

LAPORAN PENELITIAN

IDENTIFIKASI SEROTIPE DAN GENOTIPE VIRUS DENGUE

DARI DAERAH ENDEMIS DBD (LANJUTAN)



RENI HERMAN

PUSAT BIOMEDIS DAN TEKNOLOGI DASAR KESEHATAN

BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN KESEHATAN

KEMENTERIAN KESEHATAN

2012

Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan
PERPUSTAKAAN
 Tanggal : 17-6-2013
 No. Induk : _____
 No. Klass : Ps 1
35

Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan
PERPUSTAKAAN
 Tanggal : _____
 No. Induk : _____
 No. Klass : _____

LAPORAN PENELITIAN

**IDENTIFIKASI SEROTIPE DAN GENOTIPE VIRUS DENGUE
DARI DAERAH ENDEMIS DBD (LANJUTAN)**



RENI HERMAN

**PUSAT BIOMEDIS DAN TEKNOLOGI DASAR KESEHATAN
BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN KESEHATAN**

KEMENTERIAN KESEHATAN

2012

SUSUNAN TIM PENELITIAN

Tim Pusat

No	Nama	Jabatan Peneliti	Kedudukan dalam Tim	Uraian Tugas
1	dr. Reni Herman, MBIomed	Peneliti Pertama	Ketua Pelaksana	Bertanggung jawab untuk semua kegiatan penelitian
2	drg. Sekar Tuti, Mkes	Peneliti Madya	Penanggung jawab penelitian di RS	Bertanggung jawab untuk semua kegiatan penelitian di RS
3	Tedjo Sasmono, PhD	Peneliti Madya	Analisis hasil sekuensing	Melakukan analisis terhadap hasil pemeriksaan sekuensing
4	Dr. Lidwina, MKes	Peneliti Madya	Penanggung jawab penelitian di Jayapura	Memonitor kegiatan pengumpulan data RS di Jayapura
5	Dr. Lisa Adriani L	Peneliti (Non fungsional)	Pemeriksaan ELISA	Melakukan pemeriksaan ELISA
6	Benekditus Yohan, SSI	Peneliti (Non fungsional)	Pemeriksaan RT PCR	Melakukan pemeriksaan RT PCR
7	Agustiningsih, SSI	Peneliti (Non fungsional)	Pemeriksaan sekuensing	Melakukan pemeriksaan sekuensing
8	Hartanti Dian Ikawati, SSI	Peneliti (Non fungsional)	Pemeriksaan sekuensing	Melakukan pemeriksaan sekuensing
9	dr. Frans Dany	Peneliti (Non fungsional)	Analisis data klinis	Memeriksa dan bertanggung jawab atas data kelengkapan data klinis
10	Arie Ardiansyah	Pembantu peneliti	Pemeriksaan sekuensing	Melakukan pemeriksaan sekuensing
11	Sumamo	Pembantu Peneliti	Pemeriksaan RT PCR	Membantu pemeriksaan RT PCR
12	Farida	Pembantu Peneliti	Pemeriksaan ELISA	Membantu pemeriksaan ELISA
13	Fahim	Pembantu Peneliti	Persiapan alat	Membantu sterilisasi alat
14	Santono	Pembantu peneliti	Persiapan bahan	Membantu mempersiapkan bahan untuk penelitian
15	Kastrimin	Sekretariat Penelitian	Keuangan	Menyiapkan perlengkapan dan keuangan untuk kegiatan di RS
16	Rida Citahati, SE	Sekretariat Penelitian	Administrasi	Menyiapkan surat dan administrasi kegiatan di RS

Tim daerah

No	Nama	Jabatan Peneliti	Kedudukan dalam Tim	Uraian Tugas
1	Nurhasanah	Koordinator Samarinda	Koordinator penelitian di Samarinda	Membantu koordinasi penelitian di Samarinda
2	Dr. H.Mardiono.M,Kes.	Koordinator	Penanggung jawab kegiatan penelitian RSUD AW Sjahranie	Bertanggung jawab untuk kegiatan penelitian di RSUD AW Sjahranie
3	Dr. Nurliana Noor	Koordinator	Koordinator kegiatan penelitian	Membantu koordinasi kegiatan penelitian
4	Dr. Carta Gunawan, SpPD	Pembantu Peneliti	Dokter di bagian Penyakit Dalam	Mendiagnosis DBD dan merekrut subyek penelitian
5	Dr. Enni P, SpPD	Pembantu Peneliti	Dokter di bagian Penyakit Dalam	Mendiagnosis DBD dan merekrut subyek penelitian
6	Dr. Wahyu O. SpA	Pembantu Peneliti	Dokter di bagian Anak	Mendiagnosis DBD dan merekrut subyek penelitian
7	Dr. Usman L.	Pembantu Peneliti	Dokter di UGD	Mendiagnosis DBD dan merekrut subyek penelitian
8	Dr. Lily P Kalalo, SpPK	Pembantu Peneliti	Dokter Patologi Klinis	Bertanggung jawab untuk penyimpanan sampel dan data darah rutin
9	Saiful Anwar	Pembantu Peneliti	Perawat di Bagian Penyakit Dalam	Membantu follow up subyek penelitian
10	Kasmiati	Pembantu Peneliti	Perawat Bagian Penyakit Dalam	Membantu follow up subyek penelitian
11	Rizki Intan Friani	Pembantu Peneliti	Laboran	Memisahkan dan menyimpan serum
12	Swanti P	Pembantu Peneliti	Laboran	Memisahkan dan menyimpan serum
13	Nani AR	Pembantu Peneliti	Perawat Bagian Anak	Membantu follow up subyek penelitian
14	Rita Avianti	Pembantu Peneliti	Perawat Bagian Anak	Membantu follow up subyek penelitian
15	Dian Febri	Pembantu Peneliti	Perawat IGD	Membantu follow up subyek penelitian

16	Telda Banda, SKM	Koordinator	Koordinator penelitian di Manado	Membantu koordinasi penelitian di Manado
17	dr. Armenius R. Sondakh Sp THT-KL	Koordinator	Penanggung jawab penelitian di RSUP Prof Kandou	Bertanggung jawab untuk kegiatan penelitian di RSUP Prof Kandou
18	Drs. Jemmy Siwi, MSi	Koordinator	Koordinator kegiatan penelitian	Membantu koordinasi kegiatan penelitian
19	Dr. Agung Nugroho, SpPD	Pembantu Peneliti	Dokter Penyakit Dalam di RSUP Prof Kandou	Mendiagnosis DBD dan merekrut subyek penelitian
20	Dr. Meilisa Wantania	Pembantu Peneliti	Dokter Penyakit Dalam di RSUP prof Kandou	Mendiagnosis DBD dan merekrut subyek penelitian
21	Dr. Suryadi N.N Tatura, SpA (K)	Pembantu Peneliti	Dokter di Bagian Anak RSUP Prof Kandou	Mendiagnosis DBD dan merekrut subyek penelitian
22	Dr. Novie Rampengan, SpA	Pembantu Peneliti	Dokter di Bagian Anak RSUP Prof Kandou	Mendiagnosis DBD dan merekrut subyek penelitian
23	Dr. Hessyani P.T Raranta, SpPK	Pembantu Peneliti	Dokter Patologi Klinik	Bertanggung jawab untuk penyimpanan serum dan data darah rutin
24	Dr. Hildegardis Liando	Pembantu Peneliti	Dokter IGD RSUP Prof Kandou	Mendiagnosis DBD dan merekrut subyek penelitian
25	Abram Babakal, Skep.Ns	Pembantu Peneliti	Perawat Bagian Anak RSUP Prof Kandou	Membantu follow up subyek penelitian
26	Poppy Turang. Skep.Ns	Pembantu Peneliti	Perawat Bagian Anak RSUP Kandou	Membantu follow up subyek penelitian
27	Ceicilia Sengkeh, Skep.Ns	Pembantu Peneliti	Perawat Bagian Penyakit Dalam RSUP Prof Kandou	Membantu follow up subyek penelitian
28	Jerry Pandelaki, Skep.Ns	Pembantu Peneliti	Perawat Bagian Penyakit Dalam RSUP Prof Kandou	Membantu follow up subyek penelitian
29	Vecky M.V	Pembantu Peneliti	Laboran	Memisahkan dan menyimpan serum

	Wowiling,AMAK			
30	Irayanti, AMAK	Pembantu Peneliti	Laboran	Memisahkan serum
31	Amman Baher	Koordinator	Koordinator Penelitian di Ternate	Membantu koordinasi kegiatan penelitian di Ternate
32	Abdul Chalid Djamar, SSt, FT	Koordinator	Penanggung jawab Kegiatan Penelitian di RSUD Chasan Basoirie	Bertanggung jawab untuk kegiatan penelitian di RSUD Chasan Boesoirie
33	Husen Masabessy, Skep	Koordinator	Koordinator kegiatan penelitian	Membantu koordinasi kegiatan penelitian
34	Dr. Nani Harmaeni, SpA	Pembantu Peneliti	Dokter Bagian Anak	Mendiagnosis DBD dan merekrut subyek penelitian
35	Dr. Suhanto Hamid	Pembantu Peneliti	Dokter IGD RSUD Chasan Boesoirie	Mendiagnosis DBD dan merekrut subyek penelitian
36	Dr. Taha Albaar, SpPD	Pembantu Peneliti	Dokter Penyakit Dalam RSUD Chasan Boesoirie	Mendiagnosis DBD dan merekrut subyek penelitian
37	Dr. Eko Sudarmo, SpPD	Pembantu Peneliti	Dokter Penyakit Dalam RSUD Chasan Boesoirie	Mendiagnosis DBD dan merekrut subyek penelitian
38	Dr. Fasni Halil, SpPK	Pembantu Peneliti	Dokter Patologi Klinis RSUD Chasan Boesoirie	Bertanggungjawab untuk penyimpanan sampel serum dan data darah rutin
39	Aisyah	Pembantu Peneliti	Perawat Bagian Penyakit Dalam	Membantu follow up subyek penelitian
40	Rosmiyati Saleh, Amd.Kep	Pembantu Peneliti	Perawat Bagian Penyakit Dalam	Membantu follow up subyek penelitian
41	Salam Sabtu	Pembantu Peneliti	Perawat Bagian Anak	Membantu follow up subyek penelitian
42	Sita Raihana	Pembantu Peneliti	Perawat Bagian Anak	Membantu follow up subyek penelitian
43	Syafaruddin Rosman	Pembantu Peneliti	Laboran	Memisahkan dan menyimpan serum
44	Ridwan Hasan	Pembantu Peneliti	Laboran	Memisahkan dan menyimpan serum

45	Vira R	Pembantu Peneliti	Perawat IGD	Membantu follow up subyek penelitian
46	I Made Suparta Gapar	Koordinator	Koordinator Penelitian di Jayapura	Membantu koordinasi penelitian di Jayapura
47	Drg. Martinus Ginting, MKes	Koordinator RSUD Dok II	Penanggung Jawab Kegiatan Penelitian di RSUD Jayapura	Bertanggung jawab untuk kegiatan penelitian di RSUD Jayapura
48	Musnadi	Koordinator	Koordinator kegiatan penelitian	Membantu koordinasi kegiatan penelitian
49	Dr. Samuel Maripadang Baso, SpPD	Pembantu Peneliti	Dokter di Bagian Penyakit Dalam RSUD Jayapura	Mendiagnosis DBD dan merekrut subyek penelitian
50	Dr. Afifah, SpPD	Pembantu Peneliti	Dokter di Bagian Penyakit Dalam RSUD Jayapura	Mendiagnosis DBD dan merekrut subyek penelitian
51	Dr. Jacqueline Ruth Anet Ririhena, SpA	Pembantu Peneliti	Dokter di Bagian Anak RSUD Jayapura	Mendiagnosis DBD dan merekrut subyek penelitian
52	Dr. Renny Haryati, SpA	Pembantu Peneliti	Dokter di Bagian Anak RSUD Jayapura	Mendiagnosis DBD dan merekrut subyek penelitian
53	Dr. Juliwati Aronggear, MKes, SpPK	Pembantu Peneliti	Dokter Patologi Klinik RSUD Jayapura	Mendiagnosis DBD dan merekrut subyek penelitian
54	Dr. Rika Sari Ginting	Pembantu Peneliti	Dokter IGD RSUD Jayapura	Mendiagnosis DBD dan merekrut subyek penelitian
55	Sri Cendrakasih	Pembantu Peneliti	Perawat Bagian penyakit Dalam RSUD Jayapura	Membantu <i>follow up</i> subyek penelitian
56	Halimah Karamang	Pembantu Peneliti	Perawat Bagian Penyakit Dalam RSUD Jayapura	Membantu <i>follow up</i> subyek penelitian
57	Florentina Anitu	Pembantu Peneliti	Perawat Bagian Anak RSUD Jayapura	Membantu <i>follow up</i> subyek penelitian
58	Theresia Santi Anitu	Pembantu Peneliti	Perawat bagian anak RSUD Abepura	Membantu <i>follow up</i> subyek penelitian
59	Diana Singgih	Pembantu Peneliti	Laboran	Membantu memisahkan serum

60	Fransiska M	Pembantu Peneliti	Laboran	Membantu memisahkan serum
61	Hana Krimawati	Pembantu Peneliti	Teknisi	Menyimpan serum, memeriksa kelengkapan dan isi kuesioner serta mengirimkan sampel dan kuesioner



Dr. Rini Herwati

**KEMENTERIAN KESEHATAN RI
BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN KESEHATAN
PUSAT BIOMEDIS DAN TEKNOLOGI DASAR KESEHATAN**

Jalan Percetakan Negara No. 23 Jakarta 10560
Kotak Pos 1226 Jakarta 10012

Telepon (021) 42881758, 42881763, 42881762, 42881745
Fax (021) 42881754

**KEPUTUSAN
KEPALA PUSAT BIOMEDIS DAN TEKNOLOGI DASAR KESEHATAN
NOMOR: HK.03.05/III/750/2012**

TENTANG

PEMBENTUKAN TIM PELAKSANA PENELITIAN TAHUN 2012

KEPALA PUSAT BIOMEDIS DAN TEKNOLOGI DASAR KESEHATAN

MENIMBANG

- : a. bahwa untuk melaksanakan kegiatan penelitian pada Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan, perlu ditunjuk Tim Pelaksana Penelitian Tahun 2012;
- b. bahwa berdasarkan pertimbangan huruf a tersebut diatas, maka dipandang perlu menetapkan Keputusan Kepala Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan tentang Pembentukan Tim Pelaksana Penelitian Tahun 2012 sejumlah tujuh belas penelitian;

MENINGGAT

- : 1. Undang-Undang Nomor 23 Tahun 1992 tentang Kesehatan (Lembaran Negara Republik Indonesia tahun 1992 Nomor 100, Tambahan Lembaran Negara Republik Indonesia Nomor 3495);
2. Undang-undang Nomor 14 Tahun 2001 tentang Paten (Lembaran Negara Republik Indonesia Tahun 2002 Nomor 109, Tambahan Lembaran negara Republik Indonesia Nomor 4130);
3. Peraturan Pemerintah RI No. 39 Tahun 1995 tentang Penelitian dan Pengembangan Kesehatan (Lembaran Negara Tahun 1995 Nomor 67, Tambahan Lembaran Negara Nomor 3609);
4. Peraturan Pemerintah Nomor 20 Tahun 2005 tentang Alih Tehnologi Kekayaan Intelektual serta hasil Penelitian dan Pengembangan oleh Perguruan Tinggi dan Lembaga Penelitian dan Pengembangan (Lembaran Negara Tahun 2005 Nomor 43, Tambahan Lembaran Negara Nomor 4497);
5. Keputusan Menteri Kesehatan Nomor 791/Menkes/SK/VII/1999 tentang Koordinasi Penyelenggaraan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan;
6. Keputusan Menteri Kesehatan Nomor 1179A/Menkes/SK/X/1999 tentang Kebijakan Nasional Penelitian dan Pengembangan Kesehatan;
- Peraturan Presiden Nomor 47 Tahun 2009 tentang Pembentukan dan Organisasi Kementerian Negara.
7. Peraturan Menteri Kesehatan No. 1144/Menkes/Per/VIII/2010 tentang Organisasi dan Tata Kerja Kementerian Kesehatan;
8. Keputusan Menteri Kesehatan Republik Indonesia No.HK.03.054/11675/2011 tanggal 30 Desember 2011 tentang Penetapan Kuasa Pengguna Anggaran, Pejabat Pembuat Komitmen, Pejabat Penguji dan Penandatanganan SPM, Bendahara Pengeluaran dan Bendahara Penerimaan pada Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan di Jakarta tahun anggaran 2012;

MEMPERHATIKAN

- : 1. Daftar Isian Pelaksanaan Anggaran (DIPA) Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan tahun 2012 dengan No.0683/024-11.1.01/00/2012, tanggal 9 Desember 2011;



KEMENTERIAN KESEHATAN RI

BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN KESEHATAN

PUSAT BIOMEDIS DAN TEKNOLOGI DASAR KESEHATAN

Alan Percetakan Negara No. 23 Jakarta 10560
Cetakan Pos 1226 Jakarta 10012

Telepon (021) 42881758, 42881763, 42881762, 42881745
Fax (021) 42881754

MEMUTUSKAN

MENETAPKAN

KESATU

- 1) Membentuk Tim Pelaksana Penelitian Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan Tahun 2012 sebagaimana tercantum dalam lampiran keputusan ini;
- 2) Kepada Tim Pelaksana Penelitian pada Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan, Badan Litbang Kesehatan Tahun Anggaran 2012, dapat diberikan honorarium sebagaimana tersebut dalam lampiran 2 Keputusan ini;

KEDUA

- Tim Pelaksana Penelitian Tahun 2012 mempunyai tugas sebagai berikut:
- 1) Melaksanakan Penelitian pada Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan Tahun 2012, dengan susunan Tim seperti pada lampiran surat keputusan ini;
 - 2) Menyerahkan Laporan Kemajuan Penelitian, Laporan Pelaksanaan Penelitian dan Laporan Akhir Penelitian kepada Kepala Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan.

KETIGA

Dalam melaksanakan tugasnya, Tim bertanggungjawab kepada Kepala Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan serta wajib menyampaikan laporan akhir penelitian sebagai pertanggungjawaban kegiatan;

KEEMPAT

Biaya pelaksanaan kegiatan serta honor Tim Pelaksana Penelitian Tahun 2012 dibebankan pada anggaran DIPA Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan Tahun 2012;

KELIMA

Keputusan ini mulai berlaku sejak bulan Januari sampai dengan Desember 2012 dengan ketentuan apabila dikemudian hari ternyata terdapat kekeliruan dalam penetapan ini akan diadakan perbaikan dan perubahan sebagaimana mestinya.

Ditetapkan di : Jakarta
Pada tanggal : 6 Februari 2012

Kepala,

Drs. Ondri Dwi Sampurno, M.Si., Apt
NIP. 19621119 198803 100 1

Tembusan Yth:

1. Sekretaris Jenderal Kemenkes RI;
2. Inspektur Jenderal Kemenkes RI
3. Ketua Badan Pemeriksa Keuangan;
4. Kepala Badan Pengawasan Keuangan dan Pembangunan;
5. Kepala Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan;
6. Sekretaris Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan;
7. Kanwil Ditjen Anggaran Kemenkeu RI DKI Jakarta;
8. Para Kepala Pusat di Lingkungan Badan Litbang Kesehatan;
9. Kepala Bagian Tata Usaha Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan;
10. Kepala Bidang Biomedis, Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan;
11. Kepala Bidang Teknologi Dasar Kesehatan, Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan;
12. Bendaharawan Pengeluaran Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan;
13. Masing-masing yang bersangkutan untuk difaksanakan.



KEMENTERIAN KESEHATAN RI
BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN KESEHATAN
PUSAT BIOMEDIS DAN TEKNOLOGI DASAR KESEHATAN

Jalan Percetakan Negara No. 23 Jakarta 10560
Kotak Pos 1226 Jakarta 10012

Telepon (021) 42881758, 42881763, 42881762, 42881745
Fax. (021) 42881754

Lampiran 1
Keputusan Kepala Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar
Kesehatan
Nomor : HK.03.05/III/750/2012
Tanggal : 6 Februari 2012

SUSUNAN TIM PELAKSANA PENELITIAN TAHUN 2012

**IDENTIFIKASI SEROTIPE DAN GENOTIPE VIRUS DENGUE DARI DAERAH
ENDEMIS DBD (LANJUTAN)**

- | | |
|---------------------------------------|------------------------------------|
| 1. dr. Reni Herman, M.Biomed | : Peneliti Pertama/Ketua Pelaksana |
| 2. dr. Sekar Tuti, M.Kes | : Peneliti Madya |
| 3. Tedjo Sasmono, PhD | : Peneliti Madya |
| 4. dr. Lidwina, M.Kes | : Peneliti Madya |
| 5. dr. Lisa Andriani Linggonegoro | : Pembantu Peneliti |
| 6. Benediktus Yohan, S.Si | : Pembantu Peneliti |
| 7. Agustiningsih, S.Si | : Pembantu Peneliti |
| 8. Hartanti Dian Ikawati, S.Si | : Pembantu Peneliti |
| 9. dr. Frans Dany | : Pembantu Peneliti |
| 10. Arie Ardiansyah | : Pembantu Peneliti |
| 11. Sumarno | : Pembantu Peneliti |
| 12. Farida | : Pembantu Peneliti |
| 13. Fahim | : Pembantu Peneliti |
| 14. Santono | : Pembantu Peneliti |
| 15. Kastrifin | : Sekretariat Penelitian I |
| 16. Rida Citahati, SE | : Sekretariat Penelitian II |
| 17. Nurhasanah | : Koordinator |
| 18. Telda Banda, SKM | : Koordinator |
| 19. Ammar Baher | : Koordinator |
| 20. I Made Suparta Gapar | : Koordinator |
| 21. Deny Mabuai | : Koordinator |
| 22. dr. H. Mardiono, M.Kes | : Koordinator |
| 23. dr. Nurliana Noor | : Koordinator |
| 24. dr. Armenius R. Sondakh, SpTHT-KL | : Koordinator |
| 25. dr. Jemmy Siwi, M.Si | : Koordinator |
| 26. dr. Abdul Chalid Djamar, S.St, FT | : Koordinator |
| 27. Husen Masabessy, Skep | : Koordinator |
| 28. drg. Martinus Ginting, M.Kes | : Koordinator |
| 29. Musnadi | : Koordinator |
| 30. dr. J. Maurits Okoseray, MARS | : Koordinator |
| 31. drg. Aloysius Gyay, M.Kes | : Koordinator |
| 32. drg. Wahyu O, SpA | : Pembantu Peneliti |
| 33. dr. Usman L | : Pembantu Peneliti |
| 34. dr. Suryadi N.N Tatura, S(A(K) | : Pembantu Peneliti |
| 35. dr. Novie Rampengan, SpA | : Pembantu Peneliti |



KEMENTERIAN KESEHATAN RI
BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN KESEHATAN
PUSAT BIOMEDIS DAN TEKNOLOGI DASAR KESEHATAN

