yetti Hernaningsih, dr, Sp.PK :
Tab. Siklus Bank Jatim Cabang RSUD Dr. Soetomo Surabaya; No AC: 0323551651,
Tabungan Mandiri KCP SBY PDAM; No. AC: 142-00-0743897-0
Email:majalah.ijcp@yahoo.com (PDSPATKLIN Cabang Surabaya),
Bendahara PDSPATKLIN Pusat, RS PERSAHABATAN, Jl. Persahabatan Raya no 1, Jakarta Timur 13230,
Tlp. 62-021-4891708, Fax. 62-021-47869943
Email: pds_patklin@yahoo.com

Alamat Redaksi (Editorial Address)

Departemen/Laboratorium Patologi Klinik RSUD Dr. Soetomo Gedung Diagnostik Terpadu Lantai 4 RSUD Dr. Soetomo
Jl. Prof. Dr. Moestopo 6-8 Surabaya Tlp/Fax. (031) 5042113, Fax (031) 5042113, Email: majalah.ijcp@yahoo.com

INDONESIAN JOURNAL OF
**CLINICAL PATHOLOGY AND
 MEDICAL LABORATORY**

Majalah Patologi Klinik Indonesia dan Laboratorium Medik

DAFTAR ISI

PENELITIAN

- Hiperuricemia sebagai Faktor Ramalan Perjalanan Penyakit (Prognosis) Gejala Klinik Strok Infark
(Hyperuricemia is Prognostic Factor for Clinical Outcome in Infarction stroke)
Fenty, Harjo Mulyono, Siti Muchayat **105-109**
- Peran Antigen NS1 Dengue terhadap Penghitungan Trombosit dan Penampakan (Manifestasi) Klinis
 Penjangkitan/penularan (Infeksi) Virus Dengue
*(The Role of NS-1 Dengue Antigen To Thrombolytic Count and Clinical Manifestation of Dengue Viral
 Infection)*
J Nugraha, T.E Widijatmoko **110-117**
- Analisis Bahan Baku Air Minum dan Produk Olahannya Serta Eliminasi terhadap Pencemaran
 Hormon Steroid dan Logam Berat
*(The Analysis of Crude drinking water and It's Product that contaminated with steroid hormone, alloy
 and it's elimination)*
L. Mahaputra, SI Zadjuli, M.Ansori, Prihatini, Sugianto, Ismudiono, H Callo..... **118-127**
- Stres Oksidatif (F2-Isoprostan, Superoksida Dismutase dan Myeloperoksidase) dan Disfungsi Endotel
 (Asimetrik Dimetilarginin) di Kegemukan (Obesitas)
*(Oxidative Stress (F2-Isoprostane, Superoxide Dismutase and Myeloperoksidase) and Endothelial
 Dysfunction (Asymmetric Dimethylarginine) in Obese)*
Joko Widodo, Burhanuddin Bahar, Mansyur Arif **128-132**
- Kadar Penghambat Penguraian Fibrin oleh Trombin yang Tergiatkan (Thrombin Activatable Fibrinolysis
 Inhibitor) di Pasien Kegemukan dengan dan tanpa Diabetes Mellitus
*(Thrombin Activatable Fibrinolysis Inhibitor Level in Obese Subjects with and without Diabetes
 Mellitus)*
Mansyur Arif, Ichwan Meinardi, Winni Agustiani..... **133-135**
- Penggunaan Antibiotika bagi Penderita Balita Pneumonia
(Antibiotic Using in Pneumonia Children)
DAR Rasmika Dewi dan Dewa Ayu Swastini **136-139**
- TELAAH PUSTAKA**
- Epidemiologi dan Diagnosis Kedokteran Laboratorik Infeksi Virus H1N1
(The Epidemiologic and Medical Laboratoric Diagnosis of Viral Infection H1N1)
J Sembiring, O Sianipar **140-148**
- LAPORAN KASUS**
- Idiopathic Thrombocytopenic Purpura
Alvina, Diana Aulia..... **149-151**

INFO LABORATORIUM MEDIK TERBARU

PERAN ANTIGEN NS1 DENGUE TERHADAP PENGHITUNGAN TROMBOSIT DAN PENAMPAKAN (MANIFESTASI) KLINIS PENJANGKITAN/PENULARAN (INFEKSI) VIRUS DENGUE

(The Role of NS-1 Dengue Antigen To Thrombolytic Count and Clinical Manifestation of Dengue Viral Infection)

J Nugraha, T.E Widijatmoko

ABSTRACT

Dengue virus infection has become the major health problem in Indonesia. Dengue haemorrhagic fever is a part of dengue virus infection. 95% of this disease commonly affects children less than 15 years. However, in the last five years the incidence of DHF has also increased in adults. In 2008, the case fatality rate of DHF was 0.99% in East Java and 0.47% in Surabaya. The diagnosis of DHF is based on the 1997 WHO criteria. Thrombocytopenia is a haematological abnormality occurring in DHF. There is a hypothesis about the role of non-structural 1 antigen (NS1 antigen) during initial virus replication leading to immunological reaction manifestation in thrombocytopenia. To analyze the role of NS1 antigen dengue to platelet count and clinical manifestations to know the degree of dengue virus infection. This study used α cross-sectional design. The samples are comprised of 52 patients with dengue fever and dengue haemorrhagic fever grade I until III hospitalized at Tropical Disease Ward, Dr. Soetomo Hospital, and Surabaya. Data were analyzed using Mann-Whitney test, t-two sample test ($p = 0.05$). The result of this study using Mann-Whitney test show no difference between NS1 antigen dengue with the clinical manifestations in dengue virus infection ($p = 0.882$). Analysis using t-two sample test showed a significant difference between NS1 antigen dengue positive and NS1 antigen dengue negative with a change in platelet count ($p = 0.006$). Although, the test showed no significant difference between NS1 antigen dengue and the platelet count in dengue virus infection ($p = 0.062$). There were found no significant association between NS1 dengue antigen with platelet count and clinical manifestations in dengue virus infection.

