

“DENGUE IgG/IgM ANTIBODI RAPID TEST” (IR-113c) SEBAGAI PERANGKAT DIAGNOSTIK CEPAT DEMAM BERDARAH DENGUE

Basundari Sri Utami,* Sekar Tuti,* Harli Novriani*

Abstract

Dengue Haemorrhagic Fever (DBD) remains one of the main major health problem. The morbidity rate increases from year to year, especially in the urban area like Jakarta. It is caused by flaviviridae virus, and transmitted through mosquitoes biting (Aedes aegypti or Aedes albopictus). Although the morbidity from 1990 to 2006 was high (total cases showed 22.807 in 1990, and 111.730 in 2006), the case fatality rate (CFR) were gradually decrease (CFR showed 3,60% in 1990 and 1,41% in 2006). The problem is in the early clinical manifestation of dengue virus infection causes a broad spectrum of illnesses, may as an asymptomatic infection, a like undifferentiated fever, a common influenza, a chikungunya, or as a typhoid fever. Prompt and accurate diagnosis is needed, to saving the lives of DBD patients. In order to get prompt and accurate diagnosis for dengue virus infection, we validated a Dengue IgG/IgM Antibody Rapid Test/IR-113c (produced by Oncoprobe), using 61 sera taken from dengue infected patients from Jakarta, Semarang and Medan. All sera were paired or taken from acute and convalescence phases of infection. RDT result were compare to HI (Haemagglutination Inhibition) Test as a gold standard, ELISA test was also be done to measure the titers of IgM and IgG. It was found that this device showed 76,9% (76,8-77) sensitivity (Se), 77,7% (77,6-77,8) specivicity (Sp), 77,05% (76,95-77,15) accuracy, 95,2% (95,45-95,25) and 36,8% (36,68-36,92) positive predictive value (ppv) and negative predictive value (npv), all those result were statistically valid ($\chi^2=10,7$, $p = 0,001$). The convalescence sera showed 98,1% (98,07-98,13) sensitivity (Se), 77,7% (77,6-77,8) specivicity (sp), 95,1% (95,05-95,15) accuracy, 96,2% (96,16-96,24) and 87,5% (87,42-87,58) positive predictive value (ppv) and negative predictive value (npv), all those result were statistically valid ($\chi^2 = 38,74$, $p = 0,000$). Dengue IgG/IgM Antibody Rapid Test/IR-113c has an adequate sensitivity and accuracy however it is less speeifse. This device showed higher validity for convaleence sera.

Keyword: rapid diagnostie test, DBD

Pendahuluan

Penyakit demam berdarah dengue (DBD) masih merupakan masalah kesehatan masyarakat, angka kesakitannya meningkat dari tahun ke tahun, terutama di kota-kota besar seperti Jakarta. Penyebab DBD adalah virus famili *flaviviridae*, ditularkan melalui gigitan nyamuk *Aedes aegypti* atau *Aedes albopictus*

betina. Ada 4 serotipe virus yaitu Den-1, Den-2, Den-3 dan Den-4, yang banyak beredar di masyarakat adalah serotipe Den-1 dan Den-3.¹

Dari laporan Direktorat Jenderal Pengendalian Penyakit dan Penyehatan Lingkungan (Ditjen P2PL) jumlah kasus DBD sejak tahun 1990 sampai 2006 terus meningkat,

* Puslitbang Biomedis dan Farmasi, Badan Litbang Kesehatan, Departemen Kesehatan RI

meskipun demikian angka *Case Fatality Rate* (CFR) cenderung menunjukkan penurunan. Pada tahun 1990 CFR sebesar 3,60%, dan pada tahun 2006 CFR menjadi 1,04%, pada tahun 2007 angka CFR di beberapa kota dan kabupaten masih di atas standar nasional ($\geq 1\%$) yaitu di Surakarta (1%), Semarang Kota (2,1%), Kab. Semarang (1,6%), Bandar Lampung (1,23%), Medan (1,1%) dan Pontianak (1,2%).²