Jalan Percetakan Negara No. 23 Jakarta 10560
Kotak Pos 1226 Jakarta 10012

Telepon (021) 42881758, 42881763, 42881762, 42881745
Fax. (021) 42881754

- | | |
|--|---------------------|
| 36. dr. Nani Harmaeni, SpA | : Pembantu Peneliti |
| 37. dr. Suhanto Hamid | : Pembantu Peneliti |
| 38. dr. Jacqueline Ruth Anet Ririhena, SPA | : Pembantu Peneliti |
| 39. dr. Renny Haryati, SpA | : Pembantu Peneliti |
| 40. dr. Dwi Darmawan, SpA | : Pembantu Peneliti |
| 41. dr. Kusno Widiyanto | : Pembantu Peneliti |
| 42. dr. Carta Gunawan, SpPD | : Pembantu Peneliti |
| 43. dr. Enni P, SpPD | : Pembantu Peneliti |
| 44. dr. Agung Nugroho, SpPD | : Pembantu Peneliti |
| 45. dr. Meilisa Wantania | : Pembantu Peneliti |
| 46. dr. Taha Albaar, SpPD | : Pembantu Peneliti |
| 47. dr. Eko Sudarmo, SpPD | : Pembantu Peneliti |
| 48. dr. Samuel Maripadang Baso, SpPD | : Pembantu Peneliti |
| 49. dr. Afifah, SpPD | : Pembantu Peneliti |
| 50. dr. Oktavianus Peday, SpPD | : Pembantu Peneliti |
| 51. dr. Aris Musdianto | : Pembantu Peneliti |
| 52. dr. Lily P Kalalo, SpPK | : Pembantu Peneliti |
| 53. dr. Saiful Anwar | : Pembantu Peneliti |
| 54. dr. Hessyani P.T Raranta, SpPK | : Pembantu Peneliti |
| 55. dr. Hildegardis Liando | : Pembantu Peneliti |
| 56. dr. Fasni Halil, SpPK | : Pembantu Peneliti |
| 57. Aisyah | : Pembantu Peneliti |
| 58. dr. Djuliwati Aronggerar, M.Kes., SpPK | : Pembantu Peneliti |
| 59. dr. Rika Sari Ginting | : Pembantu Peneliti |
| 60. dr. Julius Dimalouw, SpPK | : Pembantu Peneliti |
| 61. dr. Wawan Satrio | : Pembantu Peneliti |
| 62. Kasmiasi | : Pembantu Peneliti |
| 63. Rizki Intan Friani | : Pembantu Peneliti |
| 64. Swanti P | : Pembantu Peneliti |
| 65. Nani AR | : Pembantu Peneliti |
| 66. Abram Babkal, Skep.Ns | : Pembantu Peneliti |
| 67. Poppy Turang | : Pembantu Peneliti |
| 68. Ceicilia Sengkeh, SKep.Ns | : Pembantu Peneliti |
| 69. Jerry Pandelaki, SKep.Ns | : Pembantu Peneliti |
| 70. Rosmiyati Saleh, Amd.Kep | : Pembantu Peneliti |
| 71. Salam Sabtu | : Pembantu Peneliti |
| 72. Sita Raihana | : Pembantu Peneliti |
| 73. Safaruddin Rosman | : Pembantu Peneliti |
| 74. Sri Cendrakasih | : Pembantu Peneliti |
| 75. Halimah Karamang | : Pembantu Peneliti |
| 76. Florentina Anitu | : Pembantu Peneliti |
| 77. Theresia Santi Anitu | : Pembantu Peneliti |
| 78. Andy Maramuy | : Pembantu Peneliti |
| 79. Monica Wanggai | : Pembantu Peneliti |
| 80. Linda Simriopiaref | : Pembantu Peneliti |



KEMENTERIAN KESEHATAN RI
BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN KESEHATAN
PUSAT BIOMEDIS DAN TEKNOLOGI DASAR KESEHATAN

Jalan Percetakan Negara No. 23 Jakarta 10560
Kotak Pos 1226 Jakarta 10012

Telepon (021) 42881758, 42881763, 42881762, 42881745
Fax. (021) 42881754

81. Franky Saloso	: Pembantu Peneliti
82. Dian Febri	: Pembantu Peneliti
83. Rita Avianti	: Pembantu Peneliti
84. Vecky M.V Wowiling, AMAK	: Pembantu Peneliti
85. Irayanti, AMAK	: Pembantu Peneliti
86. Ridwan Hasan	: Pembantu Peneliti
87. Vira R	: Pembantu Peneliti
88. Fransiska M	: Pembantu Peneliti
89. Diana Singgih	: Pembantu Peneliti
90. Hana Krimawati	: Pembantu Peneliti
91. Thomas Bagensa	: Pembantu Peneliti

Kepala,

Drs. Ondri Dwi Sampurno, M.Si., Apt
NIP. 19621119 198803 100 1



KEMENTERIAN KESEHATAN RI
BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN KESEHATAN
PUSAT BIOMEDIS DAN TEKNOLOGI DASAR KESEHATAN

Jalan Percetakan Negara No. 23 Jakarta 10560
Kotak Pos 1226 Jakarta 10012

Telepon (021) 42881758, 42881763, 42881762, 42881745
Fax. (021) 42881754

Lampiran 2
Keputusan Kepala Pusat Biomedis dan Teknologi
Dasar Kesehatan

Nomor : HK.03.05/III/750/2012

Tanggal : 6 Februari 2012

JUDUL PENELITIAN : IDENTIFIKASI SEROTIPE DAN GENOTIPE VIRUS DENGUE DARI
DAERAH ENDEMIS DBD (LANJUTAN)

JUMLAH HONOR TIM PELAKSANA PENELITIAN TAHUN 2012

1. Koordinator Peneliti	Jumlah honor yang diterima setiap bulan sebesar	=Rp.	420.000
2. Peneliti Manula	Jumlah honor yang diterima per-jam, per-minggu sebesar	=Rp.	50.000
3. Peneliti Pertama	Jumlah honor yang diterima per-jam, per-minggu sebesar	=Rp.	35.000
4. Peneliti Non Fungsional	Jumlah honor yang diterima per-jam, per-minggu sebesar	=Rp.	20.000
5. Pembantu Peneliti	Jumlah honor yang diterima per-jam, per-minggu sebesar	=Rp.	20.000
6. Sekretariat Penelitian	Jumlah honor yang diterima setiap bulan sebesar	=Rp.	300.000

Kepala,

Drs. Ondri Dwi Sampurno, M.Si., Apt
NIP. 196211191988031001

KATA PENGANTAR

Puji syukur kami panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa, karena atas berkah dan rahmat-Nya kami dapat menyelesaikan laporan ini. Semoga laporan hasil penelitian ini dapat digunakan sebagai salah satu acuan dalam pemberantasan demam berdarah dengue.

Kami mengakui laporan ini masih banyak kekurangan. Oleh karena itu masukan untuk perbaikan laporan ini sangat kami harapkan

Akhir kata, kami sampaikan terima kasih kepada semua pihak yang telah berperan serta dalam penyusunan laporan ini. Semoga Allah SWT senantiasa meridhai segala usaha kita. Amin.

Jakarta, Januari 2013

Penyusun

RINGKASAN EKSEKUTIF

Di Indonesia penyakit Demam Berdarah Dengue (DBD) sampai saat ini masih merupakan masalah kesehatan masyarakat, sejak tahun 1986 penyakit ini penyebarannya cenderung meluas dan jumlah kasus cenderung meningkat dari tahun ke tahun, terutama di kota-kota besar seperti Jakarta.

Dari hasil penelitian terhadap kasus epidemi DBD tahun 2004, infeksi virus dengue 3 sangat berkaitan dengan kasus DBD berat dan merupakan serotipe yang paling luas distribusinya disusul dengan dengue-2, dengue-1 dan dengue-4. Beberapa observasi mengindikasikan terjadi evolusi genetik virus yang dapat menghasilkan varian-varian yang lebih virulen.

Berdasarkan hasil penelitian tersebut di atas serta guna mendukung rencana penggunaan vaksin untuk pencegahan DBD, akan dilakukan pemetaan distribusi virus dengue yang ada di beberapa daerah untuk mengidentifikasi serotipe dan genotipe virus dengue yang ada di Indonesia. Pemeriksaan genotipe akan dilakukan pada gen selubung virus (gen E) dan keseluruhan genom virus. Kegiatan ini akan dilakukan pada sepuluh kabupaten/kota yang merupakan sasaran program pengendalian demam berdarah dengue (DBD). Oleh karena membutuhkan biaya yang besar maka akan dilakukan secara bertahap.

Pada tahun 2008 telah dilakukan identifikasi serotipe virus dengue untuk kawasan Barat, yaitu Medan, Pontianak dan Jakarta. Berdasarkan hasil pemeriksaan ditemukan keempat serotipe virus dengue bersirkulasi di kota tersebut. Penderita DBD yang dirawat di rumah sakit mayoritas terinfeksi oleh virus dengue serotipe 2 dan 3. Sedangkan di Jakarta mayoritas dengue serotipe 3, disusul dengan dengue serotipe 1 dan 2. Pada tahun 2009 telah dilakukan identifikasi serotipe virus dengue dari kota Kupang. Mayoritas penderita DBD yang dirawat di Rumah Sakit terinfeksi virus dengue serotipe 2 dan 3.

Pada tahun 2012 dilaksanakan identifikasi serotipe virus dengue untuk kawasan Tengah dan Timur Indonesia yaitu Balikpapan, Manado, Ternate dan Jayapura. Juga akan dilakukan identifikasi gen E dan NS1. Sampel yang telah dikumpulkan sebelumnya berasal dari lima kabupaten/kota yang mewakili propinsi di Indonesia, yaitu Medan (Sumatera Utara), Pontianak (Kalimantan Barat), Jakarta (DKI Jakarta), Kupang (Nusa Tenggara Timur) dan Ciamis (Jawa Barat).

Secara keseluruhan pemeriksaan yang dilakukan adalah ELISA untuk konfirmasi diagnosis, RT-PCR untuk identifikasi virus dan serotipe, serta pemeriksaan sekuensing pada gen E dan NS1. Primer yang akan digunakan adalah primer yang sudah pernah digunakan untuk sekuensing

sampel DBD di Indonesia tahun 2004. Analisis hasil berupa data klinis maupun hasil pemeriksaan laboratorium.

Oleh karena tidak mungkin untuk mendapatkan sampel dari kasus demam berdarah dengue di kota Manokwari diputuskan untuk pindah lokasi penelitian ke kota Sorong. Namun, karena waktu yang tersisa hanya 2 bulan dan dikhawatirkan jumlah target jumlah sampel tidak terkumpul, maka pengumpulan sampel dari kota Sorong dibatalkan.

Berdasarkan data tren jumlah kasus dari kota Ternate dan kota Jayapura, tidak mungkin untuk mendapatkan jumlah sampel hingga 120. Oleh karena itu, target jumlah sampel dari kota Ternate dan Jayapura diturunkan menjadi masing-masing 60. Sehingga target jumlah sampel di akhir penelitian menjadi 660.

Hingga akhir penelitian jumlah sampel yang terkumpul sebanyak 660, terdiri dari 270 dari Samarinda, 270 dari Manado, 60 dari Ternate dan 60 dari Jayapura. Hasil pemeriksaan laboratorium menunjukkan 63 % penderita merupakan infeksi sekunder. Virus dengue serotipe 1,2,3 dan 4 ditemukan di Samarinda dan Manado, sementara di Ternate dan Jayapura serotipe 2 dan 3. Tidak ada perbedaan gejala klinis antara infeksi virus dengue serotipe 1, 2, 3 dan 4. Pemeriksaan sekuensing masih harus menunggu optimasi karena menggunakan primer yang baru.

ABSTRAK

Demam berdarah dengue (DBD) adalah penyakit yang disebabkan oleh infeksi virus dengue. Dari hasil penelitian terhadap kasus epidemi DBD tahun 2004, infeksi virus dengue 3 sangat berkaitan dengan kasus DBD berat dan merupakan serotipe yang paling luas distribusinya disusul dengan dengue-2, dengue-1 dan dengue-4. Beberapa observasi mengindikasikan terjadi evolusi genetik virus yang dapat menghasilkan varian-varian yang lebih virulen. Berdasarkan hasil penelitian tersebut di atas serta guna mendukung rencana penggunaan vaksin untuk pencegahan DBD, dilakukan pemetaan distribusi virus dengue yang ada di beberapa daerah untuk mengidentifikasi serotipe dan genotipe virus dengue yang ada di Indonesia.

Sampel penderita diperoleh dari kasus demam dengue dan DBD dari Rumah Sakit di Samarinda, Manado, Ternate dan Jayapura. Penderita yang bersedia berpartisipasi diambil darah serta dicatat gejala klinisnya. Darah dipisahkan serumnya dan disimpan di freezer rumah sakit. Setelah terkumpul akan diperiksa di Laboratorium virology Litbangkes. Pemeriksaan yang dilakukan adalah ELISA untuk deteksi antibody, RT PCR untuk identifikasi virus. Serum yang positif ada virus dengue dilanjutkan dengan pemeriksaan sekuensing, untuk gen E dan NS1.

Jumlah keseluruhan sampel yang terkumpul pada penelitian ini adalah 660, terdiri dari 270 dari Samarinda, 270 dari Manado, 60 dari Ternate dan 60 dari Jayapura. Hasil pemeriksaan laboratorium menunjukkan 63 % penderita merupakan infeksi sekunder. Virus dengue serotipe 1,2,3 dan 4 ditemukan di Samarinda dan Manado, sementara di Ternate dan Jayapura serotipe 2 dan 3. Tidak ada perbedaan gejala klinis antara infeksi virus dengue serotipe 1, 2, 3 dan 4.

DAFTAR ISI

SUSUNAN TIM PENELITI.....	i
SURAT KEPUTUSAN PENELITIAN.....	vii
KATA PENGANTAR.....	xiii
RINGKASAN EKSEKUTIF.....	xiv
ABSTRAK.....	xvi
DAFTAR ISI.....	xvii
DAFTAR GAMBAR.....	xviii
DAFTAR TABEL.....	xix
DAFTAR LAMPIRAN	xx
DAFTAR RINGKASAN.....	xxi
I. PENDAHULUAN.....	1
II. TINJAUAN PUSTAKA.....	3
A. Epidemiologi Dengue.....	3
B. Aspek Biologi virus dengue.....	8
C. Genetika.....	12
D. Patogenesis.....	17
III. TUJUAN DAN MANFAAT.....	22
IV. METODE.....	23
V. PERTIMBANGAN IZIN PENELITIAN.....	42
VI. HASIL PENELITIAN.....	43
VII. PEMBAHASAN.....	57
VIII. KESIMPULAN	61
IX. SARAN.....	62
X. UCAPAN TERIMA KASIH.....	62
XI. DAFTAR RUJUKAN	63

Daftar Gambar

Gambar 1. Distribusi global virus dengue, mengindikasikan serotipe dan genotipe virus...	3
Gambar 2. Distribusi <i>Aedes aegypti</i> dan aktivitas dengue.....	5
Gambar 3. Struktur virion Flavivirus yang matur.....	11
Gambar 4. Struktur imatur dan matur virion flavivirus.....	12
Gambar 5. Organisasi genom virus dengue.....	13
Gambar 6. Siklus replikasi Flaviviridae.....	15
Gambar 7. Alur Penelitian.....	24
Gambar 8. Urutan strategi sekuensing yang dilakukan untuk mendapatkan genom virus.	40
Gambar 9. Tren kasus DBD di kota Samarinda.....	43
Gambar 10. Tren Kasus DBD di kota Manado.....	44
Gambar 11. Tren kasus DBD di kota Ternate.....	46
Gambar 12. Tren kasus DBD di kota Jayapura.....	47

Daftar Tabel

Tabel 1. Klasifikasi virus dengue berdasarkan genotipe E	7
Tabel 2. Definisi kasus Demam Berdarah Dengue.....	21
Tabel 3. Klasifikasi tingkat keparahan infeksi dengue.....	22
Tabel 4. Primer serotyping.....	32
Tabel 5. Primer Genotyping.....	36
Tabel 6. Distribusi sampel Samarinda.....	45
Tabel 7. Distribusi sampel dari Manado.....	46
Tabel 8. Distribusi sampel dari Ternate.....	48
Tabel 9. Distribusi sampel dari Jayapura.....	49
Tabel 10 . Gambaran klinis confirm infeksi dengue.....	49
Tabel 11. Gambaran klinis infeksi dengue pada anak.....	50
Tabel 12. Gambaran klinis infeksi dengue pada dewasa.....	51
Tabel 13. Gambaran klinis infeksi primer pada anak.....	51
Tabel 14. Gambaran klinis infeksi sekunder pada anak.....	52
Tabel 15. Gambaran klinis infeksi primer pada dewasa.....	52
Tabel 16. Gambaran klinis infeksi sekunder pada dewasa.....	53
Tabel 17. Status hematologi penderita confirm infeksi dengue.....	53
Tabel 18. Serotipe virus dari Samarinda.....	54
Tabel 19. Serotipe virus dari Manado.....	54
Tabel 20. Serotipe virus dari Ternate.....	54
Tabel 21. Serotipe virus dari Jayapura.....	54
Tabel 22. Gambaran klinis infeksi dengue serotipe 1.....	55
Tabel 23. Gambaran klinis pada infeksi dengue serotipe 2.....	55

Tabe 24. Gambaran infeksi dengue serotype 3.....56
Tabel 25. Gambaran infeksi dengue serotipe 4.....56

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. SOP Perekrutan Subyek Penelitian.....64
Lampiran 2. SOP Pemisahan Serum.....65
Lampiran 3. Formulir penjelasan dan persetujuan peserta penelitian.....66

DAFTAR SINGKATAN

ADE	= Antibody dependent enhancement
CFR	= Crude Fatality Rate
CMV	= Cytomegalovirus
DBD	= Demam Berdarah Dengue
DENV	= Virus dengue
DF	= Dengue Fever
DHF	= Dengue Haemorrhagic Fever
DMSO	= Dimethyl sulphoxide
DSS	= Dengue Shock Syndrom
FBS	= Foetal Bovine serum
HI	= Haemaglutination Inhibition
HIV	= Human Immunodeficiency Syndrom
IgG	= Immunoglobulin G
IL	= Interleukin
IFN	= Interferon
RNA	= Ribonucleic Acid
SLE	= St Louis Encephalitis
TBE	= Tick Borne Encephalitis
TNF	= Tumor Necrosis Factor
UTR	= Untranslated Region
WHO	= World Health Organisation

I. PENDAHULUAN

Di Indonesia penyakit Demam Berdarah Dengue (DBD) sampai saat ini masih merupakan masalah kesehatan masyarakat, sejak tahun 1986 penyakit ini penyebarannya cenderung meluas dan jumlah kasus cenderung meningkat dari tahun ke tahun, terutama di kota-kota besar seperti Jakarta. Jumlah kasus DBD secara nasional sejak tahun 1990 sampai 2006 menunjukkan adanya peningkatan. Pada tahun 1990 dilaporkan sebanyak 22.807 kasus DBD dan 821 diantaranya meninggal (CFR = 3,60%), kemudian pada tahun 1991, 1992, 1993, 1994, 1995, 1996, dan 1997 dilaporkan ber turut-turut 21.120 kasus dengan jumlah kematian 578 (CFR = 2,74%), 17.620 kasus dengan jumlah kematian 509 (CFR = 2,89%), 17.418 kasus dengan jumlah kematian 418 (CFR = 2,40%), 18.783 kasus dengan jumlah kematian 471 (CFR = 2,51%), 35.102 kasus dengan jumlah kematian 884 (CFR = 2,52), 16.517 kasus dengan jumlah kematian 1.192 (CFR = 2,67%) dan 30.730 kasus dengan jumlah kematian 681 (CFR=2,22%).¹ Pada kejadian luar biasa (KLB) tahun 1998 dilaporkan angka kesakitan pada 72.133 penderita, dan 1.414 diantaranya meninggal (CFR = 1,96%). Kejadian ini diduga merupakan puncak siklus lima tahunan, karena pada tahun 1999 terjadi penurunan angka kesakitan menjadi 21.134 penderita dengan 422 kematian (CFR= 1,99%). Akan tetapi pada periode selanjutnya dari tahun 2000 sampai 2006 jumlah kasus DBD terus meningkat, namun CFR cenderung menurun. Pada tahun 2000 angka kesakitan sebesar 33.443 dengan 472 kematian (CFR = 1,41%), terus meningkat menjadi 80.837 penderita dengan kematian 1.099 (CFR = 1,35%) pada tahun 2005, dan menjadi 111.730 penderita dengan jumlah kematian 1.162 (CFR = 1,04%) pada tahun 2006.² Berdasarkan datatersebut di atas, terlihat bahwa angka CFR masih di atas standar nasional yaitu < 1%.

Dari hasil penelitian terhadap kasus epidemi DBD tahun 2004, infeksi virus dengue-3 (DV-3), sangat berkaitan dengan kasus DBD berat dan merupakan serotipe yang paling luas distribusinya disusul dengan Dengue-2, Dengue-1 dan Dengue-4. Beberapa observasi mengindikasikan bahwa kemungkinan terjadi evolusi genetik virus yang dapat menghasilkan varian-varian yang lebih virulen. Keadaan ini dapat menimbulkan variasi sifat imunogenik ataupun virulensi virus.³⁻⁶

Berdasarkan hasil penelitian tersebut di atas, dan sedikitnya informasi genetik virus dengue yang ada di Indonesia serta guna mendukung rencana penggunaan vaksin untuk pencegahan DBD, kami merencanakan pemetaan distribusi virus Dengue yang ada di beberapa daerah untuk mengidentifikasi serotipe dan genotipe virus Dengue yang ada di Indonesia, serta memonitor munculnya genotipe baru. Identifikasi genotipe akan dilakukan pada gen selubung (gen E) untuk menentukan strain virus dan mengidentifikasi keseluruhan genom virus. Kegiatan ini dilakukan di sepuluh kabupaten/kota yang memiliki kasus DBD beberapa tahun terakhir. Oleh karena kegiatan ini membutuhkan biaya yang besar maka kami mencoba melakukannya secara bertahap.

Pada tahun 2008 telah dilakukan identifikasi serotipe virus Dengue untuk kawasan Barat, yaitu Medan, Pontianak dan Jakarta. Berdasarkan hasil pemeriksaan ditemukan keempat serotipe virus dengue bersirkulasi di kota tersebut. Penderita DBD yang dirawat di rumah sakit mayoritas terinfeksi oleh virus dengue serotipe 2 dan 3. Sedangkan di Jakarta mayoritas dengue serotipe 3, disusul dengan dengue serotipe 1 dan 2. Pada tahun 2009 telah dilakukan identifikasi serotipe virus dengue dari kota Kupang. Berdasarkan hasil pemeriksaan terhadap serum penderita DBD yang dirawat di Rumah Sakit, mayoritas terinfeksi virus dengue serotipe 2 dan 3.

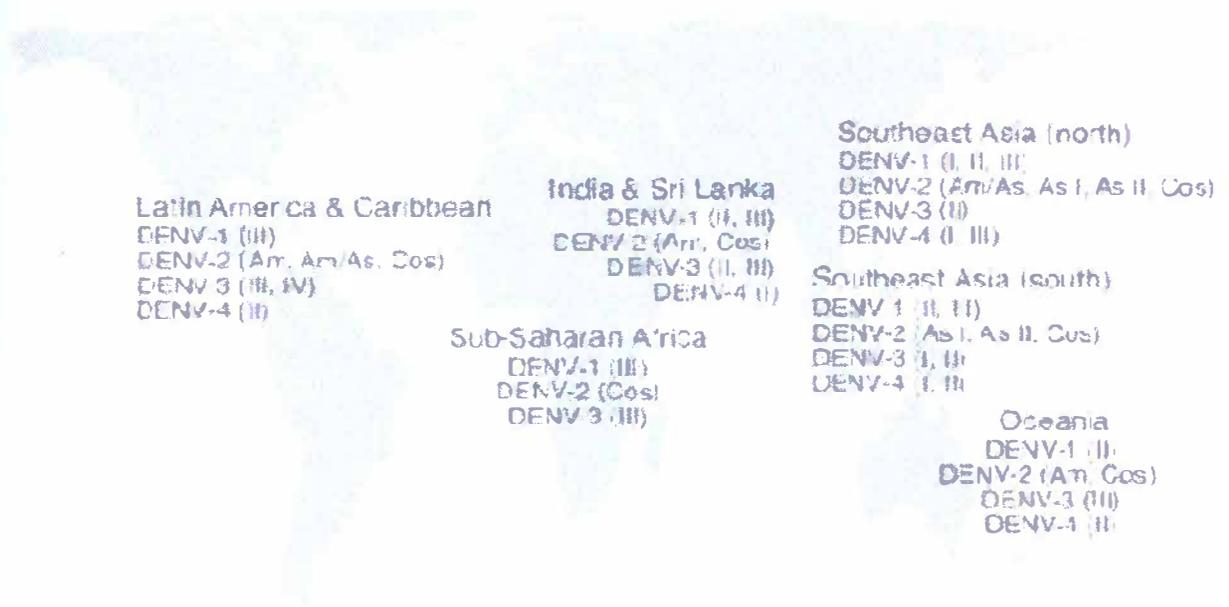
Pada tahun 2012 dilaksanakan identifikasi serotipe virus dengue untuk kawasan Tengah dan Timur Indonesia yaitu Samarinda, Manado, Ternate dan Jayapura. Juga dilakukan identifikasi gen selubung virus dari sampel yang telah dikumpulkan sebelumnya. Sampel yang telah dikumpulkan sebelumnya berasal dari lima kabupaten/kota yang mewakili propinsi di Indonesia, yaitu Medan (Sumatera Utara), Pontianak (Kalimantan Barat), Jakarta (DKI Jakarta), Kupang (Nusa Tenggara Timur) dan Ciamis (Jawa Barat). Pada penelitian ini identifikasi gen fokus pada gen E dan NS1.

