

Vol. 17, No. 1 November 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. 17	No. 1	Hal. 1-60	Surabaya November 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 Handoko, 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, Sp.PK,
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 Zulhaiddah Arthamin, dr, M.Kes, Sp.PK,
Sulistyo 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 RSU 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 RSU 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

Air Kemih (Urin) Bereosinofil dengan Dugaan Radang Sela Ginjal Mendadak/Nefritis Interstisial Akut (NIA) <i>(Urine Eosinophil in Acute Interstitial Nephritis (AIN))</i>	1-4
Felly G Sahureka, Fitriani Mangarengi, Uleng Bahrun	1-4
Resistensi terhadap Methicillin (<i>Methicillin Resistant Staphylococcus aureus</i> di Instalasi Rawat Inap <i>(Methicillin Resistant on Staphylococcus aureus at Hospital Ward)</i>	5-8
Wildana, Nurhayana Sennang, Benny Rusli.....	5-8
Uji Kesahihan (Validitas) Pemeriksaan <i>D-Dimer</i> Cara Menyaring Kekebalan (Metode Imunofiltrasi) dan Cara Mengukur Imunoturbidimetri <i>(The Validity Examination D-Dimer Assay Between Immunofiltration Method and Immunoturbidimetric Method)</i>	9-11
David Rustandi, Delita Prihatni, Tiene Rostini, Nina Tristina	9-11
Aktivitas Fosfolipase-A ₂ Sekretoris Plasma Trombositopenia Demam Berdarah Dengue <i>(Plasma Secretory Phospholipase-A₂ Activity in Thrombocytopenic Dengue Haemorrhagic Fever)</i>	12-20
Endang Retnowati K.,* Wiyanda Hidayati S, Liana	12-20
Profil Virus Dengue di Surabaya Tahun 2008-2009 <i>(Dengue Virus Profile in Surabaya From 2008-2009)</i>	21-24
Aryati, Puspa Wardhani.....	21-24
Korelasi antara <i>Neuron-Specific Enolase Serum</i> dan <i>Glasgow Coma Scale</i> di Pasien Cedera Kepala <i>(Correlation Between Serum Neuron-Specific Enolase and Glasgow Coma Scale in Traumatic Head Injury)</i>	25-31
Usi Sukorini, Isti Setijorini Wulandari, Budi Mulyono, Handoyo Pramusinto	25-31
Nilai Batas Antigen NS1 Dengue Kuantitatif sebagai Prediktor Keparahan Jangkitan/Tularan (Infeksi) Virus Dengue Anak <i>(Cut off Value Dengue Quantitative NS1 Antigen as Predictor Severity of Dengue Viral Infection in Children)</i>	32-37
Betty A Tambunan, Aryati, D Husada	32-37
Peran Polimorfisme Gen Interferon- γ (IFNG) pada Fenotip Histologi Nefritis Lupus <i>(The Role of γ-Interferron Gene (IFNG) Polymorphism in Phenotype Histology Lupus Nephritis)</i>	38-43
Kusworini Handono.....	38-43

TELAAH PUSTAKA

Pengangkaan (Kuantifikasi) Periksaan Pulasan Gram Di Berbagai Jenis Bahan Pemeriksaan <i>(Quantification of Gram Staining on Various Specimens)</i>	44-50
Adhi Kristianto Sugianli, Ida Parwati	44-50

LAPORAN KASUS

<i>Flaming Cells</i> Di Multiple Myeloma <i>(Flaming Cells in Multiple Myeloma)</i>	51-57
Nursin Abd. Kadir, Hj. Darmawaty E.R, Mansyur Arif.....	51-57

INFO LABORATORIUM MEDIK TERBARU

NILAI BATAS ANTIGEN NS1 DENGUE KUANTITATIF SEBAGAI PREDIKTOR KEPARAHAAN JANGKITAN/TULARAN (INFEKSI) VIRUS DENGUE ANAK

(Cut off Value Dengue Quantitative NS1 Antigen as Predictor Severity of Dengue Viral Infection in Children)

Betty A Tambunan,* Aryati,* D Husada**

ABSTRACT

The diagnosis of viral dengue infection is very important for the management of dengue patients. In acute phase infection circulating NS1 antigen can be detected in the sera of patients with dengue viral infection. This study is evaluating the NS1 antigen level in dengue patients using antigen captured ELISA Platelia™ Dengue NS1 Ag (Bio-Rad Laboratories). In this 30 examined dengue patients consisting of 3(10%) undifferentiated fever, 10(33.33%) dengue fever, 12(40%) DHF grade I, 2(6.66%) DHF grade II, 2(6.66%) DHF grade III, 1(3.33%) DHF grade IV. The result revealed that NS1 antigen was positive in 12 among 30 patients (40%) which were diagnosed as Dengue Viral infection based on 1997 WHO criteria. The sensitivity of NS1 antigen in these patients as confirmed with IgM and IgG antidengue serology test was 52.2%. The highest positivism of NS1 antigen was on the third day of fever. The results analyzed by Spearman correlation test revealed that there was no significant correlation between NS1 antigen level and the severity of dengue viral infection. The cut-off value of quantitative NS1 antigen could not be determined because they were no significant correlation shown for NS1 antigen as the predictor for the severity of dengue viral infection. The conclusion of the study so far shown that the quantitative NS1 antigen level could not be used as the predictor for the severity of dengue viral infection. The cut-off value of quantitative NS1 antigen could not be determined because there were no significant correlation shown for NS1 antigen as the predictor for the severity of dengue viral infection.