Pada saat infeksi virus terjadi, akan diikuti proses replikasi virus, selanjutnya akan menginfeksi sel darah putih dan sel-sel kelenjar getah bening, dan akhirnya masuk dalam sirkulasi darah. Gejala klinis yang timbul antara lain demam, bintik merah pada kulit, terjadi gangguan fungsi pembekuan darah yang disebabkan penurunan kualitas dan jumlah komponen pembeku darah (trombosit).³ Bentuk reaksi yang lain adalah terjadi kebocoran pada pembuluh darah yang mengakibatkan keluarnya komponen plasma (cairan) darah dari dalam pembuluh darah sehingga membuat plasma darah mengalir ke luar menuju ke rongga perut manifestasinya berupa gejala ascites dan masuk rongga selaput paru berupa gejala efusi pleura. Masa kritis penderita demam berdarah berlangsung pada hari keempat dan kelima. Pada fase ini, suhu badan turun (sering kali mendadak) dan biasanya diikuti oleh sindrom syok dengue karena perubahan yang tiba-tiba.³

Selama ini diagnosis infeksi dengue ditegakkan berdasarkan gejala klinis sesuai kriteria WHO⁴ yang didukung dengan hasil konfirmasi laboratorium, yaitu uji *Haemagglutination Inhibition test* (HI) untuk mendeteksi kejadian infeksi primer atau sekunder virus dengue, atau uji ELISA untuk menentukan ada/tidaknya antibodi terhadap virus dengue (IgM atau dan IgG). Kedua uji ini mempunyai kelebihan dan kekurangan masing-masing, ke-2 tes ini harus dilakukan di ruangan khusus (laboratorium) dan memerlukan waktu paling sedikit satu hari untuk ELISA dan sampai dua minggu untuk HI.

Dalam menangani penderita demam dengue permasalahannya adalah manifestasi klinis pada awal infeksi virus DBD yaitu demam tidak spesifik dan sulit dibedakan dengan infeksi/penyakit lain seperti demam tipoid, chikungunya dan lain-lain. Di lain pihak para klinisi dituntut untuk menegakkan diagnosa secepat dan setepat

mungkin, sehingga penanganan kasus DBD dapat dilakukan segera untuk mencegah kejadian fatal.

Dengan berbasis test ELISA dan imunokromatografi, akhir-akhir ini telah dikembangkan beberapa jenis alat diagnosis cepat (*Rapid test*) untuk mendeteksi IgM dan atau IgG anti dengue, dalam waktu lima sampai 30 menit. Salah satu produk komersial yang tersedia di pasaran saat ini adalah "*Dengue IgG/IgM Antibodi Rapid Test*" (IR-113c) produk dari Oncoprobe. Dalam rangka mendapatkan alternatif cara diagnosis infeksi virus dengue yang lebih cepat maka dilakukan uji validasi produk tersebut dalam mendeteksi IgM dan IgG anti virus dengue pada 61 serum tersangka penderita DBD di Jakarta, Semarang dan Medan yang diambil secara berpasangan stadium akut dan konvalesen. Pemunculan garis IgM dan IgG di atas strip "*Dengue IgG/IgM Antibodi Rapid Test*" (IR-113c) dapat digunakan untuk menduga kejadian infeksi primer dan sekunder pada penderita DBD dalam waktu paling lama 30 menit, kesimpulan/hasil tes dapat dipastikan dengan cepat, sehingga penanganan terhadap penderita dapat segera dilakukan. Uji validasi meliputi sensitivitas, spesifisitas, nilai duga positif, nilai duga negatif, *positif likelihood ratio*, *negatif likelihood ratio* dan akurasi alat tersebut, dibandingkan dengan HI sebagai baku emas (*gold standard*).

Metoda Penelitian

Disain, Tempat, dan Lama Penelitian

Penelitian ini merupakan studi diagnostik yang dilakukan di laboratorium Puslitbang Biomedis dan Farmasi selama lima bulan (April sampai dengan bulan Agustus 2007), dengan menggunakan sampel sera yang diambil dari penderita DBD selama tahun 2006 dan sudah diketahui hasil uji HI, sampel tersebut berasal dari RS Koja dan Tarakan Jakarta, RS Dr. Karyadi Semarang dan RSU. Pirngadi Medan. Sera tersebut tersimpan di laboratorium Puslitbang Biomedis dan Farmasi, Badan Litbang Kesehatan pada suhu -70°C , Jakarta.

Populasi dan sampel

Populasi sampel adalah semua sera tersangka penderita DBD dan tersimpan di laboratorium virologi Puslitbang Biomedis dan

Farmasi.

Sampel penelitian adalah sera positif dan negatif berdasarkan hasil uji HI.