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Epidemiologi Dengue

Sebaran Global

Kejadian luar biasa demam dengue sudah dilaporkan dari setiap benua.⁷ Epidemiologi pertama kali yang dicatat terjadi pada tahun 1779 di Batavia (Jakarta) dan Cairo. Ketika itu penyakit dengan gejala seperti dengue ini terjadi secara simultan. Setelah itu, kejadian luar biasa dilaporkan juga di Philadelphia, Zanzibar, Calcutta, India Barat dan Hongkong. Epidemio demam dengue menjangkiti ratusan hingga ribuan kasus setiap tahunnya di Asia Tenggara, dimana keempat serotipe dapat ditemukan di wilayah ini. (Gambar 1) Setelah perang dunia kedua muncul pola endemik terbaru penyakit ini, diikuti dengan meningkatnya insiden komplikasi dari demam dengue (DHF dan DSS) di Asia.⁸



Gambar 1. Distribusi global virus dengue, mengindikasikan serotipe dan genotipe virus

[Sumber: Holmes EC. 2009]

Virus Dengue (DENV) dapat ditemukan di daerah tropis dan subtropis, sesuai dengan kondisi ekologi yang diperlukan untuk mempertahankan siklus alami virus. Virus Dengue ditularkan oleh nyamuk, yang secara prinsip adalah *Aedes aegypti*. Tetapi, pada beberapa

daerah yang berperan adalah *Aedes albopictus* dan *Aedes polynesiensis*. Vektor nyamuk akan menularkan virus setelah menghisap darah dari penderita yang terinfeksi virus ini. Setelah 10-12 hari virus berada di dalam tubuh vektor, nyamuk ini akan menjadi infeksius sepanjang hidupnya.⁹

Virus dengue saat ini telah bertransmisi pada lebih dari 100 negara, WHO memprediksi terjadi 50-100 juta kasus infeksi virus dengue setiap tahunnya. Lebih dari 500.000 kasus memerlukan perawatan di Rumah Sakit dan lebih dari 15.000 meninggal.¹⁰

Sebaran di Indonesia

Di Indonesia, penyakit demam berdarah dengue merupakan salah satu masalah kesehatan karena setiap tahun angka kesakitan dan kematian yang ditimbulkannya cukup tinggi. Pengamatan sejak tahun 1968 tampak bahwa jumlah kabupaten kota dengan terdapatnya kasus demam berdarah dengue terus meningkat. Hingga tahun 2008, hampir semua provinsi di Indonesia sudah ditemukan DBD. Pada tahun 2007, jumlah kejadian DBD mencapai total 139.695 kasus (*incidence rate* 64 kasus per 100.000 populasi) dengan total meninggal mencapai 1.395 kasus (CFR 1%). Keadaan DBD tahun 2007 ini meningkat lebih tinggi dibandingkan dengan keadaan pada tahun-tahun sebelumnya.¹¹

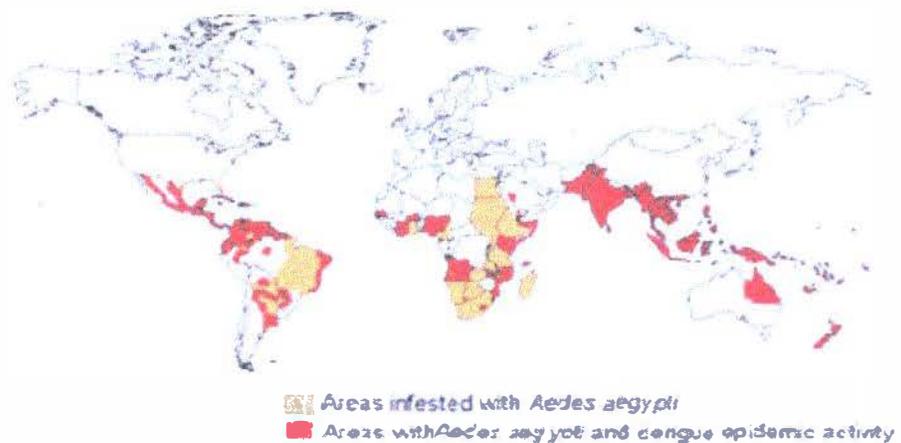
Dari beberapa catatan kejadian luar biasa demam dengue dan demam berdarah dengue sejak tahun 1968 di Indonesia, tampak adanya perubahan epidemiologi. Perubahan tersebut berupa siklus 5 tahunan menjadi fenomena tahunan. Selain itu distribusi umur yang terinfeksi didominasi oleh anak, pada beberapa tahun belakangan mulai didominasi oleh remaja dan dewasa. Keempat serotipe virus dengue ditemukan pada kejadian luar biasa yang sudah tercatat dari hampir semua provinsi di Indonesia, namun virus dengue 2 dan dengue 3 merupakan serotipe yang jumlahnya lebih menonjol dibandingkan dengan serotipe yang lain. Dalam beberapa dekade penyakit dengue telah menyebabkan 400 kematian tiap tahunnya, namun dengan pemberian terapi suportif, jumlah case fatality rate (CFR) terus menurun.^{12,13} Hingga tahun 2008, CFR demam berdarah di Indonesia 0,86 dengan angka yang bervariasi pada tiap-tiap provinsi.¹⁴

Faktor yang berpengaruh terhadap penyebaran

Meningkatnya insiden demam berdarah dengue yang dilaporkan disebabkan oleh adanya perubahan, baik pada manusia maupun terhadap ekologi vektor.¹⁴

Pada daerah yang terisolasi, epidemi terjadi akibat terdapatnya tipe baru. Oleh karena demam dengue biasanya tidak memberikan gejala yang khas (subklinik) banyak kasus yang tidak dilaporkan. Perubahan lingkungan dapat menyebabkan meningkatnya infeksi pada manusia dan memicu timbulnya kejadian luar biasa. Setelah perang dunia kedua, secara perlahan penyakit yang ditularkan oleh nyamuk *Aedes* ini mulai menyebar. Keadaan ini mungkin berkaitan dengan perpindahan penduduk besar-besaran, dan kebetulan juga meningkatnya densitas nyamuk *Aedes aegypti* seiring dengan mudahnya transpor darat dan udara serta cepatnya perpindahan kasus yang terinfeksi.¹⁵ Hingga kini, jumlah negara dan kasus infeksi oleh virus dengue mulai meningkat dan menjadi salah satu masalah kesehatan di dunia. (Gambar 2)

World Distribution of Dengue - 2005



Gambar 2. Distribusi *Aedes aegypti* dan aktivitas dengue [Sumber: CDC]

Faktor yang berperan dalam letupan

Pada daerah hiperendemik di Asia Tenggara lebih dari setengah anak-anak pernah terinfeksi oleh satu atau lebih serotipe virus dengue. Di daerah tropis, epidemi cenderung terjadi selama musim hujan. Meskipun meningkatnya curah hujan menyebabkan penyebaran vektor nyamuk, insiden penyakit pada manusia tidak berhubungan erat dengan densitas populasi vektor. Faktor lain (terutama meningkatnya temperatur yang mempersingkat masa inkubasi virus dengue pada vektor) seperti ini menjadi lebih penting.¹⁴

Beberapa faktor penting lain yang berperan dalam menimbulkan letupan kasus dengue, adalah banyaknya nyamuk *Aedes aegypti* di pemukiman padat penduduk. Kedua, tidak efektifnya kontrol nyamuk di daerah endemik DBD. Ketiga adalah perubahan demografi, dimana tidak terkontrolnya pertumbuhan penduduk dan urbanisasi yang tidak terencana. Perubahan demografi ini mengakibatkan munculnya rumah-rumah yang tidak sesuai standar, sumber serta saluran air dan manajemen sampah yang tidak adekuat di pemukiman penduduk urban. Genangan air pada sampah-sampah ini merupakan habitat ideal bagi *Aedes aegypti* sebagai vektor utama dalam penyebaran virus dengue.^{7,16}

Epidemiologi molekuler dan evolusi virus

Pola filogenetik dan sekuen nukleotida dari gen E membagi masing-masing serotype ke dalam beberapa genotipe E yang secara umum berhubungan dengan asal geografi. Tabel 1.

Tabel 1. Klasifikasi virus dengue berdasarkan genotipe E

Virus	Genotipe	Distribusi Geografi
Dengue tipe 1	I	Jepang (isolat tunggal, 1943), Hawaii (isolat tunggal, 1944), Thailand, Indonesia, Filipina, Taiwan, Pasifik Selatan
	II	Thailand, Malaysia, Burma, Afrika Barat, Amerika (masuk tahun 1977)
Dengue tipe 2	I	New Guinea (prototipe), Sri Lanka (sebelum tahun 1969), Filipina, Taiwan, Thailand, Malaysia, Cina, Amerika ("topotipe Jamaika" masuk tahun 1981)
	II	Seychelles, Sri Lanka, Afrika (masuk ke Afrika Timur tahun 1980-1981), Indonesia, Saudi Arabia
	III	India, Pasifik Selatan, Amerika ("topotipe Puerto Rico" masuk tahun 1969)
	IV	Afrika Barat
Dengue tipe 3	I	Filipina, Indonesia, Malaysia, Pasifik Selatan (1980-an)
	II	Thailand
	III	Sri Lanka, India, Afrika
	IV	Pasifik Selatan (1960-an), Amerika (1960-an, 1970-an)
Dengue tipe 4	I	Indonesia, Pasifik Selatan, Amerika
	II	Thailand, Filipina

[Sumber: Monath & Heinz. 1996].

Analisis genetik dari masing-masing strain diduga juga memberikan variasi dalam hal virulensi virus. Pembagian genotipe ini dapat juga digunakan untuk menentukan asal virus penyebab epidemi. Untuk serotipe 2 dan 3 yang berasal dari Asia Tenggara dan genotipe yang berasal dari benua dimana India berada, diidentifikasi sebagai penyebab kejadian luar biasa kasus DHF dan atau DSS, serta banyaknya kasus infeksi primer dengan derajat penyakit yang berat.¹⁷

Vektor nyamuk pada infeksi Dengue

Nyamuk dengan genus *Aedes* (*Aedes aegypti*, *Aedes albopictus* dan *Aedes polynesiensis*) mempunyai peran penting dalam transmisi virus dengue. Namun vektor yang paling penting adalah *A. aegypti*. Sedangkan peran *A. albopictus* dan *A. Polynesiensis* sebagai vektor tergantung pada geografi tertentu.

A. aegypti hidup di daerah tropis dan subtropis. Nyamuk ini dapat berkembang pada air yang terpolusi atau air yang tergenang dalam jumlah yang sedikit. Telur dapat bertahan lama, karena tahan terhadap pengeringan. Meningkatnya populasi larva terlihat pada musim hujan. Perubahan temperature dan kelembapan mempengaruhi propagasi virus pada nyamuk. Temperatur lingkungan juga memberikan pengaruh terhadap viremia akut pada nyamuk betina, biasanya menjadi lebih pendek dengan meningkatnya suhu. Setelah menghisap darah penderita DBD, virus bereplikasi pada midgut, kemudian mencapai *haemocoel* dan *haemolymph*, dan akhirnya mencapai jaringan lain dari nyamuk termasuk kelenjar liur. Setelah bereplikasi di kelenjar liur, nyamuk menginfeksi kasus baru dengan mensekresikan liurnya setelah menghisap darah. Beberapa studi melaporkan terdapatnya transmisi transovarial dari nyamuk betina yang terinfeksi, sehingga memungkinkan untuk menjadi reservoir virus selama periode inter epidemik.¹⁸

B. Aspek Biologi Virus Dengue

Sifat fisik dan kimia

Virus dengue termasuk ke dalam family *flaviviridae* (family ini terdiri dari 3 genus; *Hepacivirus*, *Flavivirus* dan *Pestivirus*) dan genus *flavivirus*. Partikel *flavivirus* berbentuk sferis, dengan diameter 40-60 nm dan ketebalan bagian tengah sekitar sekitar 30 nm. Masa molekuler virion adalah 60×10^6 . Komposisi virion terdiri atas 6% RNA, 66% protein, 9% karbohidrat dan 19% lipid. Flavivirus dapat diinaktivasi dengan pelarut organik dan deterjen. Pada kondisi in vitro, virion stabil pada lingkungan alkali, yaitu pada pH 8. Virion sensitif terhadap panas, pelarut organik dan deterjen.¹⁰

Virion Flavivirus yang matur mengandung 3 struktur protein, yaitu : nukleokapsid atau

protein di bagian tengah (C ; 12 kDa), membran protein yang tidak mengalami glikosilasi (M ; 8 kDa) dan selubung protein (E ; 53 kDa) yang biasanya mengalami glikosilasi. Protein M dan protein E dihubungkan dengan selubung lemak yang berupa jangkar membran yang hidrofobik. Selubung lemak tersebut terdiri dari sekitar 17% dari berat virion dan berasal dari lipid sel host. Protein E adalah komponen utama pada permukaan virion, protein ini terdiri dari antigenik determinan yang penting untuk HI (Haemagglutination Inhibition) dan netralisasi, jadi menginduksi respon imun pada host yang terinfeksi. Struktur elemen pada dari determinan protein E terlibat pada perlekatan virion dengan reseptor sel dan pada saat fusi. Deterjen dan protease digunakan untuk mengkarakterisasi struktur dari flavivirus dan untuk mengisolasi subunit imunologi. Deterjen nonionik seperti Triton X dapat melarutkan seluruh selubung, melepaskan protein M dan E. Sodium deoksikolat hanya melepaskan protein E, sementara protein M tetap menempel dengan nukleokapsid . Protease memperlihatkan bagian dari glikoprotein E berlokasi pada lipid bilayer. Berdasarkan analisis struktur primer pada glikoprotein flavivirus, terdapat regio jangkar pada membran yang bersifat hidrofobik pada ujung karboksil dari molekul protein E.¹⁰

Selubung flavivirus melindungi genom dari nuklease sel dan bagian dari nukleokapsid dapat dikeluarkan dengan terlebih dahulu diolah dengan menggunakan deterjen dan didegrasi dengan ribonuklease. Infektivitas *flavivirus* dan hemagglutinin stabil secara optimal pada pH 8.4 dan 8.8. Sensitif terhadap pH rendah, jadi tidak memungkinkan untuk infeksi melaui oral. Namun TBE (*Tick Borne Encephalitis*) memungkinkan untuk menginfeksi lewat susu yang terkontaminasi. Flavivirus dengan cepat dapat diinaktivasi dengan suhu yang tinggi. Pada suhu 50°C, 50% dari infektivitas hilang dalam waktu 10 menit. Suhu rendah dapat mempertahankan infektivitas, dengan stabilitas paling besar pada suhu -60°C atau lebih rendah. Berdasarkan percobaan, virus yang mati di dalam darah dan larutan protein lain terjadi dalam waktu 30 menit pada suhu 56°C. Aerosol juga dapat merupakan sumber infeksi yang berbahaya di laboratorium, karena virus SLE (*St Louis Encephalitis*) stabil selama 6 jam pada susupensi aerosol pada suhu ruangan dan kelembaban 23 % hingga 80%. Flavivirus dapat diinaktivasi dengan menggunakan

sinar ultraviolet, iradiasi gama dan diinfeksi oleh 3% dan 8% formaldehid, 2% glutaraldehid, 2% hingga 3% hidrogen peroksida, 500 – 5000 ppm clorin, alkohol, 1% iodin dan fenol iodoform. Namun virus yang ditularkan oleh kutu lebih resisten dibandingkan dengan virus yang ditularkan oleh nyamuk.¹⁰

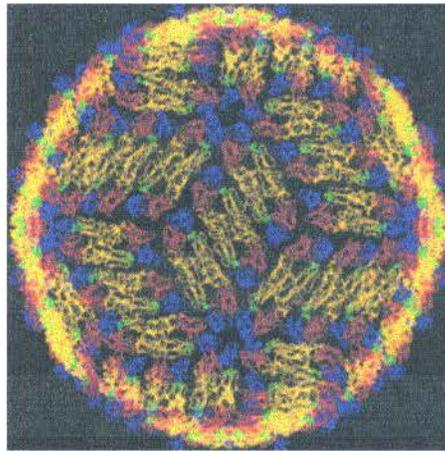
Struktur antigen

Semua anggota genus flavivirus memiliki bagian antigen umum, seperti yang perlihatkan dengan tes HI dengan serum imun poliklonal dan ini merupakan dasar dari klasifikasi. Sementara tes netralisasi dapat digunakan untuk memisahkan individu virus pada genus dan untuk menentukan subgrup virus yang berdekatan. Pada awalnya, diferensiasi dari masing-masing individu virus dilakukan berdasarkan netralisasi silang dengan menggunakan poliklonal antisera hiperimun. Berdasarkan hasil penelitian ini flavivirus dibedakan ke dalam sejumlah kompleks antigenik dan memperlihatkan bahwa terdapat perbedaan antigenik pada struktur protein selubung (E). Bersamaan dengan ini, hasil silang HI dinyatakan terdapatnya grup, sero kompleks dan tipe determinan spesifik.¹⁷

Perlekatan antara virus dengan sel merupakan tahap penting dalam menentukan infektivitas virus. Perlekatan virion dimediasi oleh glikoprotein E dan infektivitas berhubungan dengan afinitas perlekatan protein E pada permukaan sel. Antibodi mengikat protein E dan menghalangi perlekatannya dengan reseptor. Sejumlah data memperlihatkan terdapatnya kompleksitas dari determinan antigen yang dikenal oleh antibodi pada permukaan virion. Berdasarkan sekuen dari sejumlah flavivirus diperoleh klasifikasi berdasarkan sekuen yang homolog dan konstruksi dari evolutionary tree . Berdasarkan perbandingan sekuen asam amino dari protein E, dihasilkan gambaran yang sangat sesuai dengan serokompleks flavivirus yang telah diuraikan berdasarkan netralisasi silang menggunakan serum poliklonal.¹⁷

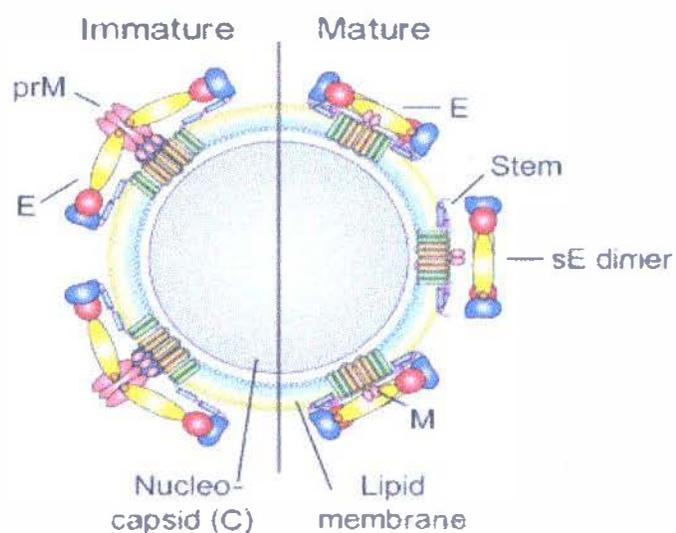
Mikroskop cryoelectron telah digunakan untuk menentukan struktur 3 dimensi virion dengue serotipe 2. Penelitian ini mengkonfirmasi ukuran dan susunan virion seperti yang telah dilakukan sebelumnya terhadap virus TBE. Terdapat 90 dimer protein

Eyang tersusun pada permukaan virion dengan susunan menyerupai tulang ikan. Dimer-dimer ini terpasang paralel pada lipid membran, memberikan bentuk permukaan yang licin. (Gambar 4). Sebaliknya struktur virion yang immatur (mengandung prM) menampilkan susunan yang sangat berbeda, dengan terdapatnya tonjolan-tonjolan yang dibentuk oleh susunan trimer prM/E. Akibatnya ukuran virion yang imatur sedikit lebih besar dibandingkan dengan virion yang matur.¹⁹ (Gambar 3 & Gambar 4)



Gambar 3. Struktur virion Flavivirus yang matur

[Sumber: Kuhn. Et al 2002]



Gambar 4. Struktur imatur dan matur virion flavivirus.

[Sumber : Stiasny, K., et al 2006]

Protein lain yang juga dapat berperan sebagai antigen adalah protein nonstruktural 1

(NS1). Protein ini disekresikan oleh sel yang terinfeksi oleh flavivirus. Eksperimen menggunakan NS1 yang dipurifikasi dari sel terinfeksi atau NS1 rekombinan menunjukkan bahwa NS1 menginduksi respon imun protektif hewan coba yang diinfeksi dengan dengue, yellow fever atau TBE.^{10,19}

C. Genetika

Struktur dan Organisasi genom

Genom virus Dengue kira-kira 11.000 bp dengan 5' *capped* (terdapat gugus metil guanosa) dan 3'-end yang biasanya tidak berpoliadenilasi. Genom ini mengkode 10 protein dalam suatu open reading frame tunggal. (Gambar 5) Terdapat tiga protein struktural yang dikode pada sepertiga ujung 5' dari genom virus, yaitu : protein capsid (C) yang membentuk lapisan pelindung genom (nukleokapsid), protein membran (M), dan protein envelope (E), yang merupakan protein permukaan yang melekat di dalam envelop virion. Tujuh protein non struktural (NS) yang dikode pada duapertiga ujung 3' genom virus yaitu: NS1, NS2a, NS2b, NS3, NS4a, NS4b, dan NS5.¹⁰



Gambar 5. Organisasi genom virus dengue

[Sumber : WHO, 2007]

Keterangan : C = Capsid

prM = prekursor membran

E = Envelope

NS1 = Non-struktural 1

NS3 = Non-struktural 3

NSS = Non-struktural 5

Protein yang disandi oleh genom virus

1. Protein capsid:

Merupakan protein dengan massa 9 hingga 12 kD, mengandung 112 hingga 127 asam amino yang sangat bermuatan positif oleh karena mengandung residu Lisin dan arginin dalam jumlah besar. Besarnya proporsi asam amino ini diduga untuk menetralkan muatan negatif dari RNA virus.

2. Protein Membran : 2 bentuk protein membran telah dikarakterisasikan. (i). prM yang terdapat pada virion imatur dan (ii) protein membran yang terdapat permukaan virion yang matur. Hanya protein membran yang matur yang dapat mengalami fusi pada kondisi asam pada endosom.

3. Protein envelope (selubung) : merupakan protein dengan besar protein 55 hingga 60 kD. Protein E berhubungan dengan sejumlah aktivitas biologi termasuk berinteraksi dengan reseptor, hemaglutinasi eritrosit, menginduksi antibodi netralisasi mayor, memediasi fusi dengan membran pada pH yang rendah didalam endosom dan perakitan virus.

4. Protein NS1 : adalah protein dengan besar 42 hingga 50 kD. Protein ini terdapat dalam bentuk berbeda, pada permukaan sel dan bentuk sekresi pada medium ekstraseluler. Bentuk dimer ini dipengaruhi oleh regio C terminal yang juga diperlukan untuk sekresi protein. Protein ini merupakan salah satu target antibodi.

5. Protein NS3 : protein dengan berat 67 hingga 70 kD dan sangat conserved pada flavivirus. Dua fungsi yang dimiliki oleh protein ini adalah protein dengan aktivitas protease dan helikase. Beberapa data menunjukkan bahwa protein ini juga berperan pada proses capping (penambahan gugus metil guanosis pada 5' genom) dan metilasi dari RNA virus.

6. Protein NS5 : Merupakan protein dengan besar 104 hingga 106 kD, juga merupakan protein yang conserved. Protein ini memiliki aktivitas RNA dependent RNA polimerase.¹⁷

Siklus replikasi

Gambaran umum tentang replikasi famili flaviviridae tampak seperti pada gambar 6. Siklus hidup virus Dengue dimulai ketika vektor menghisap darah dan virus masuk kedalam tubuh pejamu. Selanjutnya dimulai proses replikasi seperti yang diuraikan dibawah ini.



Gambar 6. Siklus replikasi Flaviviridae

{Sumber : Clyde, K dkk. 2006}

(1) Virus Dengue menempel dan (2) masuk ke dalam sel diperantarai reseptor. (3). pH yang rendah di dalam endosom menyebabkan perubahan pada protein E virus dan terjadi fusi antara envelop virus dengan membran sel. Nukleokapsid (materi genetik dan pembungkus virus) segera masuk ke dalam sitoplasma. Setelah Capsid terbuka (4) RNA

virus ditranslasi pada membran Retikulum Endoplasma, membentuk 3 protein struktural dan 7 protein Nonstruktural. Setelah sintesis protein selesai, (5) dimulailah sintesis RNA. Berikutnya, (6) terjadi perakitan partikel virus di dalam Retikulum Endoplasma dan menjadi matur di dalam Badan Golgi. (7) Virus matur disekresikan melalui jalur sekretori sel pejamu.