Key words: NS1 antigen dengue, platelet count, clinical manifestations, dengue virus infection

PENDAHULUAN

Penjangkitan/penularan (Infeksi) virus dengue merupakan salah satu masalah kesehatan yang terjadi di Indonesia. Demam berdarah dengue (DBD) termasuk lingkup infeksi virus dengue. Kejadian luar biasa penyakit ini diperkirakan berulang setiap lima tahun dengan angka kematian tertinggi pada tahun 1968 dan angka kejadian penyakit DBD tertinggi pada tahun 1988. Dahulu IVD banyak menyerang anak-anak yaitu 95% kasus yang dilaporkan berumur kurang dari limabelas tahun.

Dalam lima tahun terakhir serangan DBD cenderung meningkat di golongan dewasa. Di Jawa Timur antara tahun 1996–2000 IVD menunjukkan peningkatan kasus dari tahun ke tahun. Data kasus DBD tahun 2000, menunjukkan kejadian insiden tertinggi di Surabaya sebesar 58,89%.

Data kasus DBD di Dinkes Tk. I Jawa Timur, menunjukkan angka kejadian di Jawa Timur tahun 2008 sebanyak 16.589 orang di antaranya 165 orang meninggal, sedangkan di Surabaya sebanyak 2.145 orang dan 10 orang di antaranya meninggal. Data kejadian (insiden) di Jatim adalah sebesar

44,68 per 100.000 penduduk dengan rerata kasus kematian/CFR (*case fatality rate*) 0,99%; dan di Surabaya 75,50 per 100.000 penduduk dengan CFR 0,47%.

Gejala DBD beragam (-variasi), sehingga sering kali sulit didiagnosis terutama pada masa awal demam hari ketiga sampai keempat. Bila ditinjau dari runtunan perjalanan penyakit (*the sequences of the disease process*), yaitu proses mengembangnya penyakit dibagi menjadi tiga tahapan (*stage*), maka di tahap awal (*initial stage*) sangat diperlukan cara mendiagnosis yang handal.

Dengan demikian proses penyakit tidak berkembang menjadi tahap giat (*active stage*) bahkan tahap pamungkas (*terminal stage*). Berbagai upaya pendiagnosan sering kali dilakukan untuk dapat mendiagnosis infeksi virus dengue lebih dini dan mencegah terjadinya penyulit (komplikasi) atau kematian akibat infeksi virus dengue ini. Antara lain dalam hal ini dilakukan pemeriksaan serologik seperti IgG dan IgM antidengue dan akhir-akhir ini penentuan antigen dengan PCR atau pemeriksaan antigen NS1 dengue. Diharapkan penentuan antigen

NS1 dengue dapat menemukan deteksi infeksi virus dengue dari segi penyebabnya bukan dari akibatnya. Dengan demikian diagnosis DBD dapat dilakukan pada tahap awal/*initial stage* (masa timbul gejala/*incubation period*, sebelum timbul gejala/*sub clinical*), atau sedikit-sedikitnya (minimal) pada awal tahapan giat/*active stage* (kemunculan penyakit/*emergence*). Pemeriksaan antigen NS1 dengue dapat dilakukan dengan metode carik celup/ICT (*Immuno-Chromatography Test*) atau metode ELISA.

Peran antigen NS1 dengue pada awal pengulangan membangun (replikasi) virus dan penyebab reaksi pengebalan (imunologis) yang tidak diharapkan menjadi hipotesis jangkitan/tularan virus dengue. *Viroj Wiwanitkit* pada tahun 2004 menganalisis filogenetik dan menyimpulkan bahwa antigen NS1 dengue menimbulkan antibodi terhadap protein manusia/*human protein* (fibrinogen dan *integrin/adhesin* di trombosit). Hal ini menjelaskan terjadinya kurang trombosit (trombositopenia) di penderita infeksi virus dengue.

Diagnosis infeksi virus dengue sampai saat ini masih merupakan masalah terutama pada masa awal infeksi (*initial stage*). Diagnosis laboratorik jangkitan/tularan virus dengue dapat dilakukan melalui pengasingan (isolasi) virus, penemuan (deteksi) antigen atau uji serologis. Uji serologis didasarkan atas timbulnya antibodi di penderita setelah jangkitan/tularan. Pada masa awal infeksi, antibodi IgG maupun IgM antidengue kadang masih belum timbul, sedangkan gejala klinik maupun penurunan trombosit juga masih belum jelas. Penentuan antigen NS1 dengue diharapkan dapat menemukan lebih dini adanya jangkitan/tularan virus dengue ini. Lengkung baku (Kurva standar) yang menggambarkan kadar antigen NS1 dengue (*absorbans* <1,5) tampak segaris (*linier*) dengan kepekatan (konsentrasi) virus (<100 ng/ml).¹

Kadar antigen NS1 dengue di serum berhubungan dengan penggiatan pelengkap (aktivasi komplemen), tingkat keparahan IVD, dan diketahui ada kenasaban (korelasi) antigen NS1 dengan tingkat viremia.^{2,3}

Berdasarkan uraian di atas, para peneliti mengkaji penelitian demam berdarah dengue untuk menjelaskan korelasi antara antigen NS1 dengue dan jumlah trombosit dengan hipotesis penelitian sebagai berikut, bahwa ada:

1. hubungan antigen NS1 dengue dengan penampakan (manifestasi) klinis IVD.
2. perbedaan perubahan jumlah trombosit antara IVD dan antigen NS1 dengue positif serta IVD dan antigen NS1 dengue negatif.
3. hubungan antigen NS1 dengue dengan jumlah trombosit IVD.