Besar sampel dihitung dengan menggunakan rumus dari Lemeshow dkk., 1990.⁵ Dengan asumsi sensitivitas 98,2% dan spesifisitas 96,7%, tingkat kepercayaan 95% dan persisi sebesar 5%,⁶ maka dibutuhkan jumlah sampel positif 28 dan sampel negatif 50. Jumlah keseluruhan sampel 78 yang diambil dari penderita DBD fase akut dan konvalesen. Dengan adanya permasalahan teknis laboratorium, maka jumlah sera yang dapat dievaluasi sebesar 61 sera akut dan konvalesen.

Prinsip Kerja Uji RDT-Oncoprobe

RDT-oncoprobe untuk uji Dengue adalah *immuno-chromatographic assay* untuk mendeteksi antibodi Dengue IgG dan IgM. Uji ini menggunakan *antigen gold conjugated (colloidal gold)* dan *protein recombinant Dengue envelope proteins* yang telah dimurnikan, untuk mendeteksi secara spesifik antibodi dalam serum manusia.

Pada saat serum diteteskan pada larutan yang mengandung *antigen gold conjugated (colloidal gold)* yang sudah diikat dengan *recombinant Dengue envelope proteins*, IgG dan IgM penderita DBD akan berikatan dengan antigen tersebut. Saat larutan kompleks Ag-Ab tersebut diteteskan pada kertas strip, kompleks tersebut akan melewati kertas tes (strip), kemudian akan ditangkap oleh antibodi anti IgG atau anti IgM yang sudah ditempelkan pada kertas strip, dan akan menyebabkan perubahan warna pada lokasi tempat antibodi anti IgG atau IgM tersebut. Untuk menentukan benar tidaknya tes, garis kontrol harus selalu muncul pada saat tes dilakukan.⁶

Tata Cara Pengambilan Keputusan Hasil Positif dan Negatif

Hasil HI dinyatakan positif bila titer antibodi pada fase konvalesen sebesar empat kali atau lebih dari titer antibodi pada fase akut.

Hasil Oncoprobe ditetapkan berdasarkan pemunculan IgG dan IgM yang berupa garis atau pita di atas strip. Bila IgG dan IgM hadir bersama-sama atau hanya IgG saja, diputuskan sebagai infeksi sekunder, bila hanya IgM saja diputuskan

sebagai infeksi primer.

Pada penelitian ini juga dilakukan uji ELISA untuk mengetahui kadar IgM dan IgG tersangka penderita DBD. Uji ELISA dilakukan dengan menggunakan produk Panbio. Hasil ELISA dinyatakan dengan *index value*, berdasarkan formula seperti pada tata cara uji ELISA Panbio.^{7,8}

Hasil dinyatakan sebagai positif IgM bila menunjukkan *index value* lebih dari 1,1, dan hasil dinyatakan negatif bila *index value* kurang dari 0,9, sedangkan hasil meragukan bila menunjukkan *index value* (0,9–1,1).⁷ Hasil positif IgG bila menunjukkan *index value* lebih dari 2,2, hasil dinyatakan negatif bila *index value* kurang dari 1,8, sedangkan hasil meragukan bila menunjukkan *index value* (1,8–2,2).⁸ Hasil yang meragukan tidak diikutkan dalam analisa hasil.

Analisa dilakukan dengan program SPSS version 15.00 for Windows.

Hasil

Jumlah sampel yang diuji sebanyak 61 sera akut dan konvalesen, dari hasil uji HI 4 sera (6,5%) dinyatakan positif infeksi primer, 48 (78,6%) sera positif infeksi sekunder dan 9 negatif (14,75%). (tabel 1)

Hasil uji RDT-Oncoprobe terhadap 61 sera tersangka penderita DBD menunjukkan sebagai berikut, pada sera akut 10 sera (16,4%) dinyatakan positif infeksi primer, 32 sera (52,4%) positif infeksi sekunder dan 19 (31,14%) negatif. Pada sera konvalesen 9 (14,75%) sera positif primer, 44 (72,13%) positif sekunder dan 8 (13,11%) negatif (tabel 1).