1. Penempelan, Penetrasi dan *Uncoating*

Virus Dengue menempel pada sel yang memiliki reseptor yang sesuai. Ada dua mekanisme penempelan virus Dengue. Pertama, kompleks virus dengue dan Immunoglobulin G (IgG) dapat menempel pada makrofag atau monosit melalui reseptor Fc yang terdapat pada permukaan sel. Mekanisme yang kedua, virus dapat menempel pada permukaan sel (termasuk monosit) melalui reseptor virus yang sensitif-tripsin. Reseptor sel host dapat berikatan dengan bagian tertentu dari glikoprotein E.15

Virus dengue melakukan penetrasi pada membran plasma melalui perusakan membran pada tempat adsorpsi, lalu terjadi proses endositosis. Proses uncoating pada virus dengue disebabkan terjadinya fusi protein envelope virus dengan membran sel host yang disebabkan oleh perubahan pH. Kondisi asam dapat menyebabkan terjadinya deposit nukleokapsid di dalam sitoplasma.^{8,22,23}

2. Translasi awal dan replikasi RNA awal

Pada fase awal ini RNA virus harus dapat menjadi cetakan untuk replikasi dan translasi. RNA genom virus Dengue merupakan rantai positif, sehingga harus ditranskripsi terlebih dahulu untuk menghasilkan rantai negatif untuk proses replikasi. Proses translasi tidak memerlukan rantai negatif, karena rantai positif dapat langsung ditranslasi.

3. Sintesis dan pemrosesan protein virus dengan proteolitik

Protein struktural dan nonstruktural virus berasal dari prekursor poliprotein yang besar, yang dikode oleh satu Open Reading Frame yang panjang. Translasi dimulai dari kodon AUG yang pertama dari genom RNA. Masing-masing protein virus kemudian terbentuk

dengan adanya proses ko-translasional proteolitik pada ujung N dari prM, E, NS1 dan NS4B terjadi di lumen retikulum endoplasma.

4. Replikasi RNA

Replikasi RNA terjadi di daerah membran halus perinuklear dari sel yang terinfeksi virus dengue. Ada tiga bentuk RNA yang dapat diekstraksi dari sel yang terinfeksi virus dengue, yaitu : RNA replicative form, RNA replicative intermediate dan RNA 42 S RNase-sensitive. RNA replicative form merupakan RNA yang utuh, RNA rantai ganda yang mengandung rantai positif yang utuh. RNA *replicative intermediate* hanya berupa rantai tunggal negatif. Baik RNA replicative form maupun RNA replicative intermediate dapat menjadi prekursor bagi RNA virus rantai 42 S rantai positif. Regulasi dari replikasi RNA masih belum diketahui, tetapi kemungkinan kompleks polimerase-RNA pada tahap awal dan akhir memiliki afinitas yang berbeda bagi cetakan rantai positif dan negatif.

5. Perakitan dan pelepasan virus

Perakitan virus dengue melalui beberapa tahapan, yaitu : (i) Perakitan nukleokapsid dari protein Core dan RNA ; (ii) Nukleokapsid melakukan budding melalui membran yang mengandung protein integral E dan prM untuk mendapatkan envelope; (iii) Virion belum matang keluar dari keluar dari retikulum endoplasma dengan cara budding atau eksositosis vesikel ; (iv) Pematangan virion dan reorganisasi permukaan virion dengan cara pemotongan protein prM.

Pelepasan virus dengue dari sel yang terinfeksi terjadi melalui eksositosis sekretori dimana vesikel sekretori yang mengandung virus berdifusi dengan membran plasma. Protein prM harus dipotong terlebih dahulu sebelum virion dilepaskan atau ketika akan keluar dari sel. Pemotongan protein prM disertai dengan reorganisasi selubung virion, yaitu pembentukan trimer protein E dari heterodimer prM-E. Proses pemotongan ini menjadikan virus matang.^{22,23}

D. Patogenesis

Manifestasi klinis yang berat akibat infeksi virus dengue adalah DHF dan DSS. Kedua manifestasi ini ditandai oleh adanya perdarahan dan kebocoran plasma. Kejadian kebocoran plasma biasanya terjadi setelah akhir fase viremia, oleh karena itu kebocoran plasma lebih dihubungkan dengan faktor imunologi akibat infeksi dari pada faktor virus secara langsung.²⁴ Namun secara umum patogenesis DHF didukung oleh 2 teori, yaitu virulensi dan imunopatogenesis.

Virulensi virus sebagai penyebab DHF

Dari beberapa kejadian luar biasa infeksi dengue dilaporkan bahwa kejadian DHF berhubungan dengan infeksi sekunder, sehingga muncul teori ADE. Hipotesis ini disanggah oleh adanya kejadian DHF pada infeksi primer. Sehingga diasumsikan bahwa strain virus juga memberikan manifestasi DHF. Sekuen strain Asia virus dengue serotipe 2 sebagai penyebab DHF memperlihatkan terdapat perbedaan pada asam amino 390 dari protein E, di 5' UTR dan upstream nukleotida 300, 3' UTR.^{25,26}

Imunopatogenesis

Antibody dependent-enhancement (ADE)

Mekanisme yang mengakibatkan demam berdarah dengue tidak berdiri sendiri. Beberapa studi melaporkan infeksi sekunder umumnya menyebabkan demam berdarah dengue. Fenomena antibody dependent-enhancement (ADE) merupakan hipotesis yang mendukung beratnya manifestasi klinis pada infeksi sekunder. Terdapat antibodi dari infeksi primer yang berikatan dengan virus dengue serotipe berbeda pada infeksi sekunder. Kompleks antigen antibodi ini tidak menetralkan infeksi tetapi mempermudah terjadinya infeksi pada sel yang mengekspresikan Fcγ reseptor seperti monosit dan makrofag.²⁴ Sementara kejadian DHF atau bahkan DSS yang dialami bayi (usia kurang dari 1 tahun) dan belum pernah terinfeksi dengue, dapat dijelaskan dengan hipotesis ini karena berkaitan dengan antibodi yang didapat dari ibu.²⁹

Respon Imun spesifik dan sitokin

Nilai berbagai macam sitokin pada plasma menunjukkan peningkatan yang lebih tinggi pada DHF dibandingkan dengan DF. Laporan ini mendukung teori bahwa sitokin berperan pada proses imunopatogenesis infeksi dengue, oleh karena efek proinflamatorinya pada sel endotel vaskuler. Beberapa sitokin yang meningkat pada DHF adalah TNF- α , IL-2, IL-6, IL-8, IL-10 dan IFN- γ .³³ Banyak studi tentang TNF α melaporkan, sitokin ini merupakan sitokin primer yang memberikan implikasi terhadap patogenesis. Studi terhadap hewan coba yang diberi terapi anti TNF secara bermakna menurunkan angka kematian.²⁹ TNF- α dihasilkan oleh monosit yang terinfeksi virus dengue, sitokin ini meningkatkan permeabilitas vaskuler. Selain itu sel limfosit T yang spesifik juga memproduksi TNF- α , IL-2 dan IFN- γ . Kedua sel ini yang meningkatkan level sitokin pada kasus DHF.²⁶

Aktivasi komplemen

Sistem komplemen adalah suatu famili serum dan protein pada permukaan sel yang mengenal patogen melalui pola molekuler, mengubah ligannya dan kompleks imun.³⁷ Pada DHF, komplemen mungkin diaktivasi melalui kompleks imun yang terbentuk oleh virus dengue yang bersirkulasi dan antibodi spesifik untuk virus dengue. Aktivasi komplemen ini belum sepenuhnya dimengerti. Namun beberapa studi mengindikasikan terdapatnya peningkatan produk aktivasi plasma, C3a dan C5a pada penderita dengan DHF.²⁷

Patofisiologi penyakit

Kebocoran plasma terjadi akibat adanya peningkatan permeabilitas pembuluh darah. Manifestasi akibat kebocoran ini meliputi hemokonsentrasi, hipoproteinemia / hipoalbuminemia, efusi pleura, ascites, ancaman syok dan syok berat. Peningkatan hematokrit tidak dapat dipakai sebagai petunjuk oleh karena dapat disebabkan oleh perdarahan yang berat atau berkaitan dengan cairan intravena.³⁸ Uji torniquet positif mengindikasikan adanya peningkatan fragilitas dari kapiler. Informasi ini bisa didapat

pada awal penyakit, dan merupakan akibat langsung dari virus dengue selama fase viremia.⁷ Perdarahan pada penderita DHF dapat disebabkan oleh vasculopathy, trombositopenia, gangguan platelet dan coagulopathy. Jumlah platelet pada penderita DHF biasanya kurang dari $100 \times 10^9/L$. Studi tentang sumsum tulang dari penderita DHF pada masa demam memperlihatkan adanya hipocellularity dengan penurunan megakariosit, eritroblas, prekursor mieloid.³² Gangguan platelet ini kemungkinan juga disebabkan oleh kelelahan akibat aktivasi yang dicetuskan oleh kompleks imun.³³ Gangguan coagulopathy pada penderita DHF disebabkan oleh adanya penurunan aktivitas faktor pembekuan seperti protrombin, factor V, VII, VIII, IX dan X, antitrombin dan α 2-antiplasmin, dan produk degradasi fibrin (D-Dimer) sedikit meningkat.³¹

Gambaran klinis dan klasifikasi penyakit

Manifestasi klinik infeksi dengue sangat bervariasi, mulai dari tanpa menimbulkan gejala, demam yang tidak dapat diketahui penyebabnya, demam dengue, demam berdarah dengue hingga sindrom syok dengue (DSS). Demam biasanya terjadi selama 6 hingga 7 hari setelah 2 hingga 7 hari paska inkubasi. Gejala umum dapat diikuti dengan lemas, nyeri tulang, mual dan muntah. Bintik-bintik perdarahan dapat muncul pada kulit pada hari pertama atau kedua. Fenomena perdarahan merupakan manifestasi khas untuk demam berdarah dengue.¹⁸

Untuk kepentingan penatalaksanaan penderita, WHO membuat definisi demam berdarah dengue dan membuat klasifikasi tingkat keparahan penyakit (Tabel 2) dan (Tabel 3.).

Tabel 2. Definisi kasus Demam Berdarah Dengue

[Sumber : Malavige, GN., et al 2004]

Definisi kasus Demam berdarah dengue WHO

Penderita dengan gejala :

1. Demam tinggi selama 2-7 hari
2. Manifestasi pendarahan (minimal uji *torniquet* positif)
3. Jumlah *Platelet* kurang dari $100 \times 10^9/l$
4. Hemokonsentrasi (terjadi peningkatan nilai haemtokrit lebih dari 20% atau adanya kejadian kebocoran plasma seperti *ascites*, *efusi pleura*, nilai protein serum/albumin menurun)

Definisi kasus Demam berdarah dengue WHO

Penderita dengan gejala :

1. Demam tinggi selama 2-7 hari.
2. Manifestasi pendarahan (minimal uji *torniquet* positif)
3. Jumlah Platelet kurang dari $100 \times 10^9/l$
4. Hemokonsentrasi (terjadi peningkatan nilai haemtokrit lebih dari 20% atau adanya kejadian kebocoran plasma seperti *ascites*, *efusi pleura*, nilai protein serum/albumin menurun)

Tabel 3. Klasifikasi tingkat keparahan infeksi dengue.

[Sumber : WHO. 1999]

DF/DHF	Grade ^a	Symptoms	Laboratory
DF		Fever with two or more of the following signs: headache, retro-orbital pain, myalgia, arthralgia	Leukopenia occasionally. Thrombocytopenia may be present, no evidence of plasma loss
DHF	I	Above signs plus positive tourniquet test	Thrombocytopenia < 100,000. Hct rise \geq 20%
DHF	II	Above signs plus spontaneous bleeding	Thrombocytopenia < 100,000. Hct rise \geq 20%
DHF	III	Above signs plus circulatory failure (weak pulse, hypotension, restlessness)	Thrombocytopenia < 100,000. Hct rise \geq 20%
DHF	IV	Profound shock with undetectable blood pressure and pulse	Thrombocytopenia < 100,000. Hct rise \geq 20%

III. TUJUAN DAN MANFAAT

Tujuan Umum

Melakukan pemetaan serotipe dan genotipe virus Dengue dari daerah endemis Demam Berdarah Dengue di Indonesia

Tujuan Khusus

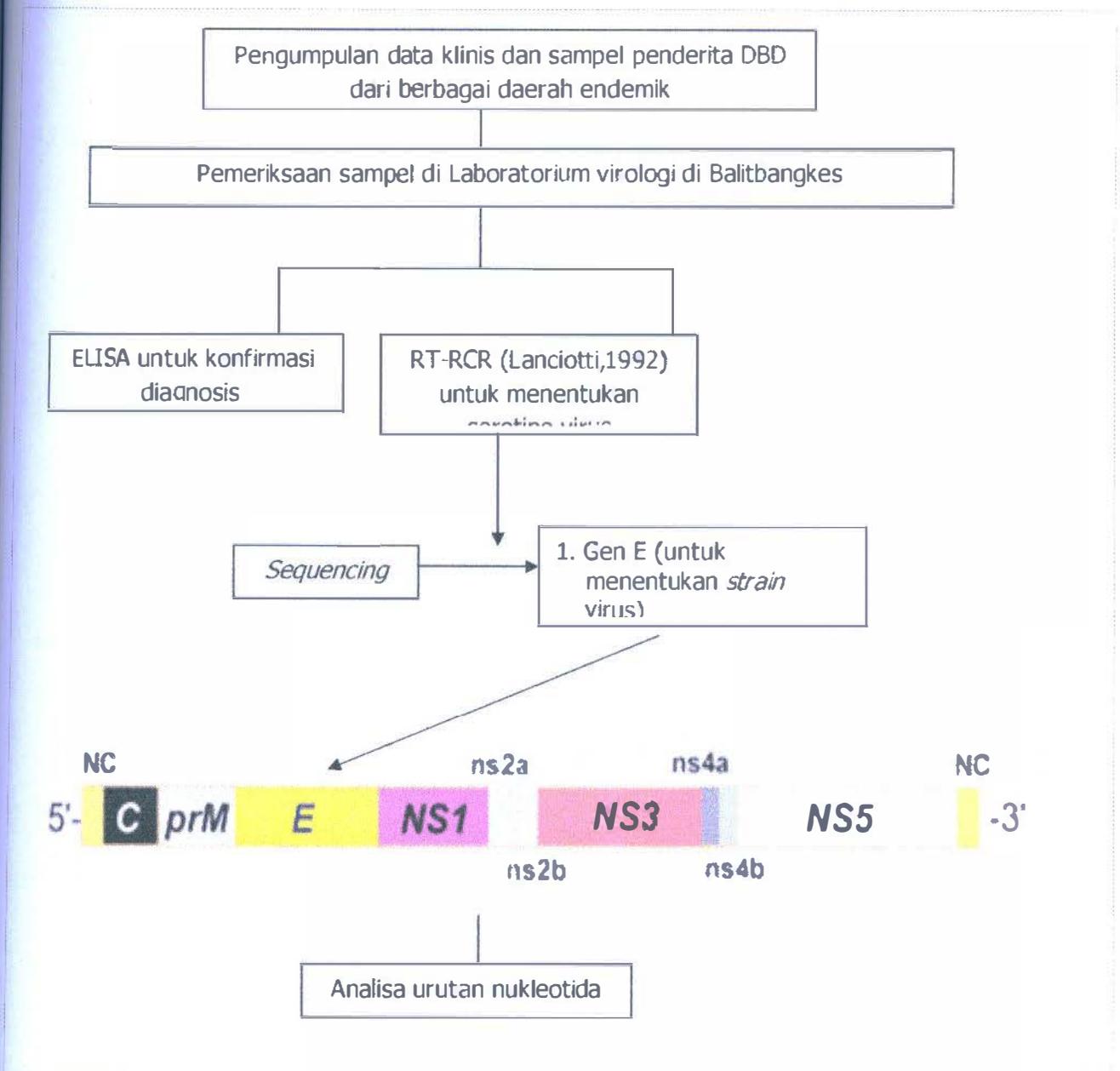
1. Menganalisis manifestasi klinis dari kasus DBD dari Samarinda, Manado, Ternate dan Jayapura
2. Menganalisis hasil pemeriksaan hematologi penderita DBD
3. Menganalisis hubungan hasil pemeriksaan hematologi dengan keadaan klinis penderita DBD
4. Menganalisis manifestasi serologi untuk konfirmasi diagnosis DBD
5. Melakukan pemetaan serotipe virus dengue dari kota Samarinda, Manado, Ternate, Jayapura dan Manokwari.
6. Menganalisis hubungan serotipe virus Dengue dengan keadaan klinis penderita DBD

Manfaat

1. Memberikan informasi tentang gambaran serotipe dan genotipe virus Dengue dari daerah endemis di Indonesia
2. Sebagai data dasar untuk vaksin dengue strain Indonesia

IV. METODE

4.1. Alur Penelitian



Gambar 7. Alur Penelitian

4.2. Desain dan jenis penelitian

- a. Desain penelitian adalah studi potong lintang (*cross sectional study*)
- b. Jenis penelitian adalah survei dasar

4.3 Tempat dan waktu penelitian

Tempat penelitian 2 RS di kota Samarinda, Manado, Ternate, dan Jayapura, serta laboratorium virologi Balitbangkes. Lama penelitian delapan bulan. Penelitian di kota Manokwari dibatalkan oleh karena sedikitnya jumlah kasus DBD. Rencana untuk pindah lokasi penelitian di Kota Sorong juga dibatalkan oleh karena terbatasnya waktu untuk pengumpulan sampel. Rencana pemeriksaan sekuensing untuk menentukan genotype virus dilakukan di Lembaga Eijkman, namun oleh karena tidak sepakat pada perjanjian kerjasama maka pemeriksaan sekuensing dilakukan di laboratorium *virology*, namun membutuhkan waktu untuk optimasi protokol kerja.

4.4. Sampel Penelitian

Populasi : Semua penderita yang diduga menderita Demam Berdarah Dengue (DBD), yang dirujuk ke bagian anak dan bagian penyakit dalam di dua rumah sakit di kota Samarinda, Manado, Ternate, Jayapura dan Manokwari.

Sampel : serum yang berasal dari penderita yang diduga menderita DBD dan memenuhi kriteria inklusi dan dinyatakan tersangka penderita DBD oleh klinisi.

Kriteria Inklusi tersangka DBD : penderita yang dirawat di bagian penyakit dalam dan bagian anak yang memenuhi kriteria WHO, yaitu mengalamidemam tinggi mendadak / tanpa sebab yang jelas, berlangsung terus menerus selama 2-7 hari, disertai manifestas perdarahan (sekurang-kurangnya uji Tourniquet positif), dan/atau trombositopenia (trombosit $\leq 100.000/\text{ul}$) dan hemokonsentrasi ($\text{Ht} \geq 20\%$ dari normal) (WHO 2003) serta bersedia untuk berpartisipasi dan menandatangani *informed consent*.

Kriteria eksklusi : tersangka penderita DBD memenuhi kriteria inklusi yang menolak untuk berpartisipasi.

Besar sampel penelitian :

Sampel dikumpulkan dari 2 Rumah Sakit pada masing-masing kota Samarinda, Manado, Ternate, Jayapura selama 7 bulan. Untuk kota Samarinda dan Manado diasumsikan jumlah penderita yang terinfeksi virus dengue dengan distribusi serotipe virus sama dengan yang ditemukan di kota Pontianak. Agar semua serotipe virus yang didapat minimal 20, maka dihitung berdasarkan persentase serotipe yang paling banyak. Jumlah kasus yang terinfeksi virus dengue serotipe 3 merupakan jumlah yang paling banyak (46%), dan digunakan sebagai dasar perhitungan. Untuk perhitungan sampel berdasarkan rumus sebagai berikut:

$$N = \frac{Z^2 \times (p \times q)}{d^2} \quad 41$$

Diasumsikan jumlah kasus DBD yang terinfeksi (P) = 0,46 jarak (d) = 5%, *Confidence Interval* = 95%, Z = 1,645 maka jumlah sampel adalah

$$N = \frac{(2,71) \times (0,46 \times 0,54)}{(0,0025)} = 269,3 \sim 270 \text{ sampel}$$

Untuk kota Ternate dan Jayapura agar mendapatkan virus dengue dengan jumlah yang diharapkan, dihitung berdasarkan distribusi serotipe virus dengue yang diidentifikasi dari kota Kupang. (virus dengue serotipe 3 ;33%)

$$N = \frac{(2,71) \times (0,33 \times 0,67)}{(0,0025)} = 239,7 \sim 240 \text{ sampel}$$

Jumlah keseluruhan sampel yang dikumpulkan pada penelitian ini 2 x 270 = 540 sera (untuk kota Samarinda dan Manado) dan 3 x 240 = 720 sera (untuk kota Ternate, Jayapura dan Manokwari). Mengingat jumlah kasus dari kawasan Indonesia bagian Timur tidak begitu banyak, maka untuk kota Ternate, Jayapura dan Manokwari jumlah sampel dikurangi 50%. Sisanya akan diambil pada tahun berikutnya. Sehingga

sampel yang akan dikumpulkan pada tahun 2012; $540 + 360 = 900$ sera.

Jumlah target sampel untuk kota Ternate dan Jayapura harus dikurangi lagi setelah mendapat data jumlah kasus DBD dalam beberapa tahun belakangan dari Dinas Kesehatan Maluku Utara dan Papua. Jumlah target sampel dari Ternate dan Jayapura sebelumnya masing-masing 120, dikurangi setengahnya menjadi 60 untuk masing-masing kota. Sehingga jumlah target sampel keseluruhan 660.

Rencana semula akan dilakukan identifikasi strain virus dengue dengan menggunakan sampel yang dikumpulkan pada penelitian ini dan sampel yang sudah dikumpulkan sebelumnya. Di laboratorium Litbangkes terdapat serum yang telah dikumpulkan dari kabupaten Ciamis, belum dilakukan pemeriksaan serotipe virus. Serum tersebut akan dilakukan pemeriksaan RT PCR bersamaan dengan sampel yang dikumpulkan pada penelitian ini. Jumlah sampel yang akan dilakukan pemeriksaan RT PCR sebanyak $900 + 350$ sera dari Ciamis = 1250 sera.

Untuk menentukan *strain* virus akan disekuensing gen E dari masing-masing serotipe virus dan diperlukan paling sedikit 20 sampel per masing-masing kota. Oleh karena jumlah sampel yang ada belum memenuhi kriteria, maka akan dilakukan sekuensing gen E pada semua sampel positif virus dengue yang sudah terkumpul. Jumlah sampel yang sudah dapat dilakukan identifikasi gen E, Medan 58, Pontianak 54, Jakarta 36 dan Kupang 36, dan Ciamis 100 sampel. Jumlah sampel yang akan dilakukan identifikasi gen E adalah 284 sampel.

Bila untuk sekuensing gen E diperlukan masing-masing 4 primer untuk masing-masing serotipe, maka satu sampel akan disekuensing sebanyak 4 kali, maka jumlah pemeriksaan sekuensing gen E yang akan dilakukan adalah $284 \text{ sera} \times 4 \text{ kali} = 1136$ pemeriksaan sekuensing.

Untuk sekuensing keseluruhan *genome*, diambil 1 sampel untuk masing-masing serotipe dari masing-masing kabupaten/kota. Jumlah keseluruhan sampel yang akan disekuensing *whole genome* ; $4 \text{ serotipe} \times 10 \text{ kabupaten/kota} = 40$ sampel.

Bila pemeriksaan sekuensing *whole genome* untuk satu serotipe virus memerlukan 30 primer, maka jumlah pemeriksaan sekuensing yang akan dilakukan untuk identifikasi

whole genome adalah;

30 primer x 4 serotipe x 10 kabupaten kota = 1200 pemeriksaan sekuensing

Jumlah keseluruhan pemeriksaan sekuensing adalah 1136. Untuk mengantisipasi kekurangan reagen karena kegagalan pemeriksaan sehingga perlu diulang, maka jumlah pemeriksaan ditambah 10 %. Sehingga jumlah keseluruhan pemeriksaan sekuensing 2570 pemeriksaan.