METODE

Jenis penelitian adalah amatan (observasional) analitik dengan rancangan potong lintang (*cross-sectional*). Populasi penelitian adalah penderita IVD meliputi demam dengue (DD), demam berdarah dengue (DBD), sindroma renjatan (syok) dengue (SSD). Patokan diagnosis menurut WHO (1997). Populasi dalam penelitian ini adalah penderita IVD dewasa yang memenuhi patokan (kriteria) penerimaan sampel dan dirawat di ruangan penyakit jangkitan/tularan tropik RSUD Dr. Soetomo.

Sampel penelitian adalah plasma EDTA dan serum penderita IVD yang dirawat di ruangan penyakit jangkitan/tularan (infeksi) tropik RSUD Dr. Soetomo. Serum untuk pemeriksaan antigen NS1 dengue menggunakan pereaksi (reagen) *Platelia™ Dengue NS1 AG* dari Bio-Rad. Plasma EDTA untuk pemeriksaan trombosit dengan penghitung sel (*cell counter*).

Besar sampel sebanyak 52 buah. Penelitian dimulai pada bulan Juni 2009 sampai dengan bulan Desember 2009. Penelitian berdasarkan data yang ada (antigen NS1 dengue, jumlah trombosit, penurunan jumlah trombosit, dan penampakan/manifestasi klinis). kemudian diuji statistik cara *Mann-Whitney* untuk mengetahui hubungan keberadaan antigen NS1 dengue dengan penampakan (manifestasi) klinis IVD. Uji t-2 sampel bebas untuk mengetahui hubungan keberadaan antigen NS1 dengue dengan rerata perubahan jumlah trombosit dan hubungan keberadaan antigen NS1 dengue dengan jumlah trombosit IVD. Penelitian ini merupakan penelitian analitik observasional dengan rancang bangun *cross sectional* untuk mengetahui peran pemeriksaan antigen NS1 dengue terhadap jumlah trombosit dan manifestasi klinis pada penderita IVD. Subjek penelitian adalah penderita DBD dewasa meliputi demam dengue (DD), demam berdarah dengue (DBD), sindrom syok dengue yang telah memenuhi kriteria penerimaan sampel. Waktu pengambilan sampel dimulai pada bulan Juni 2009 sampai dengan November 2009, yang dilakukan di ruangan penyakit tropik infeksi bagian ilmu penyakit dalam RSUD Dr. Soetomo, selanjutnya dilakukan pemeriksaan darah lengkap di laboratorium IRD dan di laboratorium patologi klinik, pengambilan serum di laboratorium patologi klinik RSUD Dr. Soetomo.

Hari demam berdasarkan waktu pengambilan sampel darah, beragam (- variasi) antara demam hari ke-2 sampai dengan hari ke-6, rerata hari demam adalah 4,15. Demam hari ke-2 (11,54%), hari ke-3 (21,15%), hari ke-4 (26,92%), hari ke-5 (21,15%) dan hari ke-6 (19,23%).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ciri sasaran (Karakteristik subjek) penelitian

Berdasarkan hasil telitian yang telah dilakukan, didapatkan sebanyak 52 penderita terdiri dari 30 laki-laki (57,69%) dan 22 wanita (42,31%) dengan rentang usia 14 tahun hingga 64 tahun.

Penampakan (Manifestasi) klinis didapatkan sebagai berikut: DBD I (46,15%), DBD II (34,62%), DD (17,31%) dan DBD III (1,92%). Ciri penderita berdasarkan jenis kelamin dan penampakan (manifestasi) klinis dapat dilihat di tabel.

Hasil pemeriksaan antigen NS1 dengue

Pemeriksaan sampel NS1 menggunakan uji Elisa disertai pemeriksaan pembanding (kontrol) negatif, dua penera (kalibrator), dan pembanding positif. Penera, pembanding positif, dan negatif sudah terdapat perangkat pereaksi (*reagen kit*). Pembacaan hasil dilakukan dengan pembaca Elisa (*Elisa reader*) di λ 450 nm, sehingga didapatkan hasil berupa nilai serapan masuk (absorban). Rerata serapan masuk dua penera adalah 0,751 ($> 0,200$), selanjutnya dianggap sebagai nilai ambang atas rujukan. Serapan masuk pembanding (absorban kontrol) negatif dibagi nilai ambang atas rujukan adalah 0,18 ($< 0,40$) merupakan angka banding pembanding (rasio kontrol) negatif. Serapan masuk pembanding positif dibagi nilai ambang atas rujukan adalah 1,788 ($> 1,50$) merupakan nilai angka banding pembanding positif, dilanjutkan dengan menghitung angka banding (rasio) sampel.