Untuk menentukan validitas RDT-Oncoprobe dengan HI sebagai baku emas, keputusan positif primer dan sekunder pada hasil uji HI dan RDT-Oncoprobe dianggap sebagai hasil positif, dan hasil negatif sebagai hasil negatif. Dengan demikian hasil uji HI pada 61 sera tersangka DBD menunjukkan hasil 52 positif dan 9 negatif, hasil uji RDT-Oncoprobe pada 61 sera akut menunjukkan 42 positif dan 19 negatif dan pada sera konvalesen menunjukkan 53 positif dan 8 negatif (tabel 2). Keputusan positif dan negatif uji RDT-Oncoprobe pada sera akut berbeda bermakna dengan keputusan uji HI ($\chi^2 = 4,64$, $p < 0,05$), tetapi keputusan positif dan negatif

uji RDT-Oncoprobe pada sera konvalesen tidak berbeda bermakna dengan keputusan uji HI ($\chi^2 = 0,07$, $p > 0,05$) (tabel 2). Hasil uji tersebut valid $\chi^2 = 10,7$, $p < 0,05$ dan $\chi^2 = 38,7$, $p < 0,05$.

Hasil uji ELISA pada 61 sera akut dan konvalesen menunjukkan rata-rata *index value* IgM 2,291 dan 3,337 masing-masing pada sera akut dan konvalesen. Rata-rata *index value* IgG adalah 1,244 dan 7,732 masing-masing pada sera akut dan konvalesen. Meskipun terlihat peningkatan titer IgM dan IgG pada sera

konvalesen, tetapi pada uji statistik peningkatan tersebut tidak bermakna $t = -1,286$, $p = 0,07$ dan $t = -1,111$, $p = 0,2$ (tabel 3).

Rata-rata *index value* IgM pada 12 sera akut dan konvalesen yang menunjukkan hasil negatif palsu pada uji RDT-Oncoprobe adalah 0,792 dan 4,481, dan rata-rata *index value* IgG adalah 0,684 dan 2,125. Peningkatan titer IgM dan IgG pada sera konvalesen bermakna $t = -3,908$, $p = 0,001$ dan $t = -3,313$, $p = 0,003$ (tabel 4).

Tabel 1. Hasil Uji HI dan RDT-Oncoprobe pada 61 Sera Tersangka DBD

Jenis uji		Positif primer	Positif sekunder	Negatif	Jumlah
HI		4 (6,5%)	48 (78,6%)	9 (14,75%)	61
RDT-Oncoprobe	Sera akut	10 (16,4%)	32 (52,4%)	19 (31,14%)	61
	Sera konvalesen	9 (14,75%)	44 (72,13%)	8 (13,11%)	61

Tabel 2. Hasil Uji HI dan RDT-Oncoprobe pada 61 Sera Akut dan Konvalesen

Jenis uji		Positif	Negatif	Jumlah
HI		52	9	61
RDT-Oncoprobe	Sera akut	42	19	61
	Sera konvalesen	53	8	61

Tabel 3. Rata-rata *index value* Hasil Uji ELISA pada 61 Sera Akut dan Konvalesen

	IgM (\pm SD)	IgG (\pm SD)
Sera akut	2,291 (\pm 2,961)	1,244 (\pm 1,013)
Sera konvalesen	3,337 (\pm 0,429)	7,732 (\pm 45,607)

Tabel 4. Rata-rata *Index Value* Hasil Uji ELISA pada 12 Sera Akut dan Konvalesen yang Menunjukkan Hasil Negatif Palsu pada uji RDT-Oncoprobe

	IgM (\pm SD)	IgG (\pm SD)
Sera akut	0,792 (\pm 1,223)	0,648 (\pm 0,926)
Sera konvalesen	4,481 (\pm 0,875)	2,125 (\pm 1,235)

Tabel 5. Validitas RDT-Oncoprobe dalam Menentukan Positif dan Negatif Penderita DBD

	Se (%[95%CI])	Sp (%[95%CI])	NDP (%[95%CI])	NDN (%[95%CI])	Akurasi (%[95%CI])	RKP	RKN
Sera akut	76,9 (76,8-77)	77,7 (77,6-77,8)	95,2 (95,45- 95,25)	36,8 (36,68- 36,92)	77,05 (76,95- 77,15)	0,28	3,36
Sera konvalesen	98,1 (98,07- 98,13)	77,77 (77,6-77,8)	96,2 (96,16- 96,24)	87,5 (87,42- 87,58)	95,1 (95,05- 95,15)	0,22	40,4

Dengan mengacu pada hasil HI, validitas RDT-Oncoprobe untuk menentukan seseorang positif dan negatif menderita DBD adalah sebagai berikut, pada sampel akut RDT-Oncoprobe mempunyai sensitifitas (Se) 76,9% (76,8-77), spesifisitas (sp) 77,7% (77,6-77,8), akurasi 77,05% (76,95-77,15), nilai duga positif (ndp) dan negatif (ndn) masing-masing 95,2% (95,45-95,25) dan 36,8% (36,68-36,92) hasil tersebut bermakna ($\chi^2 = 10,7$, $p < 0,05$) (tabel 5).