Namun oleh karena perjanjian kerjasama kedua instansi tidak dapat disepakati, pekerjaan identifikasi genetik dilakukan di laboratorium virologi Litbangkes oleh peneliti Litbangkes. Oleh karena jumlah reagen yang disediakan untuk pemeriksaan sekuensing di Litbangkes hanya untuk 1000 reaksi, maka sekuensing gen E yang tadinya akan dilakukan terhadap 20 sampel per serotipe per kota, maka dikurangi menjadi 1 per serotipe per kota. Dan pemeriksaan sekuensing keseluruhan genom yang tadinya akan dilakukan terhadap 1 serotipe virus per kota ditiadakan, diganti dengan pemeriksaan gen NS1 untuk 1 sampel per serotipe per kota.

a. Cara Pengumpulan sampel :

Anak-anak atau dewasa penderita DBD (derajat I, II, III dan IV) yang dinyatakan memungkinkan untuk diambil darahnya oleh dokter ahli anak atau dokter ahli penyakit dalam, akan diambil darah vena Cubiti sebanyak 5 ml. Serum darah dipisahkan, dimasukkan ke dalam *Cryovials* dan disimpan dalam *freezer* -20°C. Pada waktu yang sudah ditentukan sera yang sudah terkumpul akan diambil dan dibawa ke laboratorium virologi di Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan, Badan Litbangkes.

4.5. Definisi Operasional

Sampel positif DBD adalah sera tersangka penderita DBD yang dinyatakan memenuhi kriteria inklusi oleh klinisi setempat dan menunjukkan hasil positif pada hasil pemeriksaan serologi (RT-PCR).

4.6. Bahan dan prosedur kerja

Sampel serum yang sudah terkumpul terlebih dahulu dilakukan pemeriksaan ELISA untuk konfirmasi diagnosis. Kemudian dilakukan pemeriksaan RT PCR untuk menentukan antigen dan serotipe virus dengue.

a. Pemeriksaan ELISA (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*)

Pemeriksaan ELISA untuk deteksi antibody terhadap virus dengue menggunakan kit PanBio IgM *Capture* ELISA dan PanBio IgG *Capture* ELISA.

Cara kerja untuk deteksi Ig M Dengue :

1. Pastikan semua reagen dan strip untuk tes berada pada suhu ruang sebelum digunakan.
2. Encerkan serum dengan menggunakan *serum diluent* (pink) perbandingan 1:100.
 - 495ul *serum diluent* + 5ul serum
3. Encerkan calibrator, kontrol positif dan kontrol negative dengan *serum diluent*.
 - 495ul serum diluent + 5ul controls
4. Tambahkan 100ul serum yang telah diencerkan serta kontrol pada sumur *plate* untuk tes sesuai dengan tempat yang telah ditentukan.
5. Inkubasi *plate microtiter* selama 60 menit pada suhu $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$.
6. Siapkan *Antigen-Monoclonal Antibody Tracer mix*. Untuk *plate 96 well*, tambahkan
 - 40ul antigen (biru) + 9960ul *Antigen diluent*
 - Ambil 6ml antigen yang sudah diencerkan dan tambahkan dengan 6ml of Mab *Tracer* (kuning)
 - Inkubasi mix selama 60 menit pada suhu ruang.
7. Cuci sebanyak 6 kali dengan *wash buffer*.

Encerkan *Wash Buffer*:

- 950ml *aquadest* + 50ml *wash buffer concentrate*
8. Tambahkan 100ul *Antigen-Monoclonal Antibody Tracer mix* pada masing-masing sumur.

9. Inkubasi *plate* mikrotiter 60 menit pada $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$.
10. Ulangi pencucian seperti langkah no 7.
11. Add 100ul TMB into each well.
12. Inkubasi *plate* mikrotiter selama 10 menit pada suhu ruang.
13. Tambahkan *Stop Solution* pada masing-masing sumur.
14. Baca *plate* mikrotiter pada 450nm, dengan *reference filter* 630nm.
15. Kalkulasi :
 - $\text{Cut-off} = \text{Mean absorben Calibrator} \times \text{Calibration Factor}$
 - $\text{Calculated value} = (\text{Absorbance} / \text{Average of Cut-off}) \times 10$
 - Serum dikatakan positif IgM Dengue jika hasil perkalian lebih besar dari 11.

Cara kerja untuk deteksi Ig G Dengue :

1. Pastikan semua reagen dan strip untuk tes berada pada suhu ruang sebelum digunakan.
2. Encerkan serum dengan menggunakan serum diluent (pink) perbandingan 1:100.
 - 495ul serum diluent + 5ul serum
3. Encerkan calibrator, kontrol positif dan kontrol negative dengan serum diluent.
 - 495ul serum diluent + 5ul controls
4. Tambahkan 100ul serum yang telah diencerkan serta kontrol pada sumur plate untuk tes sesuai dengan tempat yang telah ditentukan.
5. Inkubasi plate mikrotiter selama 60 menit pada suhu $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$.
6. Siapkan Antigen-Monoclonal Antibody Tracer mix. Untuk plate 96 well, tambahkan
 - 40ul antigen (merah) + 9960ul Antigen diluent
 - Ambil 6ml antigen yang sudah diencerkan dan tambahkan dengan 6ml Mab Tracer (hijau)
 - Inkubasi mix selama 60 menit pada suhu ruang.
7. Cuci sebanyak 6 kali dengan wash buffer.

Encerkan Wash Buffer:

- 950ml aquadest + 50ml wash buffer concentrate

8. Tambahkan 100ul Antigen-Monoclonal Antibody Tracer mix pada masing-masing sumur.
9. Inkubasi plate mikrotiter 60 menit pada $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$.
10. Ulangi pencucian seperti langkah no 7.
11. Add 100ul TMB into each well.
12. Inkubasi plate mikrotiter selama 10 menit pada suhu ruang.
13. Tambahkan Stop Solution pada masing-masing sumur.
14. Baca plate mikrotiter pada 450nm, dengan reference filter 630nm.
15. Kalkulasi :
 - $\text{Cut-off} = \text{Mean absorben Calibrator} \times \text{Calibration Factor}$
 - $\text{Calculated value} = (\text{Absorbance} / \text{Average of Cut-off}) \times 10$
 - Serum dikatakan positif Ig G Dengue jika hasil perkalian lebih besar dari 22.

b. Pemeriksaan RT PCR

Isolasi RNA

RNA virus diisolasi terlebih dahulu dengan menggunakan menggunakan QIAamp Viral RNA Mini Kit (Qiagen). Lisis virus menggunakan *buffer* yang mengandung guanidin tiosianat, diikuti dengan 2 kali pencucian menggunakan *buffer* yang salah satunya juga mengandung guanidin tiosianat. Filtrasi menggunakan QIAamp Mini spin column dan terakhir elusi menggunakan *buffer* yang mengandung RNase *free water* dengan 0,04% sodium azida.

Cara kerja:

1. Untuk 1 sampel, siapkan 560 μl *buffer* AVL dengan 5,6 μl *carrier* RNA (yang sudah dilarutkan dengan *buffer* AVE dan tersimpan pada suhu -20°C).
2. Bekerja pada *Biosafety Cabinet Class II*, tambahkan 140 μl serum pada *Buffer* AVL/*Carrier* RNA (560 μl) pada tabung mikrosentrifus. Mix dengan vortex selama 15 detik.
3. Inkubasi pada suhu ruang ($15-25^{\circ}\text{C}$) selama 10 min.
4. Sentrifus untuk menurungkan cairan pada ruru tabung.
5. Tambahkan 560 μl ethanol absolut pada masing-masing sampel, mix dengan vortex

selama 15 detik.

6. Pindahkan 630 μ l larutan dari tahap 5 ke QIAamp spin column, tutup dan sentrifus 8000 rpm selama 1 menit. Tempatkan QIAamp spin column pada *collection tube* yang sudah disiapkan, buang tabung yang mengandung filtrat.

7. Hati-hati membukan QIAamp spin column dan ulangi tahap 6.

8. Hati-hati buka QIAamp spin column dan tambahkan 500 μ l *buffer AW1*, tutup tabung dan sentrifus 8000 rpm selama 1 menit. Pindahkan QIAamp spin column pada *collection tube* yang bersih, buang tabung yang mengandung filtrat.

9. Hati-hati buka QIAamp spin column, dan tambahkan 500 μ l *buffer AW2*. Tutup tabung dan sentrifus 14,000 rpm selama 3 menit. Ulang setrifus 14,000 rpm selama 1 menit setelah mengganti *collection tube*.

10. Tempatkan QIAamp spin column pada tabungmikrosentrifus 1.5 ml. Buang *collection tube* yang mengandung filtrat. Buka QIAamp spin column dan tambahkan 60 μ l of *buffer AVE*. Tutup, inkubasi pada suhu ruang selama 1 menit. Sentrifus pada 8000 rpm selama 1 menit.

11. Buang *column filter* dan simpan RNA dalam refrigerator selama menyiapkan PCR master mix.

RT PCR (*Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction*)

Penentuan serotipe menggunakan protokol RT-PCR dari Lanciotti⁸ dengan sedikit modifikasi sesuai dengan protokol dari reagen yang digunakan, yaitu *Platinum Taq DNA Polymerase* (Invitrogen).

Tabel 4. Primer *serotyping*

Primer	Sequence	Genome position	Product size (bp)
D1	5'-TCAATATGCTGA AACGCGCGAGAAACCG-3'	134-161	511
D2	5'-TTGCACCAACAGTCAATGTCTTCAGGTTC-3'	616-644	511
TS1	5'-CGTCTCAGTGATCCGGGGG-3'	568-586	482 (D1 & TS1)

TS2	5'-CGCCACAAGGGCCATGAACAG-3'	232-252	119 (D1 & TS2)
TS3	5'-TAACATCATCATGAGACAGAGC-3'	400-421	290 (D1 & TS3)
TS4	5'-CTCTGTTGTCTTAAACAAGAGA-3'	506-527	392 (D1 & TS4)

• Amplifikasi I (PCR I)

1. RT PCR master mix menggunakan Invitrogen Superscript III with Platinum Taq cat no 12574-026
2. Cairkan reagen (2x Reaction mix, Distilled water, Primer D1 dan D2 kecuali enzim Taq polymerase, karena enzim ditambahkan terakhir).
3. Persiapan reagen dilakukan pada laminar flow.
4. Pada tabung sentrifus 1,5 ml siapkan reagen sebagai berikut:

<i>Reagen</i>	<i>Vol (μl)</i>
2x Reaction mix	12.5
Distilled water	4.5
Primer D1	1
Primer D2	1
Platinum Taq	1
Jumlah	20

5. Pada ruangan terpisah (ruang ekstraksi) tambahkan 5 μl RNA pada campuran reagen tersebut.

6. Set pada mesin PCR dengan protocol sebagai berikut:

1. 48.0 45:00
 2. 94.0 02:00
 3. 94.0 00:30
 - 60.0 01:00
 - 68.0 02:00
- } 40 x

4. 68.0 07:00

5. 8.0 ∞

Amplifikasi II

1. Siapkan reagen pada tabung sentrifus 1,5 ml dengan komposisi sebagai berikut:

<i>Reagen</i>	<i>Vol (μl)</i>
2x Reaction mix	12.5
Distilled water	2.4
Primer D1	1
Primer TS1	1
Primer TS2	1
Primer TS3	1
Primer TS4	1
Platinum Taq	0.1
Jumlah	20

2. Di ruangan terpisah, bekerja pada BSC II, encerkan ampikon hasil PCR I dengan pengenceran 50 kali (49 μl *distilled water* + 1 μl RNA hasil PCR I).
3. Tambahkan 5 μl RNA yang telah diencerkan pada reaction mix.
4. Set mesin PCR dengan protocol sebagai berikut:

1.	94.0	02:00	
2.	94.0	01:00	} 20x
	58.0	01:00	
	72.0	02:00	
3.	72.0	10:00	
4.	8.0	∞	

5. Ampikon hasil PCR II dilanjutkan dengan dielektroforesis .

Hasil amplifikasi diidentifikasi dengan menggunakan gel 2 %.

Elektroforesis

Persiapan gel agarose 2% : timbang 2 gr agarose, dengan menggunakan tabung Erlenmeyer 250 ml larutkan dalam 100 ml 1 x TBE buffer.* Didihkan, sebelum dingin tambahkan 10 µg ethidium bromide(dalam larutan)** campur hingga rata. Tuang pada cetakan gel, hindari terbentuknya gelembung udara, biarkan dingin (\pm selama 30 menit). Simpan dalam refrigerator bila belum akan digunakan.

*Untuk membuat TBE buffer 1 x, tambahkan 100 ml TBE buffer 10 x pada 900 ml distilled water

**Tergantung pada konsentrasi Ethidium Bromide dari produsen, atur agar terdapat 10 µg terdapat pada gel

1. Pada tangki yang terisi 1 x TBE, masukkan gel
2. Tambahkan 1 ul *loading dye* yang telah dicampur dengan 10 ul (tergantung ukuran well pada gel) amplicon (produk PCR) pada masing-masing well. Jangan lupa tambahkan marker pada well yang terakhir
3. Hubungkan tangki gel dengan kabel listrik dan nyalakan. (Detil penggunaan alat berbeda-beda untuk masing-masing merk).
4. Proses elektroforesis berlangsung selama 40 menit. Hasilnya dibaca dengan menggunakan *Gel doc*.

c. Pemeriksaan sekuensing

Primer yang akan digunakan pada penelitian ini adalah primer yang sebelumnya telah digunakan untuk sekuensing sampel DBD dari Indonesia tahun 2004 oleh Harun S dkk (komunikasi pribadi). Urutan primer yang akan digunakan Tabel 5.

Tabel 5. Primer Genotyping

Kode	Sekuen Primer	Dengue
D1a1	5'-ACAGCTTCCCCTGGTGTGG-3'	DEN-1
D1A2	5'-DTCTTCCCAACTGGAYACATG-3'	DEN-1
D1A3	5'-YACRCARTCATCTCCRCTGAT-3'	DEN-1
D1A4	5'-CACTCCACTGAGTGAATTCTCTCT-3'	DEN-1
D1A5	5'-GGRATRACATCCCATGGTTT-3'	DEN-1
D1A6	5'-AGRACACGTAACGTTCTWCCTTC-3'	DEN-1
D1A7	5'-CCTACCTCCTCCTARAGATTTCA-3'	DEN-1
D1A8	5'-CAAGTCCCATCAATATAGCTGC-3'	DEN-1
D1A9	5'-CCAGTYARCACAGCTATCAAAGC-3'	DEN-1
D1A10	5'-TCTCTCYGGCTCAAAGAGGG-3'	DEN-1
D1A11	5'-CRTAGCCTGARTTCCATGATCT-3'	DEN-1
D1A12	5'-CCTCGTCCTCAATCTCTGGTAG-3'	DEN-1
D1A13	5'-TTCCACTTCYGGAGGGCT-3'	DEN-1
D1A14	5'-CCGGAAGCCATGTTGTTTT-3'	DEN-1
D1A15	5'-GCATYTTTCTRCTCCATCTGGATC-3'	DEN-1
D1A16	5'-CARCTTCCARGTYTCGTTCTT-3'	DEN-1
D1A17	5'-CCAATGGCYGCTGAYAGTCT-3'	DEN-1
D1A18	5'-AAAGGTGGYTCYGYTCAAT-3'	DEN-1
D1A19	5'-GTTTGTGGACRAGCCATGATT-3'	DEN-1
D1A20	5'-CGTCTTCAAGAGTTCAATGTCC-3'	DEN-1
D1A21	5'-CATYGCAATRAGRGTGCACAT-3'	DEN-1
D1A22	5'-AGCTTCCGATTGAAACTGT-3'	DEN-1
D1A23	5'-AGAACCTGTTGATTCAACAG-3'	DEN-1
D1S1	5'-TRGCTCCATCGTGGGGAT-3'	DEN-1
D1S2	5'-TTGCTYTCAGGCCAAGGACC-3'	DEN-1
D1S3	5'-AAACGTTCCGTSGCACTGGC-3'	DEN-1
D1S4	5'-TGTGTGTCGMCGAACGTT-3'	DEN-1
D1S5	5'-GCAATGCACACYGCGTTG-3'	DEN-1
D1S6	5'-GGYTCTATAGGAGGRGTGTTTAC-3'	DEN-1
D1S7	5'-GGCCCAAGGRAARAAAATG-3'	DEN-1
D1S8	5'-ACAAACAGCAGGGCCRTGGCA-3'	DEN-1
D1S9	5'-CCTAGCYTGTGATGGCYACTTT-3'	DEN-1
D1S10	5'-RGCYGGSCCACTAATAGCT-3'	DEN-1

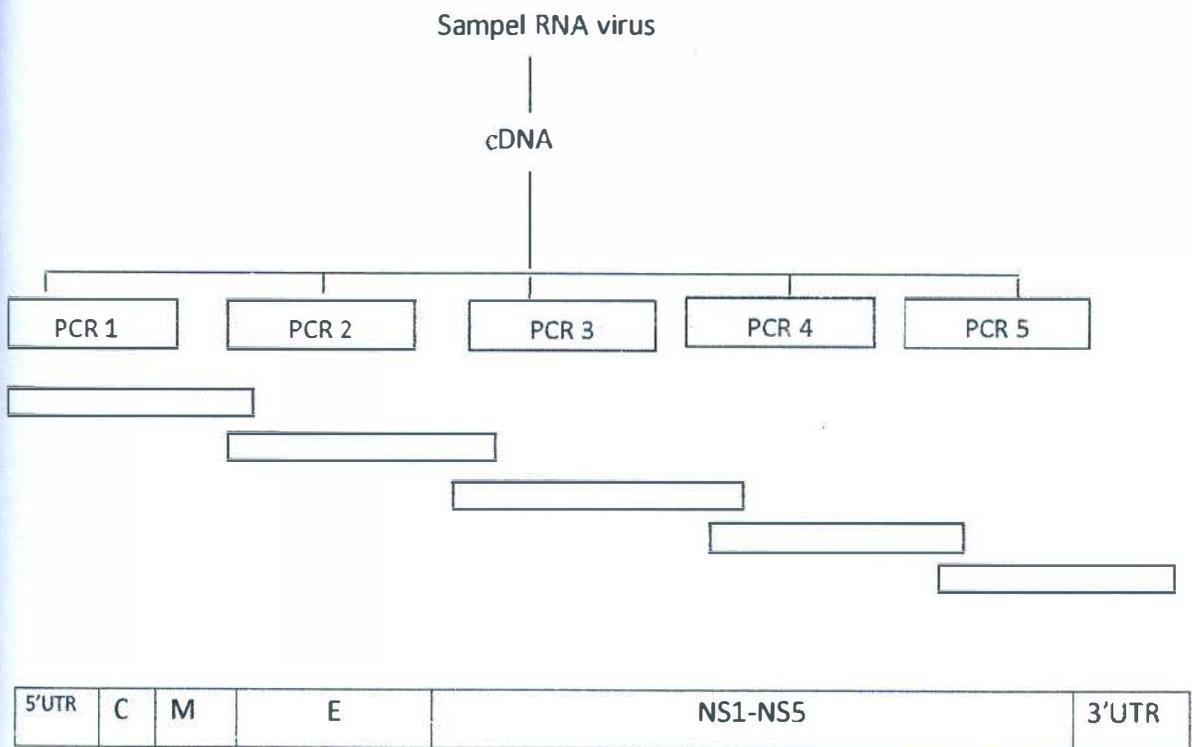
D1S11	5'-AAGAGRCTGGAACCRAGYTGGGC-3'	DEN-1
D1S12	5'AAATGGCAGAGGCGCTCAAGGG-3'	DEN-1
D1S13	5'-ACAAAAAAYAAYGACTGGGACTAT-3'	DEN-1
D1S13	5'-ATGGRGAAAGGAACAACCAG-3'	DEN-1
D1S15	5'-GGATAGCGGCCTCYATCATACT-3'	DEN-1
D1S16	5'-GCAAARGCYACTAGAGAAGCTCAA-3'	DEN-1
D1S17	5'-GAAACRACYAAACAYGCAGTG-3'	DEN-1
D1S18	5'-CCACYCATGAAATGTAYTGGGT-3'	DEN-1
D1S19	5'-GCCARGTGGTTATGGGGTTT-3'	DEN-1
D1S20	5'-GGATGATCTTCAGAATGAGGC-3'	DEN-1
D1S21	5'-TYATGAAGGATGGGAGGGA-3'	DEN-1
D1S22	5'-AGTTGTTAGTCTACGTGGAC-3'	DEN-1
D2A1	5'-AGGAAACGAAGGAACGCC-3'	DEN-2
D2A2	5'-ACGCCATGCGTACAGCTT-3'	DEN-2
D2A3	5'-CCGTYGTCATCCATTCATG-3'	DEN-2
D2A4	5'-TTTCTTCTGTGRCTGTCAGGTG-3'	DEN-2
D2A5	5'-TCTGCTGCCTTTTGCCTT-3'	DEN-2
D2A6	5'-CATGGTAWGCCCAYGTTTTGT-3'	DEN-2
D2A7	5'-TTCTGGCGGRRRTGAAGAA-3'	DEN-2
D2a8	5'-TGACACYGCAATGGTAGTGTT-3'	DEN-2
D2a9	5'-CAATGCTATGTCTCARCATTGGTGT-3'	DEN-2
D2A10	5'-TACGCCCTTCCRCCTGCTTCA-3'	DEN-2
D2A11	5'-CCAGTGTGCACAGTCTTCATCAT-3'	DEN-2
D2A12	5'-ATGGRTCTCTRCTTCCCGG-3'	DEN-2
D2A13	5'-CACCATTACCATAAAGACCCAC-3'	DEN-2
D2A14	5'-GCCGTGATTGGTATTGATACAGGA-3'	DEN-2
D2A15	5'-GTGCAACTCACTTTCATGC-3'	DEN-2
D2A16	5'-CGGCTGTGACCAAGGAGTT-3'	DEN-2
D2A17	5'-CCGCTGACATGAGTTTTGAGTC-3'	DEN-2
D2A18	5'-CCACTGCCACATTTAGTTC-3'	DEN-2
D2A19	5'-GGCGRCTAAGACATRTCTTTT-3'	DEN-2
D2A20	5'-GCCATARCCTGTCARTTCTGC-3'	DEN-2
D2A21	5'-CTGAAACCCCTTCTACAAAGTCTC-3'	DEN-2
D2A22	5'-TGTGGTTCTCCGTTACGTGT-3'	DEN-2
D2A23	5'-AGAACCTGTTGATTCAACAG-3'	DEN-2
D2S1	5'-GCAACAGCTGACAAAGAGATTCTC-3'	DEN-2

D2S2	5'-CACCACRGGAGAACAYAGAAGA-3'	DEN-2
D2S3	5'-CAGCCTAAAWGAAGAGCAGGA-3'	DEN-2
D2S4	5'-GCGAAGAAACAGGATGTTGTTG-3'	DEN-2
D2S5	5'-GGTGACACAGCCTGGGATTT-3'	DEN-2
D2S6	5'-YATGACAGGAGACATCAAAGGA-3'	DEN-2
D2S7	5'-WCAACACAACACTAYAGACCAGGCT-3'	DEN-2
D2S8	5'-TGGGCGTGACTTATCTTGC-3'	DEN-2
D2S9	5'-GCATTITRGCCAGTTCTCTCCTA-3'	DEN-2
D2S10	5'-GYGCTGTYCTAATGCATAAAGG-3'	DEN-2
D2S11	5'-YAGAGTCGTGGCAGCTGAA-3'	DEN-2
D2S12	5'-GGAAGACYTTTGATTCTGAGTATGT-3'	DEN-2
D2S13	5'-GCAGACAGAAGGTGGTGTTTT-3'	DEN-2
D2S14	5'-CCACACTGGATAGCAGCTTCAATA-3'	DEN-2
D2S15	5'-GACTYCAAGCAAAAGCAACC-3'	DEN-2
D2S16	5'-CAGGAAGTGGATAGAACCCTTAGCA-	DEN-2
D2S17	5'-CTCTCACGRAACTCCACACAT-3'	DEN-2
D2S18	5'-RGCAGAGTGGCTKTGGAAA-3'	DEN-2
D2S19	5'-GGGACACAAGAATCACACTAGAAG-3'	DEN-2
D2S20	5'-AGGAATACACAGATTACATGCCA-3'	DEN-2
D2S21	5'-GGAATGGTGCTGTTGAATCAAC-3'	DEN-2
D2S22	5'-AGTWGTTAGTCTACGTGGAC-3'	DEN-2
D3A1	5'-GGTTTCTCACGCGTTTCAG-3'	DEN-3
D3A2	5'-TTTTAACGTCCTTGGACGG-3'	DEN-3
D3A3	5'-GGATGCTAGTCTRAGATCTTCTG-3'	DEN-3
D3A4	5'-CTGCCTCTTTGGTCTTTCCT-3'	DEN-3
D3A5	5'-CGTTCTCTGTCCACAAGTTTCC-3'	DEN-3
D3A6	5'-GCATTRACATGTCGRGTTCC-3'	DEN-3
D3A7	5'-TCCTCGCACTTCTGTRACTTT-3'	DEN-3
D3A8	5'-TTGAACTGCACACARAACCAG-3'	DEN-3
D3A9	5'-CACCTGGYTCYTTAGACATTCCTA-3'	DEN-3
D3A10	5'-GCGYCAAARTCCTTGAATTCCT-3'	DEN-3
D3A11	5'-TTGGTCCAGCCAGGATCA-3'	DEN-3
D3A12	5'-GTGAAATGRGCCTCATCCAT-3'	DEN-3
D3A13	5'-CCTGGCATGGTTGAAAGTT-3'	DEN-3
D3A14	5'-ACTGTGATCATTAARTTGTGGGA-3'	DEN-3
D3A15	5'-CCCCARAGCRATTCCATT-3'	DEN-3