Angka banding NS1 tersebut kemudian digolongkan (-kategorikan) menjadi negatif bila rasionya $< 0,5$, *equivocal* bila rasionya $\geq 0,5$ dan < 1 ,

dan positif bila angka bandingnya ≥ 1 . Pemeriksaan antigen NS1 dari 52 sampel penderita IVD terdapat 28 (53,85%) penderita dengan hasil NS1 positif; 1 (1,92%) penderita dengan ketaksaan (*equivocal*); dan 23 (44,23%) penderita dengan hasil NS1 negatif. Pembahasan selanjutnya hasil periksaan NS1 yang taksa (*equivocal*) dimasukkan dalam kelompok negatif. Angka banding (Rasio) NS1 di penderita IVD diringkas dalam tabel 2.

Analisis hubungan antigen NS1 dengue dengan manifestasi klinis infeksi virus dengue

Pemeriksaan sampel penderita IVD didapatkan hasil rasio NS1 positif 28 orang (53,85%) dan rasio NS1 negatif 24 orang (46,15%) dengan penampakan (manifestasi) klinis DD, DBD I, dan DBD II. Bila diringkas rerata angka banding NS1 dengan manifestasi klinis dapat dilihat di tabel 3.

Hasil periksaan antigen NS1 dengue positif dan negatif kemudian dilihat manifestasi klinisnya, demam dengue atau DBD derajat I, II, atau III. Antigen NS1 dengue positif paling banyak di penderita DBD derajat I (28,85%), sedangkan NS1 negatif paling banyak di DBD derajat II (19,23%). NS1 positif dengan manifestasi klinis DBD (derajat I–III) sebanyak 24 dari 28 sampel (85,71%). Antigen NS1 dengue negatif dengan penampakan klinis DBD (derajat I–III) sebanyak 19 dari 24 sampel (79,16%).

Hasil uji statistic *Mann-Whitney* didapatkan harga $p > 0,005$ yang menunjukkan tidak ada perbedaan keberadaan antigen NS1 dengue dengan manifestasi klinis IVD.

Tabel 1. Ciri (Karakteristik) penderita menurut jenis kelamin dan manifestasi klinis

Jenis kelamin	Penampakan (manifestasi) klinis				Jumlah
	DD	DBD I	DBD II	DBD III	
Laki-laki	5 (9,62%)	15 (28,85%)	9 (17,31%)	1 (1,92%)	30 (57,69%)
Perempuan	4 (7,69%)	9 (17,31%)	9 (17,31%)	0 (0,00%)	22 (42,31%)
Jumlah	9 (17,31%)	24 (46,15%)	18 (34,62%)	1 (1,92%)	52 (100,00%)

Tabel 2. Tabel rerata angka banding (rasio) NS1 penderita IVD

Hasil periksaan NS1	N	Rentang Angka banding (Rasio)	Rerata Angka banding (Rasio) \pm Simpang Baku (SD)
Negatif (angka banding/rasio $< 0,5$)	23 (44,23%)	0,168 – 0,337	0,243 \pm 0,098
Ketaksaan (<i>Equivocal</i>) ($0,5 \leq$ angka banding/rasio < 1)	1 (1,92%)	0,659	-
Positif (angka banding/rasio ≥ 1)	28 (53,85%)	2,169 – 3,953	3,707 \pm 0,335
Jumlah	52 (100,00%)	0,168 – 3,953	2,108 \pm 1,762

Tabel 3. Hubungan rerata angka banding antigen NS1 dengue dengan manifestasi klinis IVD

Penampakan (manifestasi) Klinis	Rerata angka banding (rasio) NS1 positif ± SD	Rerata angka banding (rasio) NS1 negatif ± SD
DD	3,767 ± 0,181	0,296 ± 0,205
DBD derajat I	3,650 ± 0,437	0,231 ± 0,046
DBD derajat II	3,797 ± 0,127	0,228 ± 0,045

Tabel 4. Hubungan antigen NS1 dengue dengan manifestasi klinis IVD

Hasil pemeriksaan NS1	Penampakan (manifestasi) Klinis								Jumlah	
	DD		DBD derajat I		DBD derajat II		DBD derajat III			
	n	%	n	%	n	%	n	%	N	%
Negatif	5	9,62	9	17,31	10	19,23	0	0,00	24	46,15
Positif	4	7,69	15	28,85	8	15,38	1	1,92	28	53,85
Jumlah	9	17,31	24	46,15	18	34,62	1	1,92	52	100,00