Key words: Cut off value, Quantitative NS1 Antigen, Predictor Severity of Dengue Viral Infection

ABSTRAK

Diagnosis dini jangkitan/tularan (infeksi) virus dengue (IVD) diperlukan untuk penatalaksanaan penderita. Antigen NS1 yang beredar di peredaran (sirkulasi) selama tahap (fase) akut dapat ditemukan (-deteksi) dalam serum penderita yang terinfeksi virus dengue. Penelitian ini bertujuan untuk memeriksa kadar antigen NS1 di penderita IVD dengan memakai antigen captured ELISA Platelia™ Dengue NS1 Ag (Bio-Rad Laboratories). Sebanyak 30 penderita IVD diambil sebagai terokan (sampel) penelitian yang terdiri dari demam tidak berpola jelas/dapat dibedakan (undifferentiated fever) 3 kasus (10%), demam dengue 10 kasus (33,33%), DBD derajat I 12 kasus (40%) dan DBD derajat II 2 kasus (6,66%), DBD derajat III 2 kasus (6,66%) dan DBD derajat IV 1 kasus (3,33%). Antigen NS1 positif ditemukan di 12 di antara 30 penderita (40%). Kepakaan (sensitivitas) antigen NS1 di penderita yang dikukuhkan (-konfirmasi) keadaan IVD dengan uji serologis IgM dan IgG antidengue 52,2% (12 dari 23 penderita). Antigen NS1 paling tinggi ditemukan pada hari ke 3 demam. Kenasaban (korelasi) tidak bermakna didapatkan antara kadar antigen NS1 dengan derajat keparahan setelah dianalisis dengan uji korelasi Spearman. Nilai batas (cut-off) antigen NS1 terkait jumlah (kuantitatif) tidak dapat dipakai karena tidak didapatkan korelasi yang bermakna untuk antigen NS1 sebagai peramal (prediktor) keparahan. Kadar antigen NS1 dengue kuantitatif tidak dapat dijadikan peramal keparahan infeksi virus dengue. Nilai batas antigen NS1 kuantitatif tidak didapatkan karena dijumpai kadar antigen NS1 yang bervariasi dan tidak menggambarkan keparahan penyakit.

Kata kunci: Nilai Batas Antigen NS1, Dengue Kuantitatif, Prediksi Keparahan Infeksi Dengue

PENDAHULUAN

Penyakit demam berdarah dengue di Indonesia terjadi pertama kali di Surabaya pada tahun 1968 dengan penderita 58 orang dan 24 orang meninggal dunia (*Case Fatality Rate/CFR* 41,3%).¹ Data Departemen Kesehatan menyebutkan bahwa jumlah keseluruhan (total) kasus demam berdarah dengue (DBD) secara nasional tahun 2008 mencapai 133.402

penderita, 1.141 di antaranya meninggal. Tahun 2007 kasus DBD secara nasional terjadi sebanyak 157.839 pasien dengan 1.597 orang meninggal.²

Gambaran klinis penyakit yang disebabkan oleh infeksi virus dengue sering tidak khas, dapat menyerupai gejala flu, demam tifoid, demam chikungunya, leptospirosis, malaria dan berbagai penyakit lain.³

* Departemen/Instalasi Patologi Klinik UNAIR-RSUD Dr. Soetomo, Surabaya.

** Departemen Ilmu Kesehatan Anak UNAIR-RSUD Dr. Soetomo, Surabaya.

Diagnosis dini diperlukan untuk penatalaksanaan penderita. Angka kematian dan angka kesakitan dapat diturunkan dengan penanganan penderita sejak dini. Keputusan untuk merawat penderita di rumah sakit dan memberi dukungan rawatan (suportif) yang terbaik (optimal) harus dilakukan sejak awal timbul gejala klinis.⁴

Dengue merupakan penyakit yang disebabkan infeksi *flavivirus* famili *flaviviridae* yang disebarluaskan oleh nyamuk *Aedes aegypti* dan *Aedes albopictus* (*mosquito borne viral disease*). Virus dengue terdiri dari empat jenis serum (4 serotipe) yaitu DEN 1,2,3, dan 4, merupakan virus RNA dengan panjang 11 kb yang terdiri atas tiga bangun (3 struktural) protein yaitu protein yang menyandi (-gkode) nukleokapsid atau inti (C), protein membran (M), dan protein penyelubung/envelope (E) dan 7 protein nonstruktural yaitu NS1, NS2a, NS2b, NS3, NS4a, NS4b, dan NS5. Protein nirbangun (nonstruktural) terlibat dalam penyalinan (replikasi) virus RNA.⁴