D3A17	5'-CACTTGGACACTCCGGTGT-3'	DEN-3
D3A18	5'-GATTCCTATCGCAATGCATG-3'	DEN-3
D3A19	5'-GCGTTTCKGAGACTTCTTTCTTC-3'	DEN-3
D3A20	5'-GACGGTGTATTTGAGGTTCTCA-3'	DEN-3
D3A21	5'-GGCTAGTATGGTRAACCCTGG-3'	DEN-3
D3A22	5'-CCTTCTTGAAGCCTTTYARGACCT-3'	DEN-3
D3A23	5'-AGAACCTGTTGAT CAACAG-3'	DEN-3
D3S1	5'-CAGTTTCGACTCGGAAGCTT-3'	DEN-3
D3S2	5'-CAACATGTGCACACTCATAGCC-3'	DEN-3
D3S3	5'-GACTACCATGGCTAAGAACAAGC-3'	DEN-3
D3S4	5'-GAAGAACAAGCATGGATGGTA-3'	DEN-3
D3S5	5'-TGAACCTCCTTTGGGGAA-3'	DEN-3
D3S6	5'-CCMAAAAGATTGGCAACAGC'3	DEN-3
D3S7	5'-CATGGGCTATTGGATAGAAAGC-3'	DEN-3
D3S8	5'-GGTGATGAGAGGAAAATT GGG-3'	DEN-3
D3S9	5'GAAAACAGATTGGCTCCCAA-3'	DEN-3
D3S10	5'-CCCCCAGAGACACAGAAAG-3'	DEN-3
D3S11	5'-CGACACCAGAGTTGGAAGAAG-3'	DEN-3
D3S12	5'-GCTCATGGAATTCAGGCAAT-3'	DEN-3
D3S13	5'-CCAGCTCTCTTGAACCAGAAA-3'	DEN-3
D3S14	5'-CTCYTGGGACTGATGATCTTGT-3'	DEN-3
D3S15	5'-CTGATGGGTTTRGACAAAGGA-3'	DEN-3
D3S16	5'-TTTTTCTATYATGAAATCAGTTGGA-3'	DEN-3
D3S17	5'-CAACAGTGGAAAGAAAGCAGAAC-3'	DEN-3
D3S18	5'-ACAAAACCATGGGATGTGG-3'	DEN-3
D3S19	5'-CTGGTTCTCGCGTGGAAAC-3'	DEN-3
D3S20	5'-GGGATGATTGCGTAGTGAAA-3'	DEN-3
D3S21	5'-TCCAGTCACAACGTGGGAA-3'	DEN-3
D3S22	5'-TGTACCTCCTTGCAAAGGACTA-3'	DEN-3
D3S23	5'-AGTTGTTAGTCTACGTGGAC-3'	DEN-3
AF1	5'-AACGAAAMAAGGTGGTTAGRCCA-3'	DEN-4
AF2	5'-CYATGGAYYTGGGTGAWATGTGTG-3'	DEN-4
AF3	5'-TYWCAACYRTRGCYCARGGAAA-3'	DEN-4
AF4	5'-AYTATGGAGAAYTRRYACT-3'	DEN-4
AF5	5'-GGAGCTCARTGTAAARTBCCCAT-3'	DEN-4
AF6	5'-RRYYGTTGGAGGWATYACYCTGTT-3'	DEN-4

AR1	5'-CTTGCCTTYGGTCAACACCC-3'	DEN-4
AR2	5'-TGARACYCCTCCAAACATRGTTGT-3'	DEN-4
AR3	5'-TCCCTTRATYCTCAAYTTYTCCA-3'	DEN-4
AR4	5'-TGRRKRTCTCCRTTGTGRACTGT-3'	DEN-4
AR4	5'-GCGACYAGCATCATTAGRACAAAG-3'	DEN-4
AR6	5'-TRAGRGGTTCRCCATCTCTKGT-3'	DEN-4
BF1	5'-GGATGGACTTACTACGAGCCCTCA-3'	DEN-4
BF2	5'-GGAGCYCARGCTYTRCCAGTGTA-3'	DEN-4
BR1	5'-CCTCGTTAAGRGGCCARGATC-3'	DEN-4
BR2	5'-TGATGGCTADGTGGRTMTGTCCT-3'	DEN-4
CF1	5'-TGCTATTCTCAAGTGAACCCAACA-3'	DEN-4
CF2	5'-GGACCARYYTTRACCTTRTGGG-3'	DEN-4
CF3	5'-TCAAGCATGCAGTATCWAGAGGGT-3'	DEN-4
CR1	5'-GGCTTCAGTCCTGTCCACTTCTAG-3'	DEN-4
CR2	5'-GCCCATGTWGTCTCATCARGAGT-3'	DEN-4
CRM3	5'-ARAGCATGACTARGGAWGCTGTCA-3'	DEN-4
DF1	5'-SVRAAGAACATTCAYWCGGICYATA-3'	DEN-4
DF2	5'-AAAAACGCAGCARAAAGGGG-3'	DEN-4'
DR1	5'-ATCCATCTTGCGGCGCTCTGTG-3'	DEN-4
DR2	5'-TCAARCCGTGGCACAAGTGG-3'	DEN-4
DRM3	5'-GYATRGC CGWRTGAATGTTCTT-3'	DEN-4

Gambar 8. Urutan strategi sekuensing yang dilakukan untuk mendapatkan genom virus.



Primer *forward* dan *reverse* didisain *overlapping*. T_m antara 55 dan 65°C dengan GC content 35 sampai 60%.

Amplifikasi cDNA untuk sekuensing

Primer untuk identifikasi genetic dioptimasi terlebih dahulu dengan menggunakan protokol kerja sebagai berikut:

Reverse Transcription untuk persiapan template region E/NS1.

- Pada tabung PCR disiapkan reaksi RT dengan komposisi sebagai berikut:
 - Serotype-specific primers (1 μ l each) 2
 - Nuclease-free water 4
 - 10 mM dNTP mix 1
 - RNA sample 6

Inkubasi pada 65° C selama 5 menit, segera taruh di atas es selama 3 mint.

Tambahkan :

- 5X First Strand Buffer 4 μ l
 - 0.1 M DTT 1 μ l
 - RNase Out (40U/ μ l) 1
 - Superscript III RT 1 μ l
- Sehingga total volume 20 μ l

Dengan menggunakan pipet, mix campuran dan inkubasi pada *thermal cycle* dengan

Kondisi :

- 55° C for 60 minutes
- 70° C for 15 minutes
- 4° C hold

Pada tabung PCR buat campuran reagen untuk reaksi RT dengan komponen sebagai berikut:

- 10X Pfu Buffer 5 μ l
- 10 mM dNTP Mix 1 μ l
- cDNA 2 μ l
- Sense primer* (10 pmol) 1 μ l
- Antisense primer* (10 pmol) 1 μ l
- Pfu Turbo DNA Polymerase, 2.5 U/ μ l 1 μ l
- Nuclease-free water 39 μ l

Total volume 50 μ l

* Menggunakan Primer yang spesifik untuk masing-masing serotipe.

Thermal cycle setting:

95° C for 2 menit,

45 cycles konsidi :

95° C for 30 seconds

55° C for 1 minute

72° C for 4 minute 30 seconds
72° C for 10 minutes
4°C hold

Sekuensing DNA

Fragmen hasil purifikasi dengan PCR dilakukan pemeriksaan sekuensing dengan mesin Applied Biosystem 3730 xl DNA Analyzer, dan kit BigDye Terminator v 3.1.

4.7. Analisis Data

Data klinis akan dianalisis menggunakan program SPSS v 15.

Analisis data sekuensing dilakukan dengan perangkat lunak Genetix 2.0 dan BioEdit 7.0 (<http://www.mbio.ncsu.edu/BioEdit/bioedit.html>). Runutan nukleotida hasil sekuensing diperiksa ulang dengan membandingkannya dengan elektroferogram, kemudian disambung satu sama lain sehingga menghasilkan runutan nukleotida lengkap gen E. Runutan nukleotida gen E dibandingkan dengan strain virus dengue lainnya yang berasal dari kasus dengue di Indonesia dan Thailand.

V. PERTIMBANGAN IZIN PENELITIAN

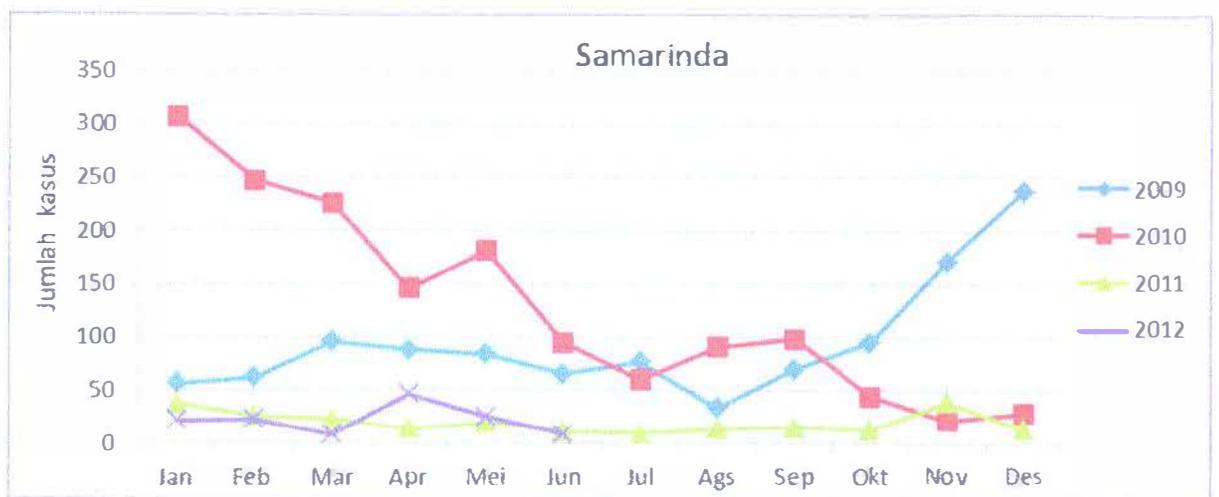
Penelitian ini menggunakan serum yang berasal dari penderita DBD. Oleh karena itu dimintakan izin etik karena menggunakan sampel manusia

VI. HASIL PENELITIAN

1. Deskripsi

Untuk mencapai jumlah target sampel kasus DBD untuk penelitian ini, kami membandingkan data tren kasus DBD dalam beberapa tahun sebelumnya. Data diperoleh dari Dinas Kesehatan Provinsi. Data dari masing-masing provinsi diikuti dengan hasil dari sampel yang telah dikumpulkan. Jumlah sampel yang terkumpul pada penelitian ini adalah 660, 270 kasus dari Manado, 270 dari Samarinda, 60 dari Ternate dan 60 dari Jayapura.

1. Samarinda



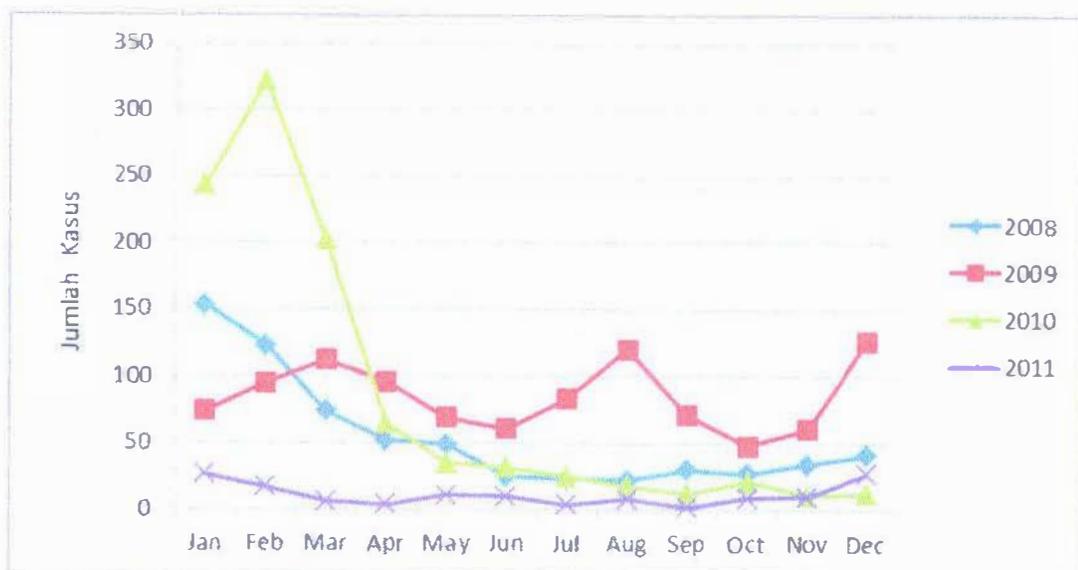
Sumber : Dinas Kesehatan Provinsi Kalimantan Timur

Gambar 9. Tren kasus DBD di kota Samarinda

Tabel 6. Distribusi sampel Samarinda

	Jumlah	%
Peny Dalam	54	20
Anak	216	80
Laki-laki	165	61
Perempuan	105	39
Inf Primer	89	33
Inf Sekunder	181	67
Derajat Penyakit:		
Bukan inf dengue	46	17
DD	119	44
DHF Grade I	30	11
DHF Grade II	59	22
DHF Grade III	16	6
Range Umur	3 th - 67 th	

2. Manado



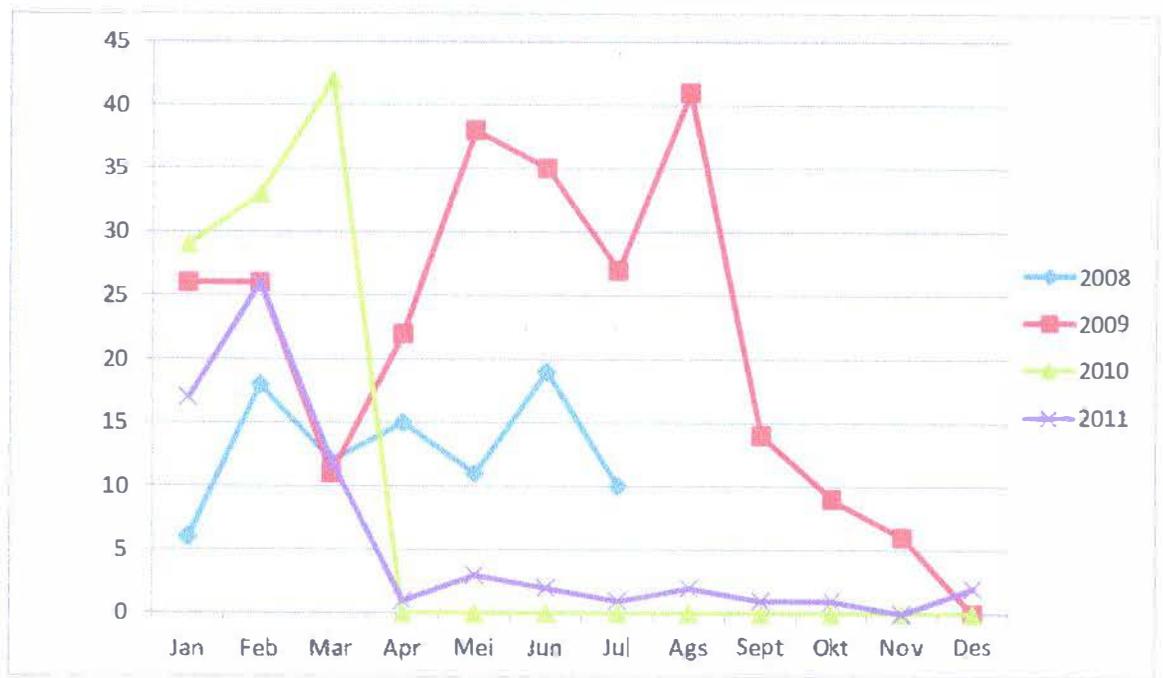
Sumber : Dinas Kesehatan Provinsi Sulawesi Utara

Gambar 10. Tren Kasus DBD di kota Manado

Tabel 7. Distribusi sampel dari Manado

	Jumlah	%
Peny Dalam	54	20
Anak	216	80
Laki-laki	162	60
Perempuan	108	40
Inf Primer	97	36
Inf Sekunder	173	64
Derajat Penyakit:		
Bukaninf dengue	8	3
DD	178	66
DHF Grade I	57	21
DHF Grade II	19	7
DHF Grade III	8	3
Rerata Umur		
<5	59	22
6 sd 12	145	54
13 sd 18	35	13
> 18	30	11

3. Ternate



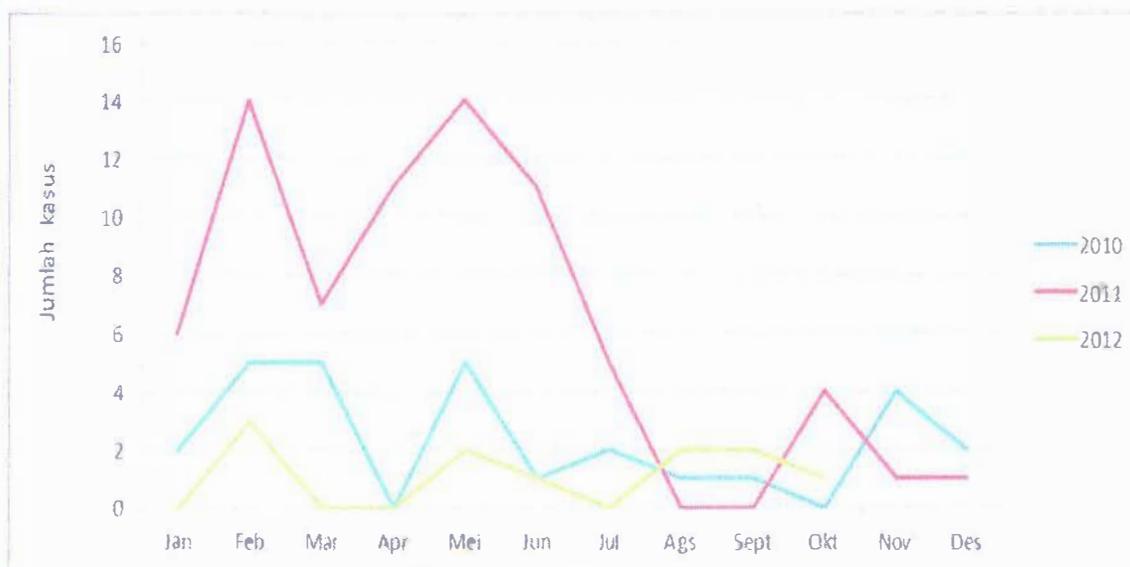
Sumber : Dinas Kesehatan Provinsi Maluku Utara

Gambar 11. Tren kasus DBD di kota Ternate

Tabel 8. Distribusi sampel dari Ternate

	Jumlah	%
Peny Dalam	9	15
Anak	51	85
Laki-laki	26	43
Perempuan	34	57
Inf Primer	9	15
Inf Sekunder	51	85
Derajat Penyakit:		
Bukan inf dengue	8	13
DD	10	17
DHF Grade I	10	17
DHF Grade II	24	40
DHF Grade III	8	13
Umur		
< 6	3	50%
6 sd 12	3	50%

4. Jayapura



Sumber: Dinkes Prov Papua

Gambar 12. Tren kasus DBD di kota Jayapura

Tabel 9. Distribusi sampel dari Jayapura

	Jumlah	%
Peny Dalam	43	72
Anak	17	28
Laki-laki	43	72
Perempuan	17	28
Inf Primer	26	43
Inf Sekunder	34	57
Derajat Penyakit:		
Bukan inf dengue	9	13
DD	42	72
DHF Grade I	9	15
DHF Grade II	0	0
DHF Grade III	0	0
Umur		
<5	9	15
6 sd 12	17	28
13 sd 18	0	0
> 18	34	57

2. Manifestasi Klinis

Diagnosis demam dengue dan demam berdarah dengue dikonfirmasi dengan pemeriksaan antigen berupa deteksi RNA virus dan deteksi antibody yang terbentuk akibat infeksi berupa Ig M dan Ig G. Ig G yang terdeteksi pada penelitian ini mengindikasikan adanya infeksi sekunder, oleh karena kit yang digunakan diset untuk mendeteksi Ig G yang meningkat pada awal infeksi. Untuk konfirmasi diagnosis infeksi dengue apabila salah satu dari hasil RT PCR, Ig M atau Ig G positif maka penderita ditetapkan menderita infeksi dengue. Bila hanya RT PCR positif, penderita terinfeksi virus dengue, bila Ig M yang positif, penderita infeksi primer dan bila Ig G yang meningkat penderita infeksi sekunder. Bila ketiganya positif, penderita infeksi sekunder.