Uji statistic Mann-Whitney p = 0,882

Hasil pemeriksaan jumlah trombosit dan perubahannya

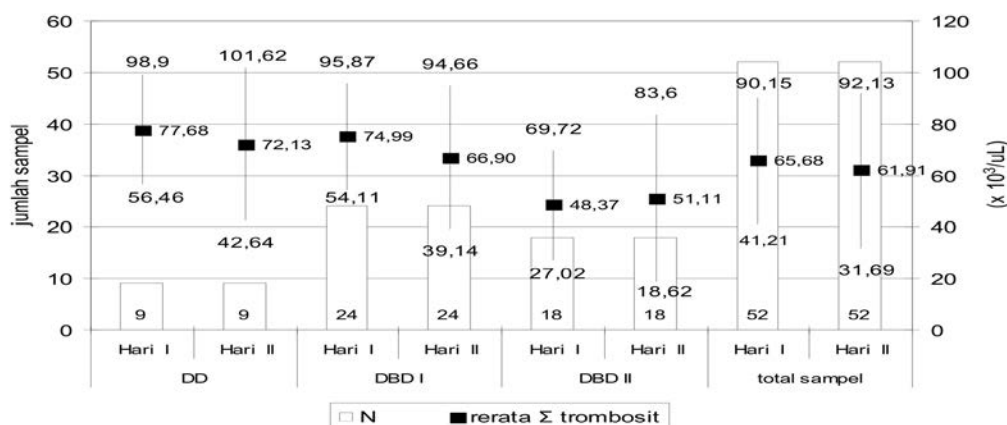
Pemeriksaan jumlah trombosit dihitung dengan cara langsung menggunakan penghitung sel darah (*blood cell counter*). Pemeriksaan pertama dilakukan di laboratorium IRD selanjutnya di laboratorium Patologi Klinik dengan alat *Cell Dyne 3200* pada jam kerja. Pada penelitian ini jumlah trombosit dihitung pada hari pertama dan hari kedua MRS untuk mengetahui perubahan jumlah trombosit. Jumlah trombosit hari pertama MRS berkisar antara $20,00 \times 10^3/\mu\text{L}$ hingga $99,00 \times 10^3/\mu\text{L}$ dengan rerata $65,68 \times 10^3/\mu\text{L}$ dan SD $24,47 \times 10^3/\mu\text{L}$. Jumlah trombosit hari kedua MRS berkisar antara $17,10 \times 10^3/\mu\text{L}$ hingga $132,00 \times 10^3/\mu\text{L}$ dengan rerata $61,91 \times 10^3/\mu\text{L}$ dan SD $30,22 \times 10^3/\mu\text{L}$. Perubahan jumlah trombosit adalah hasil pengurangan jumlah trombosit hari kedua dan jumlah trombosit hari pertama, rerata perubahan adalah $-3,7 \times 10^3/\mu\text{L}$ dan SD $30,44 \times 10^3/\mu\text{L}$. Hasil pemeriksaan jumlah

trombosit dan perubahan jumlah trombosit di penderita IVD dapat dilihat pada gambar 1.

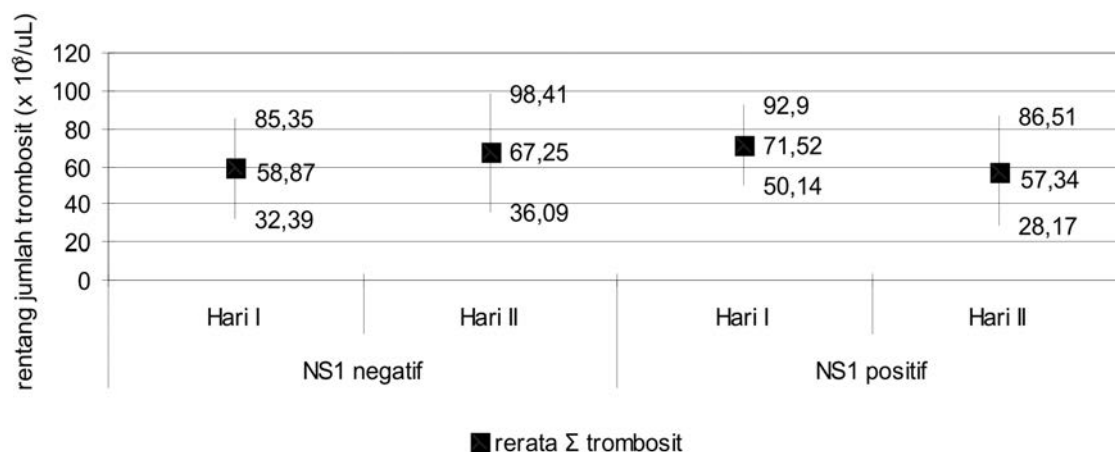
Analisis hubungan antigen NS1 dengue dengan perubahan jumlah trombosit IVD.

Penelitian NS1 dilakukan dengan serum yang diambil pada hari pertama MRS, sedangkan pemeriksaan jumlah trombosit dilakukan pada hari pertama dan kedua untuk mengetahui penurunan jumlah trombosit selang satu hari kemudian. Bila rerata jumlah trombosit dikelompokkan menjadi dua kelompok yakni rerata jumlah trombosit dengan NS1 positif dan rerata jumlah trombosit dengan NS1 negatif, maka akan tampak gambar 2.

Di gambar 2 dapat dilihat bahwa penderita DBD dengan NS1 negatif (angka banding/rasio $<0,5$) mempunyai rerata trombosit hari I sebesar $58,87 \pm 26,48$ dan rerata trombosit hari II sebesar $67,25 \pm 31,16$; sedangkan penderita DBD dengan NS1 positif (rasio ≥ 1) mempunyai rerata trombosit



Gambar 1. Hubungan antara rerata jumlah trombosit dan derajat manifestasi klinis pada IVD



Gambar 2. Rerata jumlah trombosit NS1 negatif atau positif

hari I sebesar $71,52 \pm 21,38$ dan rerata trombosit hari II sebesar $57,34 \pm 29,17$. Analisis statistik t-2 sampel bebas menunjukkan ada perbedaan rerata penurunan jumlah trombosit antara IVD dengan antigen NS1 dengue positif dan IVD dengan antigen NS1 dengue negatif.

Analisis hubungan antigen NS1 dengue dengan jumlah trombosit IVD

Pemeriksaan 52 sampel serum penderita IVD menghasilkan data antigen NS1 dengue, jumlah trombosit hari pertama dan perubahan jumlah trombosit hari kedua. Analisis statistik uji t-2 sampel bebas dilakukan untuk mengetahui hubungan keberadaan antigen NS1 dengue dengan jumlah trombosit di penderita IVD. Hasil analisis statistik menunjukkan keberadaan antigen NS1 dengue tidak berhubungan dengan jumlah trombosit IVD ($p = 0,062$), juga tidak ada kenasaban (korelasi) dengan perubahan jumlah trombosit pada hari kedua MRS ($p = 0,425$).