Protein nonstruktural virus dengue NS1 merupakan glikoprotein dengan berat molekul 46–50 kDa. Protein ini ditunjukkan (-ekspresikan) oleh sel mamalia yang terinfeksi virus dengue baik bentuk gabungan membrana/*membrane-associated* (mNS1) maupun *secreted* (sNS1). Menurut Libraty *et al*, 2002⁵, kadar sNS1 yang beredar di peredaran (sirkulasi) selama tahapan dadakan (fase akut) dapat dideteksi dalam serum penderita yang terinfeksi virus dengue. Kadar sNS1 biakan terapung (supernatan kultur) sel yang terinfeksi virus dengue berkorelasi dengan titer virus penular (infeksius). Penemuan (deteksi) dan keterkaitan jumlah (kuantifikasi) sNS1 yang bebas di sirkulasi menjadi diagnosis yang khas (spesifik) untuk infeksi virus dengue dan dapat memprediksi keparahan penyakit lebih awal dari uji (tes) serologis Ig M sebagai tes diagnostik.⁵

Tujuan penelitian ini ialah mencari sarana/alat diagnosis dini yang dapat dipakai untuk meramalkan keparahan penyakit akibat infeksi virus dengue yang berguna untuk penanganan penderita sejak awal penyakit. Di samping itu juga untuk membuktikan bahwa antigen NS1 virus dengue dapat dipakai sebagai prediktor keparahan infeksi virus dengue dan menentukan nilai batas antigen NS1 virus dengue sebagai prediktor keparahan tularannya.

METODE

Jenis penelitian ini adalah amatan terinci (analitik observasional) dengan rancang bangun penyelidikan jangka panjang (prospektif longitudinal). Pengambilan sampel dilakukan di poli anak, instalasi rawat darurat, rawat inap bagian Ilmu Kesehatan Anak RSUD Dr. Soetomo. Pemeriksaan antigen NS1 kuantitatif dilakukan di bagian penelitian dan

pengembangan (Litbang) Patologi Klinik RSUD Dr. Soetomo. Penelitian dilakukan sejak September 2009 sampai dengan Februari 2010.

Pengambilan sampel dilakukan di anak umur 12 bulan sampai remaja 18 tahun dengan demam ≤72 jam dan didiagnosis menderita infeksi virus dengue (IVD) sesuai patokan (kriteria) WHO 1997. Mereka bersedia diikutkan dalam penelitian dan di rawat inap serta menandatangi surat persetujuan tindakan medik (*informed consent*). Penderita kelainan hematologis, menderita penyakit jantung dan paru, didiagnosis sebagai infeksi lain dan yang sedang mendapatkan pengobatan asam salisilat atau aspirin diawasertakan (-eksklusi).

Kadar antigen NS1 terkait jumlah deretan (kuantitatif serial) diperiksa tiap hari, mulai saat rawat inap sampai dengan hari masa penurunan suhu tubuh/*defervescence* (hari 0). Pemeriksaan menggunakan *Platelia Dengue NS 1 Antigen Quantification Assay Bio Rad* dan diperiksa di bagian LITBANG Patologi Klinik RSUD Dr. Soetomo.

Pemeriksaan serologis IgM dan IgG pada penelitian ini dilakukan untuk mendapatkan penetapan (konfirmasi) diagnosis infeksi virus dengue sebagai data tambahan. Sampel pada hari ke 5 dari 30 penderita yang didiagnosis IVD diperiksa IgM dan IgG antidengue.

Pembagian derajat keparahan berdasarkan kriteria WHO 1997 yang disesuaikan dengan perwujudan (manifestasi) klinis penderita terdiri dari mereka yang mengidap demam tidak berpola jelas (*undifferentiated fever*), demam dengue, demam berdarah dengue (DBD) derajat I dan II, DBD derajat III dan IV atau sindrom renjatan (syok) dengue (SSD).⁶

Kenasaban (korelasi) kadar antigen NS1 kuantitatif dengan derajat keparahan dianalisis memakai uji korelasi Spearman dengan $p < 0,05$. Nilai Batas (*cut-off*) kadar antigen NS1 menurut derajat keparahan dianalisis dengan *Receiver Operating Characteristic (ROC Curve)*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian 30 sampel IVD dengan diagnosis *undifferentiated fever*, demam dengue dan demam berdarah dengue sesuai kriteria WHO 1997 yang dimodifikasi. Ciri (karakteristik) 30 sampel IVD tersebut terdiri dari 14 laki-laki (46,66%), 16 perempuan (53,33%), rentang umur 21 bulan sampai remaja 16 tahun. Penderita *Undifferentiated fever* ada 3 kasus (10%), demam dengue (DD) 10 kasus (33,33%), demam berdarah dengue (DBD) derajat I, 12 kasus (40%), DBD derajat II, 2 kasus (6,66%), DBD derajat III 2 kasus (6,66%) dan DBD derajat IV 1 kasus (3,33%).