Tabel 10. Gambaran klinis *confim* infeksi dengue

Gejala	Jumlah	%
Demam	403	100
Lama demam		
2 hr	37	9
3 hr	79	20
4 hr	143	35
5 hr	60	15
6 hr	15	4
Sakit kepala	135	34
Nyeri mata	46	11
Nyeri otot	39	10
Nyeri sendi	29	7
Mual	139	35
Nyeri perut	135	33
Muntah	170	42
Diare	17	4
Perdarahan spontan	37	9
Ruam kulit	37	9
Ronkhi	6	1
Hati membesar	83	21
Limpa membesar	33	8
Ptechie	33	8
RL	110	27

Tabel 11. Gambaran klinis infeksi dengue pada anak

Gejala	Jumlah	%
Demam	322	100
Sakit kepala	81	25
Nyeri mata	15	5
Nyeri otot	12	4
Nyeri sendi	8	2
Mual	70	21
Nyeri perut	80	25
Muntah	125	39
Diare	13	4
Perdarahan spontan	15	5
Ruam kulit	15	5
Ronkhi	6	2
Hati membesar	75	23
Limpa membesar	29	9
Ptechie	13	4
RL	98	30

Tabel 12. Gambaran klinis infeksi dengue pada dewasa

Gejala	Jumlah	%
Demam	82	100%
Sakit kepala	55	67
Nyeri mata	32	39
Nyeri otot	27	33
Nyeri sendi	21	26
Mual	69	84
Nyeri perut	57	69
Muntah	46	56
Diare	4	5
Perdarahan spontan	23	28
Ruam kulit	23	28
Ronkhi	0	0
Hati membesar	8	10
Limpa membesar	4	5
Ptechie	21	25
RL	13	16

Tabel 13. Gambaran klinis infeksi primer pada anak

Gejala	Jumlah	%
Demam	91	100
Sakit kepala	25	27
Nyeri mata	2	2
Nyeri otot	4	4
Nyeri sendi	2	2
Mual	14	15
Nyeri perut	17	19
Muntah	29	32
Diare	4	4
Perdarahan spontan	4	4
Ruam kulit	0	0
Ronkhi	2	2
Hati membesar	21	23
Limpa membesar	10	11
Ptechie	0	0
RL	23	25

Tabel 14. Gambaran klinis infeksi sekunder pada anak

Gejala	Jumlah	%
Demam	230	100
Sakit kepala	56	24
Nyeri mata	13	6
Nyeri otot	8	4
Nyeri sendi	6	3
Mual	56	24
Nyeri perut	62	27
Muntah	96	42
Diare	8	4
Perdarahan spontan	10	4
Ruam kulit	15	7
Ronkhi	0	0
Hati membesar	52	23
Limpa membesar	19	8
Ptechie	13	7
RL	75	32

Tabel 15. Gambaran klinis infeksi primer pada dewasa

Gejala	Jumlah	%
Demam	29	100
Sakit kepala	18	62
Nyeri mata	9	31
Nyeri otot	11	38
Nyeri sendi	7	24
Mual	24	24
Nyeri perut	22	76
Muntah	22	76
Diare	2	7
Perdarahan spontan	5	7
Ruam kulit	9	31
Ronkhi	0	0
Hati membesar	5	17
Limpa membesar	2	7
Ptechie	9	31
RL	4	13

Tabel 16. Gambaran klinis infeksi sekunder pada dewasa

Gejala	Jumlah	%
Demam	53	100
Sakit kepala	37	70
Nyeri mata	22	42
Nyeri otot	16	30
Nyeri sendi	14	26
Mual	45	85
Nyeri perut	35	66
Muntah	24	45
Diare	2	4
Perdarahan spontan	18	34
Ruam kulit	14	26
Ronkhi	0	0
Hati membesar	4	8
Limpa membesar	2	4
Ptechie	12	23
RL	8	15

3. Hematologi

Tabel 17. Status hematologi penderita *confirm* infeksi dengue

	Trombosit range	Leukosit range
Inf Primer	18500 - 450000	1500 - 31000
Inf Sekunder	5200 - 286000	200 - 68000
Anak	5200 - 450000	200 - 110000
Dewasa	8000 - 306000	1200 - 14000
Serotipe virus		
D1	5200 - 243000	1700 - 68000
D2	8000 - 286000	1700 - 11200
D3	38000 - 281000	1500 - 110000
D4	185000 - 249000	1500 - 5400

4. Pemetaan serotipe

Tabel 18. Serotipe virus dari Samarinda

Serotipe virus	Jumlah	%
Den 1	21	11
Den 2	21	11
Den 3	18	9
Den 4	26	14
Neg	106	55

Tabel 19. Serotipe virus dari Manado

Serotipe virus	Jumlah	%
Den 1	24	14
Den 2	31	19
Den 3	17	10
Den 4	5	3
Neg	91	54

Tabel 20. Serotipe virus dari Ternate

Serotipe virus	Jumlah	%
Den 1	0	0
Den 2	16	27
Den 3	10	17
Den 4	0	0
Neg	34	56

Tabel 21. Serotipe virus dari Jayapura

Serotipe virus	Jumlah	%
Den 1	0	0
Den 2	17	28
Den 3	9	15
Den 4	0	0
Neg	34	57

5. Hubungan serotipe dengan klinis

Tabel 22. Gambaran klinis infeksi dengue serotipe 1

Gejala	Jumlah	%
Demam	62	100
Sakit kepala	30	48
Nyeri mata	6	10
Nyeri otot	6	10
Nyeri sendi	6	10
Mual	27	10
Nyeri perut	34	55
Muntah	34	55
Diare	34	55
Perdarahan spontan	0	0
Ruam kulit	3	5
Ronkhi	0	0
Hati membesar	18	29
Limpa membesar	10	16
Ptechie	6	10
RL	15	24

Tabel 23. Gambaran klinis pada infeksi dengue serotipe 2

Gejala	Jumlah	%
Demam	77	100
Sakit kepala	34	44
Nyeri mata	17	22
Nyeri otot	11	14
Nyeri sendi	9	11
Mual	30	39
Nyeri perut	28	36
Muntah	34	44
Diare	2	3
Perdarahan spontan	4	5
Ruam kulit	17	22
Ronkhi	0	0
Hati membesar	21	27
Limpa membesar	0	0
Ptechie	9	12
RL	28	36

Tabel 24. Gambaran infeksi dengue serotype 3

Gejala	Jumlah	%
Demam	48	100
Sakit kepala	19	40
Nyeri mata	4	8
Nyeri otot	2	4
Nyeri sendi	2	4
Mual	13	27
Nyeri perut	10	20
Muntah	20	41
Diare	2	4
Perdarahan spontan	8	17
Ruam kulit	2	4
Ronkhi	2	4
Hati membesar	13	27
Limpa membesar	4	8
Ptechie	2	4
RL	13	27

Tabel 25. Gambaran infeksi dengue serotipe 4

Gejala	Jumlah	%
Demam	14	100
Sakit kepala	14	100
Nyeri mata	4	29
Nyeri otot	4	29
Nyeri sendi	4	29
Mual	0	0
Nyeri perut	4	29
Muntah	6	43
Diare	2	14
Perdarahan spontan	0	0
Ruam kulit	4	29
Ronkhi	0	0
Hati membesar	4	29
Limpa membesar	2	14
Ptechie	2	14
RL	4	29

6. Strain virus dan Analisis genom dengan klinis

Analisis strain virus pada tahap ini belum dapat dilakukan. Hal ini disebabkan oleh batalnya kegiatan deteksi genetik virus dengan menggunakan pemeriksaan sekuensing di Lembaga Eijkman. Analisis genetik akan lebih fokus pada gen E dan gen NS1 saja oleh karena terbatasnya reagen untuk pemeriksaan sekuensing.

VII. PEMBAHASAN

1. Dekripsi Distribusi

Data tren kasus DBD dari masing-masing kota digunakan untuk membandingkan serta meninjau kembali target sampel pada penelitian ini. Di kota Manado dan kota Samarinda target jumlah sampel masing-masing 270. Dengan melihat data tren kota Samarinda dan kota Manado, dapat diprediksi bahwa jumlah kasus masih bisa dicapai hingga akhir waktu penelitian. Oleh karena fokus penelitian ini pada identifikasi virus, maka penderita yang direkrut tidak hanya penderita demam berdarah dengue tapi juga penderita demam dengue. Namun begitu kenyataannya masih terdapat kekurangan jumlah sampel dibandingkan dengan target.

Demikian juga halnya dengan kegiatan penelitian di Ternate dan Jayapura. Target sampel yang tadinya masing-masing 120, namun berdasarkan data tren di kota Ternate dan Jayapura tidak mungkin untuk mendapatkan sampel dalam jumlah tersebut. Oleh karena itu jumlah target sampel dikurangi menjadi 60 untuk masing-masing kota ternate dan Jayapura. Dan kasus yang direkrut pada penelitian ini tidak hanya penderita demam berdarah dengue tapi juga demam dengue.

Di kota Samarinda tahun 2009 dan 2010 jumlah kasus meningkat pada akhir dan awal tahun. Sementara pada tahun 2011 dan 2012 walaupun data belum selesai, tampak ada penurunan rata-rata jumlah kasus DBD tiap bulan. Hal yang hampir sama juga terjadi di Mandao, Ternate dan Jayapura. Di Manado tahun 2010 terjadi lonjakan kasus DBD pada bulan Februari dan pada tahun berikutnya jumlah kasus menurun.

Dari Rumah Sakit Umum Daerah Abdul Wahab Sjahranie terkumpul 192 sampel kasus DD dan DBD, dengan jumlah penderita anak lebih banyak dibandingkan dengan jumlah penderita dewasa. Demikian juga dari Rumah Sakit Prof Kandou. Hal yang perlu mendapat perhatian adalah jumlah kasus dengan infeksi sekunder yang lebih banyak, dimana pada infeksi sekunder kondisi klinis lebih berat dibandingkan dengan infeksi primer. Hal ini disebabkan oleh fenomena ADE (*Antibody dependent Enhancement*), dimana antibody dari infeksi terdahulu yang berbeda

serotipe virusnya tidak menentralisasi infeksi namun sebaliknya akan mempermudah terjadinya infeksi. Ketika jumlah vektor meningkat akibat tingginya curah hujan, besar kemungkinan untuk terjadi lonjakan jumlah kasus infeksi dengue dengan manifestasi klinis yang berat.

Jumlah kasus anak yang lebih banyak terdapat pada anak usia sekolah, dapat dihubungkan dengan banyaknya tempat perindukan nyamuk di sekitar sekolah, yang mestinya menjadi sasaran program.

Berdasarkan serotipe virus, dari kota Manado dan Samarinda telah ditemukan keempat serotipe virus dengan perbandingan yang tidak jauh berbeda. Sementara dari Ternate dan Jayapura virus dengue serotipe 2 dan 3 masih yang dominan.

2. Manifestasi klinis

63 % penderita merupakan infeksi sekunder. Demam merupakan gejala utama demam dengue dan demam berdarah dengue. Walaupun beberapa penelitian melaporkan gejala infeksi virus dengue sangat bervariasi, mulai dari tanpa gejala hingga dengan manifestasi klinis yang berat.

Penderita kebanyakan datang ke rumah sakit atau tempat pengobatan pada hari ke 4, kemudian hari ke 3 dan hari ke 5. Saat dimana demam mulai turun namun belum tampak perbaikan klinis malah semakin berat.

Sakit kepala dirasakan pada 34 % penderita. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh banyaknya kasus infeksi dengue pada anak sementara anak kurang mengeluhkan sakit kepala. Mual dan muntah juga gejala yang mendukung kearah infeksi dengue 35 hingga 42 persen mengeluhkan mual dan muntah, atau gangguan pencernaan lain seperti diare.

Pembesaran hati juga menjadi gejala yang mendukung kearah infeksi dengue. Beberapa studi memperlihatkan terdapatnya kerusakan endotel pada liver sehingga menyebabkan darah masuk ke jaringan menyebabkan kesusakan sel liver. *Rumple Leeds* masih dapat menunjukkan tanda infeksi virus dengue, 27 % penderita positif RL. Perdarahan spontan, ruam kulit juga terdapat pada penderita *confirm* infeksi dengue.

Pada anak gejala demam, muntah, sakit kepala, nyeri perut, RL positif, dan hati membesar merupakan tanda dan gejala yang menonjol. Pada orang dewasa demam, mual, nyeri perut,

sakit kepala, muntah, serta nyeri mata, otot, sendi. Hal ini dapat disebabkan oleh karena orang dewasa lebih mudah mengungkapkan letak rasa nyeri dan tidak nyaman dibandingkan dengan anak-anak.

Infeksi primer pada anak ditandai dengan demam, muntah, dan sakit kepala. Hal berbeda dengan infeksi sekunder adalah petechie, yang merupakan manifestasi perdarahan spontan pada kulit. Sementara tes *Rumple Leeds* juga positif pada infeksi primer walaupun tidak banyak perbedaan. Pada orang dewasa gejala klinis pada infeksi primer dan sekunder tidak tampak banyak perbedaan, namun jumlah kasus yang dirawat oleh karena infeksi sekunder lebih banyak dibandingkan dengan infeksi primer.

3. Hematologi

Tidak banyak perbedaan berarti dari hasil pemeriksaan hematologi pada infeksi primer dan sekunder, anak dan dewasa, maupun berdasarkan serotipe virus. Bila dicermati, penderita *confirm* infeksi virus dengue baik itu infeksi primer maupun infeksi sekunder masuk ke perawatan di rumah sakit tidak semua dengan nilai trombosit dan Leukosit yang tinggi, namun beberapa hari kemudian akan menunjukkan perubahan nilai hematologi terutama leukosit. Trombosit tidak selalu turun secara bermakna.

4. Pemetaan serotipe virus

Dari Samarinda keempat serotipe virus sudah ditemukan, dengan perbandingan jumlah masing-masing serotipe hampir sama. Demikian juga dengan serotipe virus dari Manado. Bila dibandingkan dengan penelitian sebelumnya di Kalimantan Barat, jumlah virus dengue serotipe 3 lebih dominan ditemukan.

Serotipe virus dari Ternate dan Jayapura baru meliputi serotipe 2 dan 3. Belum dapat diputuskan apakah serotipe 1 dan 4 tidak ada di Ternate dan Jayapura mengingat jumlah sampel yang terkumpul masih sedikit. Hal lain yang menjadi pertimbangan adalah mudahnya transportasi memungkinkan untuk penyebaran serotipe maupun genotype virus dengue dari daerah lain.

5. Hubungan serotipe dengan klinis penderita

Bila dibandingkan dengan serotipe virus, perbedaan klinis tidak banyak berarti. Namun sebaiknya analisis ini dilakukan terhadap sampel dengan jumlah yang lebih banyak. Perlu untuk mempertimbangkan strain virus yang menginfeksi ungu, dibandingkan dengan klinis penderita untuk melihat pengaruh virus terhadap klinis penderita.

VIII. KESIMPULAN

1. Manifestasi klinis penderita infeksi dengue sangat bervariasi, demam merupakan tanda awal infeksi dengan manifestasi klinis yang ringan hingga berat. Kebanyakan penderita datang ke Rumah Sakit pada hari ke empat saat dimana suhu mulai turun namun gejala penyerta lain belum ada perbaikan bahkan bertambah berat.

Gejala penyerta yang utama adalah sakit kepala, mual, muntah, pembesaran hati serta gejala perdarahan seperti Ptechie atau perdarahan spontan lain serta tes *Rumple Leeds*.

Infeksi primer dan sekunder pada anak dibedakan dengan adanya ptechie.

2. Hematologi

Pemeriksaan hematologi yang menjadi pegangan pada infeksi virus dengue yang berat adalah trombosit dan leukosit. Pada penelitian ini, penderita *confirm* terinfeksi virus dengue tidak semua menunjukkan adanya penurunan trombosit dan leukosit pada saat datang ke Rumah Sakit. Penurunan jumlah trombosit dan leukosit terlihat setelah beberapa hari di rawat di Rumah Sakit.

3. Dari Pemeriksaan serotipe virus di keempat kota, yaitu Samarinda, Manado, Ternate dan Jayapura, tidak tampak dominasi serotipe virus tertentu. Serotipe virus di Samarinda dan Manado serotipe 1,2 dan 3 hampir merata, sementara serotipe 4 lebih sedikit.

Serotipe virus dengue dari Ternate dan Jayapura hanya serotipe 2 dan 3, namun masih mungkin untuk menemukan serotipe 1 dan 4 mengingat jumlah sampel yang diperiksa masih sedikit.

4. Tidak tampak hubungan serotipe virus dengue dengan gejala klinis yang ditimbulkan.

IX. SARAN

Karena keterbatasan waktu, hasil dan pembahasan penelitian ini masih terbatas. Pada penelitian ini terdapat banyak informasi tentang infeksi virus dengue baik itu aspek klinis, epidemiologi, serologi dan virologi. Untuk itu hasil dan pembahasan dari penelitian ini masih mungkin untuk dikembangkan.

Identifikasi genetik masih memerlukan waktu untuk optimasi primer gen E dan NS1. Selain itu kuantitas RNA virus dari sampel tidak begitu tinggi, sehingga untuk itu diperlukan satu tahap kegiatan lagi yaitu kultur virus. Memperbanyak kuantitas virus dengan kultur diharapkan hasil pemeriksaan sekuensing memberikan hasil yang optimal.

X. UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini dibiayai dari DIPA Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan (Pusat BTDK) Badan Litbangkes. Untuk itu kami mengucapkan terima kasih kepada bapak Kepala Pusat BTDK beserta jajarannya.

Penelitian ini juga melibatkan Dinas Kesehatan di Provinsi Kalimantan Timur, Sulawesi Utara, Maluku Utara dan Papua. Untuk kami mengucapkan terima kasih kepada Kepala Dinas Kesehatan Provinsi di Kalimantan Timur, Sulawesi Utara, Maluku Utara dan Papua beserta staf terkait.

Kami juga mengucapkan terima kasih kepada Direktur RSUD A.W Sjahranie di Samarinda beserta jajarannya, Direktur RSUP Prof Kandou di Manado beserta jajarannya, Direktur RSUD Chasan Boesoirie di Ternate beserta jajarannya, dan Direktur RSUD Jayapura beserta jajarannya. Demikian juga semua tim yang terlibat hingga terlaksananya penelitian ini.

XI. DAFTAR RUJUKAN

1. Pencegahan dan Pemberantasan Demam Berdarah Dengue di Indonesia. Direktorat Jendral Pengendalian Penyakit dan Penyehatan Lingkungan, Departemen Kesehatan, 2005.
2. Gubler, D. J. 1998. Dengue and dengue hemorrhagic fever. *Clin. Microbiol. Rev.* 11:480-496.
3. Gibbons, R. V., and D. W. Vaughn. 2002. Dengue: an escalating problem. *BMJ* 324:1563-156
4. World Health Organization. 1997. Dengue haemorrhagic fever: diagnosis, treatment, prevention and control, 2nd ed. World Health Organization, Geneva, Switzerland.
5. Suwandono A, Listiyaningsih E, Vasudevan S et.al., 2004. Genetic Changes in the Pre-membrane (prM) and Envelope (E) Genes of Indonesian Dengue 3 Viruses Isolated from Outbreak of Increasing Severity, A Poster Presentation, ASTMH Meeting, 7-10 November 2004, Miami.
6. Chaudry, S., Swaminathan, S., and Khanna, N. 2006. Viral genetics as a basis of dengue pathogenesis. *Dengue Bulletin.* 30: 121-132
7. Gubler, D. J. 1998. Dengue and dengue hemorrhagic fever. *Clin. Microbiol. Rev.* 11 (3): 480- 496.
8. Costa, S. M.V. Paes, D. F. Barreto, A. T. Pinhao, O. M. Barth, J. L. S. Queiroz, G. R. G. Armoa, M. S. Freire, A. M. B. Alves. 2006. Protection against dengue type 2 virus induced in mice immunized with a DNA plasmid encoding the non-structural 1 (NS1) gene fused to the tissue plasminogen activator signal sequence. *J. vaccine.* 24:195-205.
9. Soedarmo, S. P. 2004. Masalah demam berdarah dengue di Indonesia. Dalam: Hadinegoro, S. R. H. & H. I. Satari (ed.). 2004. Demam berdarah dengue: Naskah lengkap pelatihan bagi pelatih dokter spesialis anak & dokter spesialis penyakit dalam dalam tata laksana kasus DBD. Balai Penerbit FKUI, Jakarta: 1-13.
10. Low, J.G. Ooi, E.E. Tolsvensam, T. Leo, Y.S. Hibberd, M.L. et al. 2006. Early Dengue Infection and Outcome Study (EDEN) – Study Design and Preliminary Findings. *Ann Acad*

11. Diamond, M.S., Zachariah, M., dan Harris, E. 2002. Mycophenolic Acid (MPA) inhibits dengue virus infection by preventing replication of viral RNA. *Virology*. 304(2):211-21.
12. Lescar, J., Luo, D., Xu, T., Sampath, A., Lim, S.P., Canard, P., et al. 2008. Towards the design of antiviral inhibitors against flaviviruses: The case for the multifunctional NS3 protein from Dengue virus as a target. *Antiviral Res.* 80(2):94-101.
13. Whitby, K., Pierson, T.C., Geiss, B., Lane, K., Engle, M., Zhou, L., et al. 2005. Castanospermine, a Potent Inhibitor of Dengue Virus Infection In Vitro and In Vivo. *Journal of Virology*. 79(14): 8698–8706.
14. Anonym, 2006. Acuan Sediaan Herbal, Badan Pengawas Obat dan Makanan. Jakarta. 24-26.
15. Halstead SB. 1988. The pathogenesis of dengue: challenges to molecular biology. *Science*. 239: 476–81
16. Henchal, E.A dan Putnak, R. 1990. The dengue viruses. *Clin Micro Rev.* 3(4): 376-396.
17. World Health Organization. Dengue/dengue hemorrhagic fever. Fact sheet no. 117. 2002 [Accessed 27 December 2006]. Available at: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs117/en/index.html>
18. Lindenbach BD, Rice CM. 2001. Flaviviridae: The virus and their replication. In : Knipe, D.M., Howley, P.M, editors. *Fields Virology*. 4th ed. Philadelphia : Lippincott Williams & Wilkins. p.992-1125.
19. Depkes RI. 2009. Penyakit potensi KLB/wabah, Demam berdarah dengue. Dalam : *Profil Kesehatan RI 2008*. Depkes RI. Hal 45.
20. Setiati, TE, Wagenar, JFP., De Kruif, MD., Mairuhu, ATA., Van Gorp, ECM., Soemantri, A. 2006. Changing Epidemiology of Dengue Haemorrhagic Fever in Indonesia. *Dengue Bulletin*. 30 : 1-14.
21. Suwandono A, Kosasih H, Nurhayati, Kusriastuti R, Harun S, Ma'aroef C, et al. 2006. Four dengue virus serotypes found circulating during an outbreak of dengue fever and dengue haemorrhagic fever in Jakarta, Indonesia, during 2004. *Trans R Trop Med Hyg.* 100 (9):855-62.

22. Monath, TP dan Heinz, F.X. 1996. Flaviviruses. Dalam: Fields, B.N., Knipe, D.M., & P.M Howley. 1996. Field Virology. 3 ed. Lippincott-Raven, Philadelphia : 931-959.
23. Burke DS dan Monath TP. 2001. Flaviviruses. Dalam: Fields, B.N., Knipe, D.M., and P..M. Howley. 2001. Field Virology. 4 ed. Lippincott-Raven, Philadelphia: 1043-1124
24. Gubler, D.J. 1997. Dengue and Dengue Haemorrhagic Fever : its history and resurgence as a global public health problem. Dalam: Gubler, D.J & Kuno (eds). 1997. Dengue and Dengue Haemorrhagic Fever. CAB INTERNATIONAL, Colorado: 1-18.
25. Rico-Hesse, R. 2007. Dengue Virus Evolution and Virulence Models. Clin Infect Dis. 44(11): 1462-1466.
26. Malagiye, G.N., Fernando,S., Fernando, S., & Seneviratne, S.L. 2004. Dengue viral infections. Postgrad Med J. 80:588-601.
27. Beasley, DWC dan Barret, ADT. 2008. The infection agent. Dalam : Halstead . 1998. Dengue, tropical medicine: Science and Practise. Imperial College Press. London. 30-57.
28. ICTVdB-The Universal Virus Database,version 4.Diunduh dari : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ICTVdb/ICTVdb/>
29. Pramesyanti, A. Sekuens lengkap Nukleotida dan Perbandingan Homologi Genom virus Dengue Tipe 3.[Tesis]. Jakarta : Universitas Indonesia 2003
30. Medin, CL. 2005. Chemokine induction by dengue virus infection : Mechanisms and role of viral protein. [Dissertation]. University of Massachussets.
31. Leitmeyer KC, Vaughn DW, Watts DM, Salas R, Villalobos I, de Chacon, et al. 1999. Dengue virus structural differences that correlate with pathogenesis. J Virol. 73:4738-47.
32. Kurane,I. 2006. Degue Haemorrhagic Fever with special Emphasis on Immunopathogenesis. Comp. Immun. Microbiol. Infect. Dis. 30: 329-340.
33. Rothman,AL. dan Ennis, F.A. 1999. Mini review Immunopathogenesis of Dengue Haemorrhagic Fever. Virology. 257: 1-6.
34. Koraka, P. 2007. Dengue virus specific imun response: implication for laboratory diagnosis and vaccine development [Thesis] Rotterdam.(The Netherlands). Erasmus University

35. Atrasheuskaya,A., Petzelbauer,P.,Fredeking,TM.,Ignatiyev,G. 2002. Anti-TNF antibody treatment reduces mortality in experimental dengue virus infection. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*. 35: 33-42.
36. Avirutnan, P., Mehlhop, E. dan Diamond, MS. 2008. Complement and its role in protection and pathogenesis of Flavivirus infections. *Vaccine*. 26(Suppl 8): i100-i107.
37. Chuansumrit, A. dan Tangnararatchakit, K. 2006. Pathophysiology and management of Dengue Haemorrhagic Fever. *Transfusion Alternatives in Transfusion Medicine* 8 (Suppl. 1), 3-11.
38. Nakao S, Lai CJ, Young NS. 1989. Dengue virus, a flavivirus, propagates in human bone marrow progenitors and hematopoietic cell lines. *Blood*. 74: 1235-40.
39. Boonpucknavig S, Vuttiviroj O, Bunnag C, Bhamarapavati N, Nimmanitya S. 1979. Demonstration of dengue antibody complexes on the surface of platelets from patients with dengue hemorrhagic fever. *Am J Trop Med Hyg* 28: 881-4.
40. Spector,F.C., L.Liang, H. Giordano, M.Sivaraja dan M.G. Peterson.1998. Inhibition of herpes simplex replication by 2-amino thiazole via interactions with the helicase component of the UL5-UL8-UL52 complex. *J.Virol*. 72:6979-6987
41. Lemeshow, S., Hosmer Jr,D.W.,Klar,J.,dan Lwanga,S.K., 1990,"*Besar sampel dalam Penelitian Kesehatan*"(terjemahan) Gajah Mada University Press.
42. Lanciotti, R., et al. 1992. Rapid detection and typing of dengue viruses from clinical samples by using reverse transcriptase-polymerase chain reaction. *Journal of Clinical Microbiology*. 30(3)

SOP Perekrutan Subyek Penelitian

1. Penderita dengan suspek DBD
2. Penjelasan mengenai penelitian DBD kepada penderita
3. Persetujuan oleh penderita/wali (menandatangani informed consent) untuk mengikuti penelitian
4. Pengisian kuesioner sesuai hasil pemeriksaan dan ditandatangani oleh dokter pemeriksa
5. Pengambilan darah
6. Memberian biaya pembelian bahan makanan tambahan
7. Selesai, kuesioner diserahkan kepada koordinator penelitian

SOP Pemisahan Serum

1. 3-5 ml Whole blood dimasukkan ke dalam vacutainer (plain)
2. Sentrifuse 1000 rpm selama 5 menit atau biarkan selama 1 jam
3. Beri label/no sampel pada cryotube
4. Pisahkan serum, 200 ul dimasukkan ke dalam tabung cryotube yang sudah diisi transport buffer
5. Sisa serum masukkan ke dalam cryotube kosong
6. Lapsi tutup cryotube dengan seal (parafilm) yang sudah disiapkan
7. Serum, serum dengan buffer, Blood clot disimpan di dalam freezer (dalam keadaan beku)

KEMENTERIAN KESEHATAN RI
BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN KESEHATAN
PUSAT BIOMEDIS DAN TEKNOLOGI DASAR KESEHATAN

Formulir penjelasan dan persetujuan peserta penelitian
(*Informed & Consent formed*)

Dengan hormat,

Bapak/ibu/saudara/putra/putri bapak ibu saya minta ikut serta secara sukarela dalam penelitian yang berjudul

“Identifikasi genotype virus dengue dari daerah endemis DBD (Demam Berdarah Dengue)”

Pada penelitian ini Kementerian Kesehatan akan melaksanakan survei tentang penyakit yang ada di kota bapak/ibu. Survei ini dilakukan untuk mempelajari virus yang menjadi penyebab demam berdarah, adapun kegunaan survei ini adalah untuk pengembangan tata cara penanggulangan Demam Berdarah Dengue di Indonesia.