Antigen NS1 dengue adalah glikoprotein 46–50 kDa dan merupakan satu dari tujuh protein NS yang dihasilkan selama pengulangan bentuk (replikasi) virus, ditemukan dalam peredaran (sirkulasi) serum penderita selama tahap mendadak (fase akut). Peran antigen NS1 dengue sebagai penyebab reaksi pengebalan (imunologis) yang tidak diharapkan menjadi hipotesis terjadinya DBD. Antigen NS1 dengue menimbulkan antibodi terhadap protein manusia/*human protein* (fibrinogen dan *integrin/adhesin* di trombosit), hal ini diduga menimbulkan penurunan jumlah trombosit.⁴

Pemeriksaan antigen NS1 dengue pada penelitian ini menggunakan penangkap *ELISA* antigen NS1 (*NS1 antigen-capture ELISA*) berdasarkan asas apitan satu langkah (prinsip *one-step sandwich*). Sampel yang

digunakan pada pemeriksaan antigen NS1 dengue adalah serum, sedangkan pemeriksaan jumlah trombosit dilakukan dengan cara langsung (direk) menggunakan alat hitung sel elektronik/swakerja (otomatis). Pada penelitian ini digunakan alat hitung sel elektronik *Beckman* di IRD dan *Cell Dyne 3200* di laboratorium Patologi Klinik.

Hasil telitian yang tampak baik, tidak bernilai yang berarti bila kemampuan dapat dipercaya (reliabilitas) dan keberkaitannya (relevansinya) tidak memadai. Berpijak dengan landasan tersebut, sebelum membahas hasil penelitian ini akan dibahas lebih dahulu kesahihan dan keberkaitan sampel dan metode yang digunakan untuk mencapai tujuan penelitian.

Kesahihan (reliabilitas) sampel yang diuji

Pemeriksaan NS1 dapat menggunakan sampel berupa serum, plasma (EDTA, sitrat, heparin). Sampel lipemik (mengandung ± 36 g/L trigliserida) atau ikterik (mengandung ± 100 mg/L bilirubin yang tidak akan memengaruhi hasil pemeriksaan). Bila sampel hemolisis (mengandung ± 10 mg/L hemoglobin) atau terdapat albumin ± 90 g/L akan berpeluang (-potensi) meningkatkan rasio sampel menjadi negatif.⁵

Pada penelitian ini digunakan sampel serum penderita yang diduga demam dengue atau DBD. Sampel darah yang telah diambil, ditunggu sekitar 30 menit agar terbentuk bekuan lengkap kemudian dipusingkan (-sentrifus). Serum dimasukkan ke dalam lemari es (suhu -20° C). Peneliti telah meneliti sebelumnya nilai diagnostik antigen NS1 dengue, yaitu bahwa penyimpanan sampel serum yang mantap (stabil) kurang lebih selama 6 bulan pada suhu -20° C. Berdasarkan hal tersebut di atas, maka

stabilitas sampel yang diuji pada penelitian ini tidak perlu diragukan.

Keterkaitan (Relevansi) antigen NS1 dengue dalam penelitian

Antigen NS1 dengue adalah satu dari tujuh protein tersusun (nonstruktural) yang dihasilkan selama proses membentuk ulang (replikasi) virus dengue. Antigen NS1 dengue dirembikkan (-sekresikan) melalui jalan lintas rembihan sel (*cellular secretory pathway*) ke permukaan sel.^{6,7} Antigen NS1 dengue juga ditemukan dalam peredaran (sirkulasi) serum pasien selama tahap mendadak (fase akut).⁵

Kadar antigen NS1 dengue di serum berhubungan dengan penggiatan pelengkap (aktivasi komplemen), tingkat keparahan IVD dan mungkin menggambarkan viremia.^{2,3,8}

HASIL TELITIAN

Pada penelitian ini didapatkan 9 penderita DD dan 43 penderita DBD. Penderita diambil sampel darahnya saat demam hari ke-2 hingga hari ke-6, kebanyakan (26,92%) pada hari ke-4. Hal ini dapat dimaklumi untuk penyakit demam, karena pada hari pertama demam penderita mengobati sendiri, ke puskesmas atau ke dokter pribadi terlebih dahulu baru ke rumah sakit. Demam dengue sebetulnya dapat diobati tanpa perawatan di rumah sakit, tetapi pada hari pertama hingga keempat demam sulit dibedakan antara DD dan DBD sebelum muncul gejala hipovolemia dan trombositopeni.⁹

Ciri sasaran (Karakteristik subjek) penelitian

Pada penelitian ini rasio penderita laki-laki dan perempuan adalah 1,36:1. Penderita laki-laki lebih menonjol (dominan), pada manifestasi klinis DD (9,62%), DBD I (28,85%), DBD II (17,31%) dan satu penderita DBD III (1,92%) juga berjenis kelamin laki-laki.

Penelitian Soewandojo *et al.*⁹ di Ruang Penyakit Tropik Laki dan Perempuan RSUD Dr. Soetomo menunjukkan angka banding (rasio) penderita laki dan perempuan 1,06:1. Soemarmo (1983) mengungkapkan bahwa pada umumnya seorang anak laki-laki lebih rentan terhadap jangkitan/tularan (infeksi) daripada anak perempuan. Hal ini disebabkan karena hasil (produksi) imunoglobulin dan antibodi dikelola secara genetik dan hormonal, serta perempuan lebih berhasilguna (efisien) dalam menghasilkan (-mproduksi) imunoglobulin dibandingkan laki-laki.