Kepekaan (sensitivitas) uji ELISA antigen NS1 kuantitatif 52,2% setelah ditetapkan (konfirmasi) dengan uji serologis IgM dan IgG antidengue. Rendahnya sensitivitas antigen NS1 pada penelitian ini serupa dengan penelitian yang dilakukan Andayani 2009⁷ dan Puspitarini 2009⁸ di Surabaya. Di kajian ini didapatkan sensitivitas uji ELISA antigen NS1 dengue sebesar 46,3% dan 30,3%. Hal ini berbeda dengan hasil penelitian di luar negeri, Blacksell *et al.*, 2008⁹ di Laos mendapatkan sensitivitas antigen NS1 63%, Lapphra *et al.*,¹⁰ 2008 di Thailand (63%), Kumarasamy 2007¹¹ di Malaysia (90%), dan Hang *et al.*, 2009¹² di Vietnam (83%), William, 2009 di Australia (88,7%).¹³

Perbedaan hasil sensitivitas NS1 ini kemungkinan dikarenakan beberapa hal, di antaranya letak geografis dan serotype virus dengue. Jenis serum (serotype) virus dengue di Surabaya didominasi oleh serotype DEN 2 (Aryati, 2006)¹⁴, dan serotype DEN 2 ini lebih rendah kepositifan NS1-nya dibandingkan dengan DEN 3 yang menonjol (dominan) di luar

negeri (Hang *et al.*, 2009)¹². Pada penelitian ini tidak diperiksa serotype, hal ini merupakan keterbatasan penelitian ini.

Antigen NS1 negatif di kelompok *undifferentiated fever* mungkin disebabkan sekresi NS1 yang rendah dan menunjukkan bahwa penyalinan (replikasi) virus rendah. Hasil antigen NS1 DBD derajat IV yang negatif mungkin disebabkan gabungan (kompleks) Ag-Ab yang tidak terpisahkan dan melekat di endotel, sehingga sekresi antigen NS1 di sirkulasi rendah dan tidak tertemukan/deteksi (Koraka *et al.*, 2003).¹⁵

Secara keseluruhan kadar antigen NS1 yang didapatkan bervariasi dan tidak didapatkan pola yang khusus dari setiap penderita, tetapi kebanyakan kadar antigen NS1 semakin menurun menjelang *defervesces* (hari 0). Persentase hasil NS1 antigen yang positif didapatkan paling tinggi pada saat hari ke-2 yaitu 11 kasus di antara 12 penderita (91,66%), hanya satu (1) kasus yang memberi hasil negatif pada hari ke-2 tetapi memberi hasil positif pada hari sebelumnya (hari ke-3).

Tabel 1. Sebaran (distribusi) hasil antigen NS1 terkait jumlah (kuantitatif) berdasarkan diagnosis IVD

Diagnosis	antigen NS1 dengue				Jumlah
	(+)	(%)	(-)	(%)	
N		N			
Demam tidak berpoli jelas (Undifferentiated fever)	0	0	3	10	3
Demam dengue	2	6,66	8	26,66	10
DBD derajat I	7	23,33	5	16,66	12
DBD derajat II	2	6,66	0	0	2
DBD derajat III	1	3,33	1	3,33	2
DBD derajat IV	0	0	1	3,33	1
Jumlah keseluruhan	12	40	18	60	30

Tabel 2. Hasil antigen NS1 yang positif dikelompokkan mulai dari masa penurunan suhu tubuh (*defervesces*) sampai hari awal pengambilan sampel

No	Diagnosis	Demam hari dianalisis mulai saat masa penurunan suhu tubuh (<i>defervesces</i>)			
		Defervesces	Hari -1	Hari -2	Hari -3
1. DD		–	646	713	717
2. DD		–	–	716	
3. DBD derajat I		723	703	748	
4. DBD derajat I		173	736	732	
5. DBD derajat I		–	–	670	730
6. DBD derajat I		741	707	741	–
7. DBD derajat I		–	–	651	–
8. DBD derajat I		–	–	–	684
9. DBD derajat I		–	–	455	
10. DBD derajat II		239	735	718	
11. DBD derajat II		–	–	690	
12. DBD derajat III (SSD)		–	421	699	

Ket: kadar antigen NS1 (BRU/ml)

-: negatif

Tabel 3. Hasil antigen NS1 yang positif dikelompokkan mulai dari hari awal pengambilan sampel sampai masa penurunan suhu tubuh (*defervescens*) dan jenis IVD berdasarkan hasil uji IgM dan IgG antidengue.