Pada sampel konvalesen RDT-Oncoprobe mempunyai sensitifitas (Se) 98,1% (98,07-98,13), spesifisitas (sp) 77,7% (77,6-77,8), akurasi 95,1% (95,05-95,15), nilai duga positif (ndp) dan negatif (ndn) masing-masing 96,2% (96,16-96,24) dan 87,5% (87,42-87,58) hasil tersebut bermakna ($\chi^2 = 38,74$, $p < 0,05$) (tabel 5).

Pembahasan

Tujuan dari pengembangan diagnosa cepat adalah untuk mendapatkan perangkat diagnosa yang dapat memutuskan seseorang sakit atau tidak dalam waktu secepat dan setepat mungkin, sehingga tindakan penanganan penderita dapat segera dilakukan dengan cepat dan tepat pula. Berkaitan dengan hal tersebut, hasil RDT-Oncoprobe pada sampel akut menunjukkan sensitifitas, spesifisitas dan akurasi uji kurang dari 80% dengan nilai duga positif 95,2% dan nilai duga negatif 36,8%. Hasil tersebut memberi indikasi bahwa sebagai perangkat diagnosis cepat RDT-Oncoprobe dapat menjangkit 76,9% penderita positif demam berdarah dan menyingkirkan 77,7% penderita tidak menderita infeksi dengue. Nilai duga positif bahwa penderita positif benar positif sebesar 95,2%, tetapi nilai duga negatif

yang menyatakan bahwa sera benar negatif hanya 36,8%, hal ini karena adanya kesalahan negatif palsu sebesar 12 dari 19 sera yang dinyatakan negatif oleh RDT-Oncoprobe. Kesalahan negatif palsu kemungkinan dapat disebabkan karena pada saat pengambilan darah dilakukan antibodi masih rendah, sehingga tidak cukup banyak untuk ditangkap antigen. Dari hasil ELISA *index value* rata-rata IgM dan IgG dari 12 sera tersebut masing-masing sebesar 0,792 ($\pm 1,223$) dan 0,648 ($\pm 0,926$), gambaran ini berbeda signifikan dengan *index value* rata-rata IgM dan IgG pada 40 sera dengan hasil positif benar, yaitu masing-masing sebesar 3,176 ($\pm 3,27$) dan 1,58 ($\pm 0,978$), dengan derajat kemaknaan $t = -2,459$, $p = 0,01$ dan $t = -2,927$, $p = 0,005$ (data tidak disajikan). Hal ini sesuai dengan yang dikatakan Innis bahwa IgM akan muncul pada sekitar 3-5 hari *onset* demam dan akan mencapai titer tertinggi pada 2 minggu pasca infeksi,⁹ kemudian disusul dengan meningkatnya IgG yang akan bertahan sampai 10 bulan pasca infeksi.¹⁰ Duabelas sera penderita di atas rata-rata diambil pada saat *onset* demam 3,5 hari, *onset* terpendek 1 hari dan *onset* terlama 7 hari, di mana pada saat itu titer IgM dan IgG belum memadai (data tidak disajikan). Kemungkinan lain karena terlalu kecilnya jumlah sampel negatif, mengingat sampel negatif hanya 9 sera, pada perhitungan sampel minimal diperlukan 28 sampel negatif penderita DBD.

Hasil RDT-Oncoprobe pada sampel konvalesen menunjukkan sensitifitas (Se) 98,1% (98,07-98,13), spesifisitas (sp) 77,7% (77,6-77,8), akurasi 95,1% (95,05-95,15), nilai duga positif (ndp) dan negatif (ndn) masing-masing 96,2% (96,16-96,24) dan 87,5% (87,42-87,58) (tabel 5). Hal ini dapat diterima, karena dengan perjalanan waktu, keadaan penderita sudah masuk pada fase