Pemeriksaan antigen NS1 dengue

Pada penelitian ini didapatkan temuan (deteksi) antigen NS1 positif 53,85%, antigen NS1 negatif 44,23% dan 1,92% ketaksaan (*equivocal*) yang pada penghitungan statistik dimasukkan dalam hasil negatif.

Kepekaan menemukan (sensitivitas deteksi) NS1 pada penelitian ini rendah, karena sebagian besar sampel diambil di penderita yang demam pada hari keempat (26,92%), dan hari kelima (21,15%). Penelitian dengan pereaksi (reagen) *Platelia (Bio Rad)* oleh *Philippe Dussart et al.*¹⁰ menyebutkan kepekaan (sensitivitas) pemeriksaan NS1 baik (> 85%) pada tiga (3) hari pertama demam, selanjutnya menurun, pada hari keempat sensitivitasnya 76%, hari kelima demam sensitivitas 42,1%. *Alcon et al.*¹ melaporkan bahwa antigen NS1 dengue ditemukan dalam peredaran darah sejak hari pertama demam hingga hari kesembilan. Deteksi antigen NS1 akan lebih peka (sensitif) bila dilakukan pada demam hari pertama sampai dengan hari ketiga. Pada hari keempat antibodi antiNS1 sudah terbentuk, dan kemungkinan sebagian telah terjadi ikatan antara antigen NS1 dengan antibodi antiNS1. Hal tersebut berakibat hasil pemeriksaan antigen NS1 menjadi negatif.

Analisis hubungan antigen NS1 dengue dengan penampakan (manifestasi) klinis IVD

Hasil pemeriksaan antigen NS1 positif penderita DBD dengan manifestasi klinis derajat I–III sebesar 85,71% lebih besar daripada antigen NS1 negatif penderita DBD dengan manifestasi derajat I–III yakni sebesar 79,16%. Statistik menunjukkan tidak ada hubungan antara antigen NS1 dengue dan manifestasi klinis IVD. Hal ini bertentangan dengan penelitian *Chuansumrit et al.* (2008)³ yang menyatakan antigen NS1 bernasab (-korelasi) dengan beratnya penyakit. *Vu Ty Hang et al.* (2009)⁸ menyatakan bahwa tingginya kadar NS1 dapat menggiatkan (-aktifkan) pelengkap (komplemen) dan atau secara langsung berikatan dengan sel endotel, membentuk penyulit (kompleks) imun yang menyebabkan kerusakan endotel dan kebocoran pembuluh darah halus (kapiler).

Jumlah trombosit dan perubahan jumlah trombosit

Hasil pemeriksaan 52 sampel menunjukkan jumlah trombosit hari kedua tampak menurun dibandingkan dengan pada hari pertama MRS dengan rerata $3,77 \pm 30,44 \times 10^3/\mu\text{L}$. Nasronudin (2009)¹¹ menyatakan bahwa penurunan hasil (produksi) trombosit pada tahap (fase) awal penyakit (hari

sakit ke-1 sampai dengan ke-4) merupakan penyebab berkurangnya trombosit (trombositopenia).¹¹ Pada saat itu sumsum tulang menunjukkan penurunan sel (hiposelular) ringan dan megakariosit meningkat dalam berbagai bentuk tahap pematangan (fase maturasi). Tampaknya virus secara langsung menyerang sel mieloid dan megakariosit. Pada hari ke-5 sampai dengan ke-8, berkurangnya trombosit (trombositopenia) terjadi terutama disebabkan oleh penghancuran trombosit dalam peredaran (sirkulasi). Penyulit kekebalan (Kompleks imun) yang melekat di permukaan trombosit mempermudah penghancuran trombosit oleh sistem retikuloendotelial di dalam hati dan limpa. Hal tersebut mengakibatkan mengurangi trombosit di tahap renjatan (fase syok). Tetapi penghancuran trombosit ini dapat pula disebabkan oleh kerusakan endotel, reaksi oleh kompleks imun, antibodi trombosit yang khas (spesifik), atau DIC yang disebabkan oleh renjatan (syok) yang lama. Pada tahap (fase) ini dijumpai peningkatan jumlah megakariosit di sumsum tulang.¹²

Analisis hubungan antigen NS1 dengue dengan perubahan jumlah trombosit IVD

Rerata jumlah trombosit dikelompokkan berdasarkan NS1 negatif dan NS1 positif, maka tampak di kelompok NS1 positif terjadi penurunan dengan rerata jumlah trombosit pada hari kedua. Hal ini tidak terjadi di kelompok NS1 negatif. Analisis statistik uji t-2 sampel bebas menunjukkan ada perbedaan ($p = 0,006$), yakni perbedaan pada perubahan jumlah trombosit antara IVD dan antigen NS1 dengue positif dan penderita IVD dengan antigen NS1 dengue negatif. Hal ini sesuai dengan penelitian oleh *Chiou-Feng Lin et al.*¹³ yang menyatakan antibodi terhadap antigen NS1 dengue menunjukkan reaksi silang dengan trombosit manusia dan sel endotel, sehingga menyebabkan kerusakan trombosit dan sel endotel.^{13,14}