No	Diagnosis	Demam hari				Jenis IVD
		Hari 2	Hari 3	Hari 4	Hari 5 masa penurunan suhu tubuh (<i>defervescens</i>)	
1.	DD	717	713	646	–	Tambahan sekunder
2.	DD		716	–	–	sekunder
3.	DBD derajat I		748	703	723	Pratama (primer)
4.	DBD derajat I		732	736	173	sekunder
5.	DBD derajat I	730	670	–	–	sekunder
6.	DBD derajat I		741	707	741	primer
7.	DBD derajat I		651	–	–	sekunder
8.	DBD derajat I		684	–	–	sekunder
9.	DBD derajat I		455	–	–	sekunder
10.	DBD derajat II		718	735	239	Sekunder
11.	DBD derajat II		690	–	–	sekunder
12.	DBD derajat III(SSD)		699	421	–	Sekunder

Ket: kadar antigen NS1 (BRU/ml): – negatif

Bila diamati berdasarkan hari demam didapatkan kadar antigen NS1 pada awal demam lebih tinggi dan menurun menjelang *defervescens* sampai menjadi negatif pada saat *defervescens*, walaupun hal ini tidak dijumpai di seluruh kasus. Berdasarkan waktu pengambilan sampel dari dua belas sampel yang Uji ELISA antigen NS1 denguenya positif didapatkan pada hari ke-3 demam yang memberi hasil positif untuk 12 kasus (100%).

Hal ini sesuai dengan penelitian William, 2009 yang menemukan bahwa sensitivitas antigen NS1 lebih tinggi pada hari ke-3 demam. Vaughn *et al.*, 2000, Libraty *et al.*, 2002 meneliti di Thailand menyatakan puncak viremia didapatkan pada hari ke-3 demam berdasarkan hasil PCR, sehingga sangat dimungkinkan menemukan NS1 positif saat demam pada hari ke 3.^{5,13,16}

Antigen NS1 juga memberi hasil positif pada hari ke-2 demam (2 kasus). Hal ini sesuai dengan penelitian Dussart, 2008 yang menyatakan sensitivitas antigen NS1 lebih tinggi pada awal demam (hari ke-1 sampai hari ke-3), hanya pada penelitian ini tidak ada sampel demam yang diperiksa pada hari ke-1.¹⁷

Kadar antigen NS1 juga bervariasi dan tidak sesuai dengan beratnya penyakit berdasarkan kriteria WHO 1997 yang dimodifikasi. Kadar antigen yang bervariasi menunjukkan sekresi antigen NS1 tidak menetap (stabil), hal ini sesuai dengan telitian Blacksell 2008 dan Alcon *et al.*, 2001. Dussart *et al.*, 2008, menyatakan bahwa NS1 yang berikatan dengan endotel terlarut (*soluble*) dan yang terkumpul (terakumulasi) di hepatosit menyebabkan sekresi NS1 di sirkulasi menjadi lambat. Hal ini mempengaruhi kadar antigen NS1 yang terdeteksi.^{9,17,18}

Hal yang berbeda didapatkan dari telitian Libraty *et al.*, 2002⁵ yang menyatakan bahwa kadar antigen NS1 dijumpai lebih tinggi di penderita DBD derajat I dan II dibandingkan dengan penderita DD. Vaughn *et al.*, 2000¹⁶ menyatakan titer viremia sesuai dengan derajat keparahan, di SSD lebih tinggi dibandingkan dengan DBD derajat I dan II, sedangkan DBD derajat I dan II lebih tinggi dibandingkan dengan DD. Virus dalam darah (viremia) yang tinggi ditentukan berdasarkan muatan virus (*viral load*) dengan pemeriksaan PCR. Viremia yang tinggi sebanding dengan derajat keparahan berdasarkan kriteria WHO 1997 yang telah dimodifikasi. Libraty *et al.*, 2002 menyatakan bahwa titer viremia setara dengan kadar antigen NS1, tetapi penelitian ini terbatas hanya di lingkup jenis serum (*serotype*) DEN 2 dengan jangkitan/tularan tambahan (infeksi sekunder).^{5,16}

Berdasarkan hasil serologis IgM dan IgG didapatkan penderita yang terinfeksi virus dengue primer sebanyak dua (2) orang di antara 23 kasus (8,7%) dan 21 orang pengidap sekunder (91,3%). Lebih banyak dijumpai penderita yang terinfeksi virus dengue tambahan (sekunder) dibandingkan dengan yang pratama (primer). Hal serupa didapatkan pada penelitian Shah *et al.*, 2006 di Bangladesh, yaitu sebanyak 85% adalah infeksi sekunder dan 15% infeksi primer.¹⁹