penyembuhan, akan diikuti dengan peningkatan antibodi. Titer IgM dan IgG meningkat bermakna pada 12 sera negatif palsu pada sera akut, di mana pada saat fase akut nilai *index value* masing-masing menunjukkan 0,792 (\pm 1,223) dan 0,648 (\pm 0,926), dan pada fase konvalesen masing-masing menjadi 4,481 (\pm 3,031) dan 2,125 (\pm 1,235), $t = -3,908$, $p = 0,001$ dan $t = -3,313$, $p = 0,003$ (tabel 4). Dengan meningkatnya titer IgM dan IgG, hasil uji RDT-Oncoprobe pada fase konvalesen menunjukkan nilai duga negatif yang lebih baik (tabel 5). Meskipun spesifisitas hanya 77,7% tetapi nilai duga bahwa penderita benar negatif 87,5%, yang menunjukkan bahwa penderita positif yang didiagnosis sebagai negatif (negatif palsu) lebih sedikit. Dari hasil ulasan tersebut menunjukkan, bahwa perangkat diagnosis dengan pendekatan *Ab captured* hasilnya sangat dipengaruhi oleh ketepatan waktu pengambilan sera penderita, mengingat kecepatan produksi antibodi (respon imun) pada setiap individu tidak semua sama. *Onset* demam sangat perlu dipertimbangkan pada hasil negatif, di samping itu pertimbangan keadaan klinis dan hasil laboratorium klinis (gambaran faktor-faktor pembeku darah) dapat dipakai sebagai faktor pendukung dalam mendiagnosis penderita DBD.

Kesimpulan

Hasil validasi menunjukkan bahwa RDT-Oncoprobe mempunyai sensitivitas, spesifisitas, akurasi yang baik namun kurang spesifik bila digunakan pada sera akut tersangka penderita DBD, tetapi menunjukkan validitas yang lebih baik bila digunakan pada sera konvalesen. Dari hasil ulasan menunjukkan, bahwa perangkat diagnosis dengan pendekatan *Ab captured* ketepatan waktu pengambilan sera penderita (*onset* demam) sangat perlu dipertimbangkan.

Ucapan Terima Kasih

Ucapan terimakasih kami sampaikan kepada Kepala Pusat Penelitian Biomedis dan Farmasi, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, yang telah memberikan kesempatan untuk melakukan uji ini.

Kepada Saudara Djoko Yuwono dan teman-teman Hastini, Farida Siburian, Siti Mariani Saragih, Dewi Parwati, penulis mengucapkan

terima kasih yang sebesar-besarnya atas segala bantuan dan dukungannya untuk kegiatan penelitian di laboratorium.

Kepada para para dokter dan paramedis di RSUD Koja dan RSUD Tarakan Jakarta; RSUD DR. Karyadi Semarang, RSUD Pirngadi Medan penulis mengucapkan terima kasih yang sebanyak-banyaknya atas semua bantuan dan partisipasinya dalam pengambilan spesimen sehingga penelitian ini dapat berjalan dengan baik.

Ucapan terimakasih kami sampaikan kepada PT. Oncoprobe Utama terutama dalam suplai kit rdt, sehingga tulisan ini dapat terwujud.

Daftar Pustaka

1. Muhareva Raekiansyah. Belajar dari Wabah Virus Dengue, <http://mikrobia.wordpress.com>.
2. Departemen Kesehatan RI; Direktorat Jenderal Pengendalian Penyakit dan Penyehatan Lingkungan, 2006. Rapat kerja Pemberantasan Penyakit Bersumber Binatang.
3. Dewi Susanti, Nugraheni Dwiari K, Novreny. Virus Dengue, <http://mikrobia.wordpress.com>.
4. Departemen Kesehatan RI, Direktorat Jenderal Pengendalian Penyakit dan Penyehatan Lingkungan, 2005. Pencegahan Dan Pemberantasan Demam Berdarah Dengue di Indonesia: hal. 8.
5. Lemeshow S, Hosmer DW, Klar J, Lwanga SK, 1990. Besar sampel dalam Penelitian Kesehatan (terjemahan) Gajah Mada University Press.
6. Brosur Dengue IgG/Ig M Antibodi Rapid Test (IR-113c) (PT ONCOPROBE UTAMA).
7. Dengue IgM Capture ELISA, Panbio Cat. No.E-DEN01M.
8. Dengue IgG Capture ELISA For Detection of Secondary Dengue Infection, Panbio Cat.No.E-DEN02G.
9. Innis BL, Nisalak A, Nimmannitya S, Kusalerdchariya S, Chongswasdi V, Suntayakorn S, Puttisri P, and Hoke CH,

1989. An enzyme-linked immunosorbent assay to characterize dengue infections where dengue and Japanese encephalitis co-circulate. *Am J Trop Med Hyg.* 40:418-427.

10. Gubler DJ, 1996. Serologic diagnosis of dengue/dengue haemorrhagic fever. *Dengue Bull.* 20:20-23.