Analisis hubungan antigen NS1 dengue dengan jumlah trombosit IVD

Hasil analisis statistik uji t-2 sampel bebas menunjukkan tidak ada perbedaan antara antigen NS1 dengue dengan jumlah trombosit ($p = 0,062$), juga tidak ada perbedaan jumlah trombosit pada hari kedua di IVD ($p = 0,425$). Hal ini sesuai dengan penelitian *Vu Ty Hang et al.*⁸ mengenai ketepatan (akurasi) NS1 Elisa terhadap viremia, menyatakan: (1) pemeriksaan antigen NS1 dengue paling peka (sensitif) di dengue pratama (primer) dengan demam tiga hari pertama dibandingkan dengan dengue kedua (sekunder), (2) antigen NS1 dengue tidak menyiratkan adanya (refleksikan) viremia. Menurut Soegijanto¹⁵, keadaan kurangnya trombosit (kondisi trombositopenia) di IVD diduga terjadi

akibat peningkatan kerusakan (destruksi) trombosit di RES, pelompokan (agregasi) trombosit akibat endotel pembuluh darah yang rusak serta penurunan hasilan (produksi) trombosit oleh sumsum tulang atau penekanan fungsi megakariosit. *Wiwanitkit*¹⁶ menunjukkan fakta penolakan simpulan sebelumnya, yakni antigen NS1 dengue menimbulkan antibodi terhadap protein manusia/*human protein* (fibrinogen dan *integrin/adhesin* di trombosit) yang diduga menimbulkan penurunan jumlah trombosit.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan sari hasil telitian adalah (1) antigen NS1 dengue tidak berhubungan dengan penampakan (manifestasi) klinis IVD, (2) ada perbedaan perubahan jumlah trombosit antara IVD dan antigen NS1 dengue positif serta IVD dan antigen NS1 dengue negatif, (3) antigen NS1 dengue tidak berkaitan dengan jumlah trombosit IVD.

Didasari hasil telitian ini dapat disarankan sebagai berikut: (1) antigen NS1 dengue sebaiknya tidak digunakan untuk meramalkan (prediksi) jumlah trombosit di penderita DBD, (2) penelitian antigen NS1 dengue dilakukan hanya di penderita yang dicurigai IVD jika ia demam tiga hari atau kurang.

DAFTAR PUSTAKA

1. Alcon S, Talarmin A, et al. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay Specific to Dengue Virus Type 1 Nonstructural Protein NS1 Reveals Circulation of the Antigen in the Blood during the Acute Phase of Disease in Patient Experiencing Primary or Secondary Infections. *Journal of Clinical Microbiology*, 2002; February, Vol. 40, No. 2: 376-381.
2. Besoff K, et al. Comparison of Two Commercially Available Dengue Virus (DENV) NS1 Capture Enzyme-Linked Immunosorbent Assay Using a Single Clinical Sample for Diagnosis of Acute DENV Infection. *Clinical and Vaccine Immunology*, 2008; Oct. p. 1513-1518.
3. Chuansumrit A, et al. The Use of Dengue Nonstructural Protein 1 Antigen for the Early Diagnosis During the Febrile Stage in Patient With Dengue Infection. *The Pediatric Infection Disease Journal*, 2008; January. Vol. 27. Number 1.
4. Wiwanitkit V. Dengue Virus Nonstructural-1 Protein And Its Phylogenetic Correlation To Human Fibrinogen and Thrombocytes: A Study To Explain Hemorrhagic Complications. *The Internet Journal of Genomics and Proteomics*, 2004; Volume 1. Number 2.
5. Kumarasamy V, Wahab AHA, et al. Evaluation of a commercial dengue NS1 antigen-capture ELISA for laboratory diagnosis of acute dengue virus infection. *Journal of Virology Methods*, 2007; Maret. Vol. 140(1-2): 75-79.
6. Sekaran DS, et al. Evaluation of Dengue NS1 capture ELISA assay for the rapid detection of Dengue. *J Infect Developing Countries*, 2007; 1(2): 182-188.
7. Blacksell SD, Mammen MP et al. Evaluation of the Panbio dengue virus nonstructural 1 antigen detection and immunoglobulin M antibody enzyme-linked immunosorbent assays for the diagnosis of acute dengue infection in Laos. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2008; 60(1): 43-49.

8. Vu Ty Hang, et al. **Diagnostic Accuracy of NS1 ELISA and Lateral Flow Rapid Tests for Dengue Sensitivity, Specificity and Relationship to Viraemia and Antibody Responses**, 2009; January.vol.3 in www.plosntds.org.
9. Soewandojo E, Nasronudin,. **Tata Laksana Demam Berdarah Dengue pada Orang Dewasa**. Makalah lengkap: Seminar Penatalaksanaan DBD. TDC. Universitas Airlangga, 2001; hal. 27–41.
10. Dussart P. **NS1 Antigen detection using Elisa method**. 2007. Biorad Brochure.
11. Nasronudin. **Immunopathogenesis and Management of DHF** <http://www.medicalborneo.com>. Download Nov. 14. 2009.
12. Halstead SB, Dengue. In: **Tropical and Geographical Medicine** (Warren KS, Mahmoud Adel A.F, eds) 2nd edition., New York, McGraw-Hill, 1990; 675–685.
13. Chiou FL, et al. **Generation of IgM Anti-Platelet Autoantibody in Dengue Patients**. *Journal of Medical Virology*, 2001; 63: 143–149.
14. Chiou FL, et al. **Autoimmune Pathogenesis in Dengue Virus Infection**. *Viral Immunology*. 2006; 19(2): 127–132.
15. Soegijanto S. **Demam Berdarah Dengue**. Edisi 2, Surabaya, Airlangga University Press, 2006; 61–79.
16. Wiwanitkit V. **A study on Functional Similarity Between Dengue nonstructural protein1 and platelet integrin/adhesin protein, CD61**. *J Ayub Med Coll Abbottabad*. 2006. 18(3).