Terdapat tujuh (7) penderita yang memberi hasil IgM dan IgG dengue negatif (23,33%). Tujuh penderita tersebut didiagnosis sebagai demam tidak berpola jelas (*undifferentiated fever*) satu (1) kasus, DD empat (4) kasus, DBD derajat I satu (1) kasus. Tidak semua sampel dapat dikonfirmasi sebagai IVD dengan uji

serologis IgM dan IgG disebabkan sensitivitas uji serologis IgM dan IgG dengue tidak 100%. Sang *et al.*, 1998 mendapatkan sensitivitas pemeriksaan IgM dan IgG 55%, Vaughn *et al.*, 2000, 79%, Lam *et al.*, 95%, Cuzzubbo *et al.*, 2000 95%.^{16,20-22}

Antigen NS1 negatif di 11 kasus di antara 23 kasus yang dikonfirmasi sebagai IVD berdasarkan hasil serologis IgM dan IgG merupakan infeksi sekunder. Kepkaan (sensitivitas) antigen NS1 yang rendah dijumpai di IVD sekunder. Sekaran, *et al.*, 2009²³ mendapatkan sensitivitas antigen NS1 53,3% pada infeksi sekunder. Koraka *et al.*, 2003¹⁵ menyatakan bahwa sensitivitas antigen NS1 yang rendah di infeksi sekunder disebabkan gabungan (kompleks) Ag-Ab NS1 yang tidak terdisosiasi, sehingga antigen NS1 di sirkulasi menjadi rendah. Hal yang sama didapatkan pada penelitian ini. Kadar NS1 pada infeksi sekunder juga lebih rendah dibandingkan dengan infeksi primer.^{15,23}

Tularan prama (infeksi primer) ditemukan dua (2) kasus dan infeksi sekunder 10 kasus dari 12 kasus dengan antigen NS1 positif. Kadar antigen NS1 ditemukan cukup tinggi mulai hari ke 3 sampai hari ke 5 di infeksi primer, sedangkan di infeksi sekunder kadar antigen NS1 semakin menurun menjelang hari ke 5 atau menjadi negatif. Penelitian Vaughn *et al.*, 2000 menyatakan bahwa penurunan viremia di infeksi sekunder lebih cepat dibandingkan dengan infeksi primer. Hal ini kelihatannya hampir sama dengan kadar antigen NS1 yang menurun di infeksi sekunder yang didapatkan pada penelitian ini.¹⁶

Hasil analisis didapatkan ada kenasaban (korelasi) yang tidak bermakna antara antigen NS1 dan derajat keparahan ($p > 0,05$). Hasil analisis nilai batas (*cut-off*) kadar antigen NS1 sebagai prediktor keparahan dengan lengkung ROC (*ROC curve*) juga tidak bermakna, didapatkan nilai $p > 0,05$. Nilai batas (*cut-off*) kadar antigen NS1 sebagai peramal (prediktor) keparahan tidak didapatkan.

Kadar antigen NS1 dari 12 penderita yang positif bervariasi. Didapatkan kadar yang beragam (-variasi) di penderita yang didiagnosis DD maupun DBD. Hal ini berbeda dengan penelitian Libraty, *et al.*, 2002 yang mendapatkan adanya korelasi yang bermakna antara kadar antigen NS1 dan derajat keparahan. Penelitian Libraty *et al.*, 2002, memakai sampel IVD dengan serotipe yang sama (jenis serum/serotipe 2) dan semuanya adalah penderita IVD sekunder. Pada penelitian ini tidak diperiksa serotipe dan penggalak (primer) IVD juga tidak dikeluarkan dari penelitian. Perbedaan serotipe dan jenis IVD mungkin merupakan faktor yang mempengaruhi hasil penelitian ini. Vaughn *et al.*, 2000 mendapatkan derajat keparahan di IVD DEN 2 yang lebih berat (66% dari sampel IVD merupakan DBD). Penelitian oleh Aryati, 2006

ditemukan bahwa di Indonesia terdapat DEN 1–4. Di Surabaya selama kurun waktu 2003–2005 serotipe DEN 2 lebih banyak ditemukan.

Jenis serum (serotipe) 2 memberikan manifestasi klinis dengan berbagai macam derajat keparahan. Walaupun penelitian ini mengambil sampel di Surabaya yang didominasi dengan serotipe 2 sama seperti penelitian Libraty *et al.*, 2002 yang meneliti serotipe 2 saja, tetapi hasil yang didapatkan berbeda. Tampaknya sekalipun serotipenya sama mungkin terdapat perbedaan turunan jenis/galur (subtipe/*strain*). Perbedaan subtipe/*strain* mungkin dapat mempengaruhi sensitivitas NS1 yang dideteksi, sehingga kadar yang dijumpai bervariasi dan tidak menggambarkan derajat keparahan. Metode NS1 yang dipakai tampak perlu dipertimbangkan. Masih menjadi pertanyaan juga apakah antigen NS1 yang dipakai dari berbagai serotipe tersebut berbeda, sehingga memberi tanggap kekebalan (respon imun) yang berbeda pula, sehingga derajat keparahannya juga berbeda. Oleh karena itu untuk cara ELISA antibodi apitan rangkap (metode *double antibody sandwich* ELISA) dalam penentuan antigen NS1 dengue perlu diteliti lebih lanjut.⁵

Hasil analisis nilai batas (*cut-off*) kadar antigen NS1 sebagai prediktor keparahan juga tidak bermakna. Penelitian Libraty *et al.*, 2002, mendapatkan *cut-off* DBD 600 ng/mL. Pada penelitian ini tidak didapatkan *cut-off* untuk derajat keparahan. Nilai batas antigen NS1 terkait jumlah (kuantitatif) tidak didapatkan karena dijumpai kadar antigen NS1 yang bervariasi dan tidak menggambarkan keparahan penyakit.⁵

Berdasarkan penelitian yang ada banyak faktor yang mempengaruhi derajat keparahan penyakit anak. Menurut teori mempertinggi ketergantungan antibodi (*Antibody Dependent Enhancement*) infeksi sekunder sering menyebabkan DBD dan SSD. Berdasarkan teori imunopatogenesis, derajat keparahan dipengaruhi oleh kegiatan (aktivitas) sitokin dan pelengkap (komplemen). Teori virulensi menyebutkan derajat keparahan IVD dipengaruhi oleh tingginya viremia. Perbedaan serotipe juga disebutkan menentukan derajat keparahan. Sifat genetik perseorangan (individu) yang berbeda juga mempengaruhi derajat keparahan. Penelitian lain di anak ada juga yang menyebutkan bahwa status gizi anak juga mempengaruhi derajat keparahan IVD.²⁴

Penelitian ini memiliki banyak keterbatasan. Banyak faktor yang mempengaruhi derajat keparahan tidak diteliti. Peneliti hanya memumpunkan (-fokuskan) hubungan kadar antigen NS1 dengan derajat keparahan. Faktor lainnya tidak diteliti, sehingga hasil yang didapat masih memerlukan penelitian lebih lanjut.

SIMPULAN DAN SARAN

Pada penelitian ini dapat disimpulkan bahwa kadar antigen NS1 dengue kuantitatif tidak dapat dijadikan peramal (prediktor) keparahan infeksi virus dengue. Nilai batas antigen NS1 kuantitatif tidak didapatkan karena dijumpai kadar antigen NS1 yang bervariasi dan tidak menggambarkan keparahan penyakit. Sensitivitas antigen NS1 dengue kuantitatif 52,2% di IVD yang telah dikonfirmasi dengan uji serologis IgM dan IgG. kepositivan antigen NS1 paling tinggi ditemukan saat demam pada hari ke-3.

Perlu dikaji lebih lanjut pada penelitian ini selain penentuan serotipe tetapi juga subtipe/strain yang terdapat di Indonesia untuk melihat lebih jauh pengaruhnya terhadap kadar antigen NS1. Pemeriksaan muatan virus (*viral load*) diperlukan untuk melihat apakah kadar antigen NS1 sebanding dengan viremia. Penentuan sitokin maupun komplemen, sifat genetika, serta status gizi penderita juga perlu dilakukan untuk melihat pengaruh faktor tersebut terhadap derajat keparahan.

DAFTAR PUSTAKA

1. Soegijanto S, Bahaya yang mengintai endemisitas DBD di Indonesia. *Soegijanto S. Demam berdarah dengue*. Surabaya, Airlangga University Press, 2006; 25–44.
2. Agus SB, Waspada terhadap Demam Berdarah. Kominfo Newsroom. Badan Informasi Publik Departemen Komunikasi dan Informatika. Jakarta 2009.
3. Aryati, The Role of Dengue NS1 Antigen as Diagnostic Tool. In: National Emerging and Re-Emerging Infectious Disease Update. Convention Hall Husada Utama Specialist Hospital. Surabaya 2008.
4. Ramirez A, Moros Z, Comach G, Zambrano S, Bravo L, Pinto B, Vielma J.S, Evaluation of dengue detection test with acute sera from patients infected with dengue in Venezuela. *Diagnostic and Infectious Disease*, 2009; 65(3): 247–253.
5. Library DH, Young PR, Pickering D, Endy TP, Kalayanarooj S, Green S, et al., High Circulating Levels of the Dengue Virus Nonstructural Protein NS1 Early in Dengue Illness Correlate with the Development of Dengue Hemorrhagic Fever. *Journal of Infectious Disease*, 2002; 186: 1165–68.
6. World Health Organization, *Dengue Haemorrhagic Fever Diagnosis, Treatment, Prevention and Control*. Second edition., Geneva, World Health Organization, 1997.
7. Andayani, Peran Protein NS1 Terhadap Gangguan Fungsi Hepar Pada Infeksi Dengue (Disertasi). Program Pascasarjana Unair, 2009.
8. Puspitarini D, Evaluasi SD Dengue Duo® (NS1, IgG, IgM) Rapid Test dalam Menunjang Diagnosis Infeksi Virus Dengue. PIT PDS Patklin, Balikpapan 2009.
9. Blacksell DS, Mammen MP Thongpaseuth S, Gibbons RU, Jarman RG, Jenjaroen K, Nisalak A, Phetsouvanh R, Phewton PN, Day NPJ, Evaluation of Panbio Dengue Virus nonstructural 1 Antigen Detection and Immunoglobulin M Antibody Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for Diagnosis of Acute Dengue Infection in Laos. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* 2008; 60: 43–49.
10. Lapphra K, Sangcharaswichaia A, Chokephaibulkita K, Tiengrima S, Piriayakarnsakula W, Chakorna T, et al, Evaluation of an NS1 Antigen Detection for Diagnosis of Acute Dengue Infection in Patients with Acute Febrile Illness. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 2008; 60: 1–7.
11. Kumarasamy V, Chua S.K, Hassan Z, Wahab AHA, Chen YK, Mohammad M, Chua KB, Evaluation the Sensitivity of a Commercial Dengue NS1 Antigen-Capture ELISA for Early Diagnosis of Acute Dengue Virus Infection. *Singapore Medical Journal*, 2007; 48(7): 669–673.
12. Hang VT, Nguyet N, Trung DT, Tricou V, Yoksan S, Dung NM, Ngoc TV, Hien TT, Farrar J, Wills B, Simmons CP, Diagnostic Accuracy of NS1 ELISA and Lateral Flow Rapid Tests for Dengue Sensitivity, Specificity and Relationship to Viraemia and Antibody Responses. *Tropical Disease*, 2009; 3(1): 352–360.
13. William JM, Evaluation of dengue NS1 Test Kits for the Diagnosis of Dengue Fever. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 2009; 01.002: 1–6.
14. Aryati, Epidemiologi Molekuler Virus Dengue di Indonesia. Disertasi. Program Pascasarjana Universitas Airlangga Surabaya 2006; 1–171.
15. Koraka P, Chantal P, Burghoorn-Maas, Falconar A, Setiati ET, Djamiatun K, Groen J, Albert D, Osterhaus ME, Detection of immune-complex-dissociated Nonstructural-1 Antigen in patient with Acute Dengue Virus infections. *Journal of Clinical Microbiology*, 2003; 41(9): 4154–59.
16. Vaughn DW, Green S, Kalayanarooj S, Innis BL, Nimmannitya S, Endy TP, Raengsakulrach S, Rothman A, Ennis AF, Nisalak A, Dengue Viremia Titer, Antibody Response Pattern, and Virus Serotype Correlate with Disease Severity. *Journal of Infectious Disease*, 2000; 181: 2–9.
17. Dussart P, Petit L, Labeu B, Bremand L, Leduc A, Moua D, Matheus S, Baril L, Evaluation of Two New Commercial Test for the Diagnosis of Acute Dengue Virus Infection Using NS1 Antigen Detection in Human Serum. *PLOS Neglected Tropical Disease* 2008; 2(8): 1–9.
18. Alcon S, Talarmin A, Debruyne M, Falconar A, Deubel V, Flaman M, 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 Patients Experiencing Primary or Secondary Infections. *J Clin Microbiol*, 2002; 40(2): 376–81.
19. Shah GS, Islam S, Das BK, Clinical and Laboratory Profile of Dengue Infection in Children. *Kathmandu University Medical Journal*, 2006; 4.1(13): 40–3.
20. Sang CT, Cuzzubbo AJ, Devine PL, Evaluation of Commercial Capture Enzyme Linked Immunosorbent Assay for Detection of Immunoglobulin M and G Antibodies Produced during Dengue Infection. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology* 1998; 5(1): 7–10.
21. Lam SK, Lan CEW, Michell JL, Cuzzubbo AJ, Devine PL, Evaluation of a Capture Screening Enzyme Linked Immunosorbent Assay for Combined Determination of Immunoglobulin M and G Antibodies Produced during Dengue Infection, *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology* 2000; 7(5): 850–2.
22. Cuzzubbo AJ, Vaughn DH, Nisalak A, Solomon T, Kalayanarooj S, Aaskov J, Dung NM, Devine PL, Comparison of Panbio Duo Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) and MRL Dengue Fever Virus Immunoglobulin M Capture ELISA for Diagnosis of Dengue Virus Infection in Southeast Asia. 2000; 6(5): 705–712.
23. Sekaran SD, Ew CL, Subramaniam G, Kanthesh BM, Sensitivity of Dengue Virus NS-1 Detection in Primary and Secondary Infections. *Journal of Clinical Microbiology*, 2009; 3(3): 105–110.
24. Noisakran S, Perng GC, Alternate Hypothesis on the Pathogenesis of Dengue Hemorrhagic Fever (DHF)/Dengue Shock Syndrome (DSS) in Dengue Virus Infection. *Experimental Biology and Medicine*. 2007; 401–8.