Dalam penelitian ini akan diambil sampel darah dari 120 sampai dengan 270 penderita di 2 rumah Sakit di kota Samarinda, Manado, Ternate, Manokwari dan Jayapura. Volume darah yang akan diambil sebanyak \pm 5 ml, diambil pada saat penderita dirawat di Rumah Sakit.

Pengambilan darah akan dilakukan oleh perawat Rumah Sakit dimana bapak/ibu/saudara/putra /putri bapak ibu dirawat. Resiko ketidak nyamanan bapak/ibu/saudara/putra/putri bapak ibu adalah sedikit rasa sakit karena tusukan pada pembuluh darah lengan.

Keuntungan yang akan bapak/ibu/saudara/putra /putri bapak ibu dapatkan dalam keikutsertaan dalam penelitian ini adalah mengetahui apakah dalam darah bapak/ibu/saudara/putra /putri bapak ibu mengandung virus penyebab demam berdarah, dan ikut berpartisipasi dalam pengembangan ilmu pengetahuan khususnya demam berdarah.

Sebagai ucapan terima kasih kami, apabila pengambilan darah selesai dilakukan bapak/ibu/saudara/putra /putri bapak ibu akan mendapatkan Rp 50,000,- guna pembelian vitamin atau bahan makanan yang berguna bagi kesehatan bapak/ibu/saudara/putra /putri bapak ibu.

Apabila dalam proses pemeriksaan dan pengambilan darah terjadi sesuatu yang tidak diinginkan oleh bapak/ibu/saudara/putra /putri bapak ibu dapat menghubungi dokter penanggung jawab di Rumah Sakit atau ketua pelaksana penelitian ini:

Dr. Reni Herman, M.Biomed

Badan Litbangkes, Jl. Percetakan Negara No. 29, Jakarta 10560

No. Telp: 021 4261088 atau HP 081314659952

Bapak/ibu/saudara dapat menolak atau mengundurkan diri untuk tidak ikut dalam penelitian ini, hal ini sepenuhnya adalah hak bapak/ibu/saudara. Apabila bapak/ibu/saudara menyetujui untuk ikut dalam penelitian ini, mohon bapak/ibu/saudara mau menandatangani formulir persetujuan ini.

.....,2012

Nama:.....

Tanda tangan/cap jari peserta.....

Nama dan tanda tangan saksi :.....

Kuesioner bagi tersangka DBD di Rumah Sakit

Sampel Darah :	Bagian :
Per Penanggung Jawab :	
Med Rec :	Rumah Sakit :
	Propinsi :

IDENTIFIKASI

Nama :	Nama Ayah :	Nama Ibu:																							
Tanggal Lahir: <table style="display: inline-table; border: none; text-align: center;"> <tr> <td style="border: 1px solid black; width: 15px; height: 15px;"></td> <td style="border: 1px solid black; width: 15px; height: 15px;"></td> <td style="border: none; padding: 0 5px;">/</td> <td style="border: 1px solid black; width: 15px; height: 15px;"></td> <td style="border: 1px solid black; width: 15px; height: 15px;"></td> <td style="border: none; padding: 0 5px;">/</td> <td style="border: 1px solid black; width: 15px; height: 15px;"></td> <td style="border: 1px solid black; width: 15px; height: 15px;"></td> <td style="border: 1px solid black; width: 15px; height: 15px;"></td> <td style="border: 1px solid black; width: 15px; height: 15px;"></td> </tr> <tr> <td colspan="3">Tanggal Bulan</td> <td colspan="4">Tahun</td> <td colspan="4"></td> </tr> </table> Atau Umur : <table style="display: inline-table; border: none; text-align: center;"> <tr> <td style="border: 1px solid black; width: 15px; height: 15px;"></td> <td style="border: 1px solid black; width: 15px; height: 15px;"></td> </tr> <tr> <td colspan="2">Bulan / Tahun</td> </tr> </table>			/			/					Tanggal Bulan			Tahun										Bulan / Tahun	
		/			/																				
Tanggal Bulan			Tahun																						
Bulan / Tahun																									
Jenis Kelamin (Berikan tanda (x) pada satu kotak): <input type="checkbox"/> Laki-laki <input type="checkbox"/> Perempuan Suku :																									
Tanggal Masuk Perawatan:																									
Alamat rumah :	RT :	RW:																							
Desa/kelurahan :	Kecamatan :	No.Telp :																							

RIWAYAT PENYAKIT

Jenis Penyakit <input type="checkbox"/> Baru <input type="checkbox"/> Rujukan	Keluhan utama :
Riwayat Demam <input type="checkbox"/> Ada <input type="checkbox"/> Tidak (keluhan utama bukan demam)	Sudah berapa hari / sejak kapan :
Sudah berapa hari / sejak kapan :	

KELUHAN LAIN

Kepala <input type="checkbox"/> Ya <input type="checkbox"/> Tidak	Nyeri belakang mata <input type="checkbox"/> Ya <input type="checkbox"/> Tidak	Nyeri otot <input type="checkbox"/> Ya <input type="checkbox"/> Tidak	Nyeri sendi <input type="checkbox"/> Ya <input type="checkbox"/> Tidak
Menelan <input type="checkbox"/> Ya <input type="checkbox"/> Tidak	Batuk <input type="checkbox"/> Ya <input type="checkbox"/> Tidak	Pilek <input type="checkbox"/> Ya <input type="checkbox"/> Tidak	
<input type="checkbox"/> Ya <input type="checkbox"/> Tidak	Nyeri perut <input type="checkbox"/> Ya <input type="checkbox"/> Tidak	Muntah <input type="checkbox"/> Ya <input type="checkbox"/> Tidak	Diare <input type="checkbox"/> Ya <input type="checkbox"/> Tidak
Perdarahan spontan <input type="checkbox"/> Ya <input type="checkbox"/> Tidak	Bila Ya, di mana? Hidung <input type="checkbox"/> Gusi <input type="checkbox"/> Kulit <input type="checkbox"/> Muntahan <input type="checkbox"/> Tinja <input type="checkbox"/>		
	Konjungtiva <input type="checkbox"/>	Menomothor:hagi <input type="checkbox"/> (Khusus wanita)	Lain-lain <input type="checkbox"/> Sebutkan.....
Lesi di kulit <input type="checkbox"/> Ya <input type="checkbox"/> Tidak	Keluhan lain:		

Pemeriksaan Fisik

Tinggi Badan : <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> cm	Berat Badan: <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> kg
---	---

TANDA VITAL

Kesadaran: Baik <input type="checkbox"/> Menurun <input type="checkbox"/> Koma <input type="checkbox"/>			
Tekanan darah:	mmHg	Frekuensi Nadi:	kali/menit
Frekuensi nafas:	kali/menit	Suhu:	°C

KEPALA

Konjungtiva anemis: Ya <input type="checkbox"/> Tidak <input type="checkbox"/>	Sklera ikterik: Ya <input type="checkbox"/> Tidak <input type="checkbox"/>
Membran Tonsil : Ya <input type="checkbox"/> Tidak <input type="checkbox"/>	Faring Hiperemis: Ya <input type="checkbox"/> Tidak <input type="checkbox"/>

PARU-PARU

Rales Pleura: Ya <input type="checkbox"/> Tidak <input type="checkbox"/>	Suara Ronkhi: Ya <input type="checkbox"/> Tidak <input type="checkbox"/>
--	--

ABDOMEN

Hepati membesar: Ya <input type="checkbox"/> Tidak <input type="checkbox"/>	Limpa membesar: Ya <input type="checkbox"/> Tidak <input type="checkbox"/>	Ascites: Ya <input type="checkbox"/> Tidak <input type="checkbox"/>
---	--	---

TANDALAIN

Edema: Ya <input type="checkbox"/> Tidak <input type="checkbox"/>	Petechiae: Ya <input type="checkbox"/> Tidak <input type="checkbox"/>
Temporal lead positif:	Tanda syok lain:

CATATAN KHUSUS

Perfusi darah: Ya <input type="checkbox"/> Tidak <input type="checkbox"/>	
Diagnosis: (jika DBD disertai dengan derajat penyakit)	Diagnosis Banding:
Kondisi pulang: Sembuh <input type="checkbox"/> Meninggal <input type="checkbox"/> Pulang paksa <input type="checkbox"/> Rujuk <input type="checkbox"/>	

.....2012

Pewawancara/pemeriksa,

(.....)

Mengetahui ketua Pelaksana,

(dr. Reni Herman, MBIomed)

OBSERVASI HARIAN

Tanggal																
Hari	1	2	3	4	5	6	7	8								
Kesadaran																
Tek. Darah																
Nadi																
Nafas																
Suhu																

	Ya	Tidak														
Edema																
Efusi																
Pleura																
Ascites																

Petechie																
Epistaksis																
Gusi berdarah																
Melana																
Hematesis																
Lain-lain																

Hb																
Ht																
Thrombosit																
Lekosit																

*Hasil pemeriksaan laboratorium ditulis dengan lengkap

HASIL PEMERIKSAAN LABORATORIUM DI BADAN LITBANGKES

ELISA IgM abs.....Pos Neg Eq IgG abs..... Pos Neg Eq

RT PCR: Dengue 1 Dengue 2 Dengue 3 Dengue 4 Negatif

Sekuensing:

Lampiran Realisasi Anggaran Penelitian Tahun 2012

Judul Penelitian : Identifikasi Serotipe dan Genotipe Virus Dengue dari Daerah Endemis DBD

(lanjutan)

Ketua Penelitian: dr. Reni Herman, MBiomed

Pagu Penelitian : Rp 3,303,389,000

Realisasi Total (Rp)	Uraian Kegiatan Realisasi					
	Honor <i>Output</i> Kegiatan	Belanja Bahan	Belanja Non Operasional	Perjadin	Belanja Jasa Profesi	Belanja Jasa
2,312,082,449	499,950,000	1,566,004,049	33,700,000	212,428,400	0	0

LEMBAR PENGESAHAN

Jakarta, Januari 2013

Kepala Bidang Biomedis

dr. Roselinda, M.Epid
NIP 195807011987012001

Ketua Pelaksana

dr. Reni Herman, M.Biomed
NIP 197110212005012002

Ketua Panitia Pembina Ilmiah

Dr.drg. MagdarinaD.A, MSc
NIP 195012061984022001

Kepala

Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan



Drs. Ondri Dwi Sampurno, MSi Apt
NIP 196211191988031001

Naskah Publikasi

Sebaran serotype virus dengue di Pontianak, Samarinda, Manado, Ternate dan Jayapura tahun 2012

Reni Hernan, ArieArdiansyah

Abstrak

Latar belakang. Di Indonesia penyakit Demam Berdarah Dengue (DBD) sampai saat ini masih merupakan salah satu masalah kesehatan masyarakat, terutama di kota-kota besar. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui sebaran serotipe virus dengue tahun 2012 di kota Samarinda, Manado, Ternate dan Jayapura.

Metode. Desain penelitian potong lintang. Data yang dikumpulkan masing-masing dari Rumah Sakit di Samarinda, Manado, Ternate dan Jayapura. Sampel sera dikumpulkan dari penderita yang datang ke bagian Penyakit Dalam dan bagian Anak, criteria demam 2 sampai 7 hari, dengan manifestasi perdarahan dan atau trombosit < $100.000/\text{mm}^3$, Hematokrit > 20 % nilai normal serta menandatangani *informed consent*. Darah penderita diambil maksimal 5 ml, serum dipisahkan dan dilakukan pemeriksaan RT-PCR untuk menentukan serotype virus.

Hasil. Sampel yang terkumpul pada penelitian ini 660, 270 sera dari Samarinda dan Manado, 60 sera dari Ternate dan Jayapura. Penderita datang ke Rumah Sakit terbanyak setelah 4 hari demam. Dari Hasil pemeriksaan RT-PCR, lebih dari 60% positif, dengan komposisi serotipe terbanyak di Samarinda dengue 4, di Manado dengue 2, dan hanya dengue 2 dan dengue 3 di Ternate dan Jayapura.

Kesimpulan. Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa keempat serotipe virus dengue bersirkulasi di Samarinda dan Manado, sementara di Ternate dan Jayapura hanya dengue 2 dan dengue 3.

Kata kunci : DBD, dengue, serotype,

Pendahuluan

Penyakit Demam Berdarah Dengue (DBD) disebabkan oleh infeksi virus dengue, yang terdiri dari 4 serotipe (1-4).¹ Pada saat ini DBD menjadi endemis pada lebih dari 100 negara-negara di Afrika, Amerika, Mediterania Timur, Asia Tenggara, Pasifik Barat, dan merupakan ancaman bagi lebih dari 2,5 milyar orang.² World Health Organization (WHO) memperkirakan kemungkinan terjadi infeksi DBD pada 50 juta sampai 100 juta orang di seluruh dunia setiap tahun, dimana 250.000 sampai 500.000 merupakan kasus DHF dengan kematian sebanyak 24.000 orang setiap tahun.³

Di Indonesia penyakit DBD sampai saat ini masih merupakan salah satu masalah kesehatan masyarakat, terutama di kota-kota besar seperti Jakarta. Sejak tahun 1986 penyakit ini penyebarannya cenderung meluas dan jumlah kasus cenderung meningkat dari tahun ke tahun.⁴ Penelitian tentang virus dengue di Indonesia tahun 1979 telah menemukan keempat serotype bersirkulasi di Sleman, Jogjakarta dan Jakarta.⁵ Pada kejadian luar biasa DBD di Jakarta tahun 2004, juga ditemukan sirkulasi keempat serotype dengan serotype dominan adalah dengue 3.⁶

Manifestasi klinik infeksi dengue sangat bervariasi, mulai dari tanpa menimbulkan gejala, demam yang tidak dapat diketahui penyebabnya, demam dengue, demam berdarah dengue hingga sindrom syok dengue (DSS).⁷ Manifestasi klinis yang berat ditandai dengan kebocoran plasma, biasanya terjadi setelah akhir fase viremia. Oleh karena itu kebocoran plasma lebih sering dihubungkan dengan faktor imunologi akibat infeksi dari pada faktor virus secara langsung.⁸ Meskipun begitu, virus masih diduga sebagai salah satu faktor penyebab beratnya manifestasi klinis akibat infeksi virus dengue.⁹

Pada penelitian ini dilakukan identifikasi serotipe virus dengue untuk mengetahui sebaran serotipe virus dengue di kota Samarinda, Manado, Ternate dan Jayapura tahun 2012.

Metode

Penelitian ini merupakan studi potong lintang, dilakukan di Rumah Sakit di Samarinda, Manado, Ternate dan Jayapura. Pengumpulan sampel sera dilakukan selama bulan Juni-Desember 2012; populasi penelitian adalah pasien pengunjung Rumah Sakit Umum dari masing-masing kota. Sampel penelitian adalah sera yang

berasal dari pengunjung Rumah Sakit yang berobat ke Bagian Anak dan Penyakit Dalam yang telah ditetapkan oleh klinisi sebagai tersangka penderita DBD, dengan kriteria WHO yaitu mengalami demam tinggi mendadak/ tanpa sebab yang jelas, berlangsung terus menerus selama 2-7 hari, disertai manifestasi perdarahan (sekurang-kurangnya uji *Tourniquet* positif), dan/atau *trombositopenia* (trombosit $\leq 100.000/\mu\text{l}$) dan hemokonsentrasi ($\text{Ht} \geq 20\%$ dari normal)¹⁰ serta bersedia untuk berpartisipasi dan menandatangani *informed consent*. Kriteria eksklusi adalah tersangka penderita DBD yang menolak untuk berpartisipasi.

Dengan asumsi prevalensi penderita demam berdarah yang merujuk ke Rumah Sakit adalah 95%, $(P) = 95,1\%$, tingkat keyakinan (*Confidence Interval*) = 95%, nilai $Z = 1,96$, jarak $(d) = 5\%$, sertaantisipasi *drop out* 20%, maka jumlah sampel penelitian di masing-masing Rumah Sakit 90 sera.¹¹

Anak-anak dan dewasa yang dinyatakan tersangka penderita DBD oleh dokter ahli Anak atau dokter ahli Penyakit Dalam, memungkinkan untuk diambil darahnya serta memberikan persetujuannya untuk berpartisipasi dalam penelitian, dicatat data klinisnya serta diambil darah dari vena di *fossa cubiti* sebanyak 2-5 ml. Serum dipisahkan dan disimpan dalam *freezer*. Pada waktu yang sudah ditentukan sera yang sudah terkumpul diambil dan dibawa ke laboratorium Puslitbang BMF, Badan Litbangkes untuk pemeriksaan antigen dan serotipe virus.

Antigen dan serotipe virus dengue ditentukan dengan mendeteksi RNA virus. Identifikasi dimulai dengan mengisolasi RNA virus, menggunakan QIAamp Viral RNA Kit (Qiagen) sesuai dengan protokol. Lisis virus menggunakan *buffer* yang mengandung guanidin tiosianat, diikuti dengan 2 kali pencucian menggunakan *buffer* yang salah satunya juga mengandung guanidin tiosianat. Filtrasi menggunakan QIAamp Mini *spin column* dan terakhir elusi menggunakan *buffer* yang mengandung *Rnase free water* dengan 0,04% sodium azida.

RNA virus diidentifikasi teknik *Reverse transcriptase-Polimerase Chain Reaction* (RT-PCR), dengan primer spesifik virus dengue dan protokol yang dikembangkan oleh Lanciotti¹², Uji RT-PCR dilakukan pada semua sampel dengan sedikit modifikasi sesuai dengan protokol yang dianjurkan oleh produsen kit Platinum *Taq DNA Polymerase* (Invitrogen).

Data dari lapangan dikumpulkan setelah mendapatkan persetujuan dari komisi etik

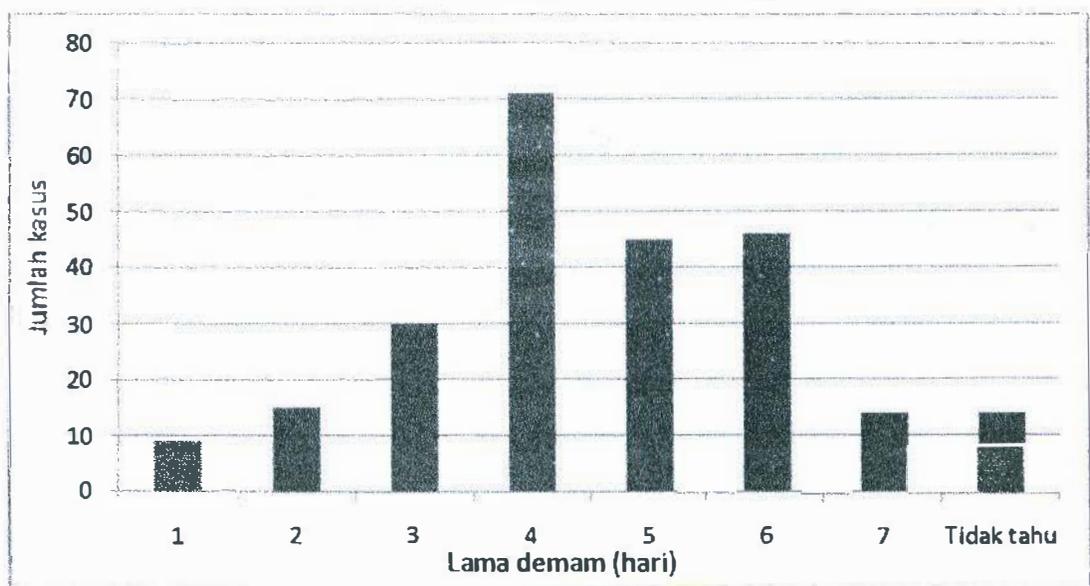
dan di-entry dengan menggunakan program SPSS PC versi 15.

Hasil

660 sera tersangka DBD telah dikumpulkan pada penelitian ini. Dari Samarinda dan Manado masing-masing 270 sera dan dari Ternate dan Jayapura masing-masing 63 sera.

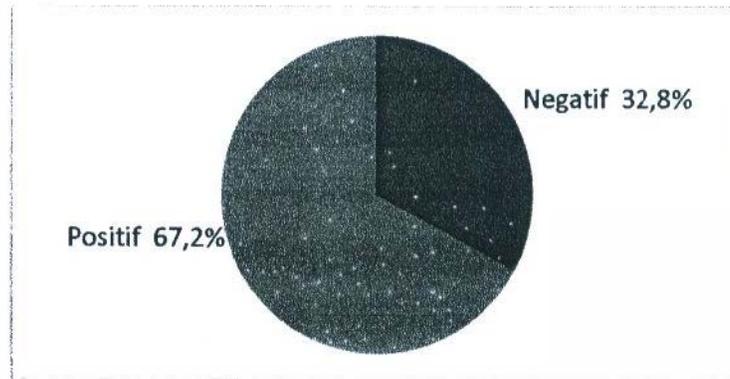
Penderita DBD yang datang ke Rumah Sakit biasanya setelah mengalami demam beberapa hari. Pada gambar 1, tampak proporsi terbanyak penderita DBD yang datang ke Rumah Sakit adalah pada hari ke 4 demam (29%), diikuti dengan hari ke 6 dan 5 (masing-masing 18,9% dan 18,4%).

Gambar 1. Lama demam ketika penderita datang ke Rumah Sakit



Hasil uji RT-PCR pada sera tersangka DBD dari Samarinda, Manado, Ternate dan Jayapura positif dengan rata-rata proporsi diatas 60%. (Gambar 2).

Gambar 2. Hasil Uji RT-PCR terhadap sampel tersangka penderita DBD



Berdasarkan hasil identifikasi serotipe virus pada sera penderita DBD, keempat serotipe virus dengue bersirkulasi di Samarinda, Manado, Ternate dan Jayapura. Namun, ada perbedaan pada sebaran serotipe virus. Di Samarinda, virus yang paling dominan adalah dengue serotipe 4, sementara di Manado serotipe 2, meskipun keempat serotipe virus ada dari masing-masing kota. Di Ternate dan Jayapura hanya ada serotipe 2 dan 3. (Tabel 4).

Tabel 1. Hasil identifikasi serotipe virus dengue pada hasil positif RT-PCR penderita DBD di Pontianak, Medan dan Jakarta

Serotipe virus	Samarinda	Manado	Ternate	Jayapura
Den-1	21 (11%)	24 (14%)	0 (0%)	0 (0%)
Den-2	21 (11%)	31 (19%)	16 (27%)	16 (27%)
Den-3	18 (9%)	17 (10%)	10 (17%)	10 (17%)
Den-4	26 (14%)	5 (3%)	0 (0%)	0 (0%)
Total positif	86	65	77	26

Diskusi

Jumlah kasus DBD yang disajikan pada penelitian ini bukanlah merupakan jumlah keseluruhan kasus DBD yang ada di kota Samarinda, Manado, Ternate dan Jayapura

Namun merupakan jumlah kasus DBD yang dirawat di Rumah Sakit selama masa penelitian. Jumlah sera yang didapat pada penelitian ini dipengaruhi oleh terbatasnya waktu pengumpulan kasus DBD yang hanya empat bulan. Oleh karena manifestasi klinik infeksi dengue sangat bervariasi, mulai dari tanpa menimbulkan gejala, hingga menimbulkan perdarahan dan syok,⁷ maka sera penderita yang dikumpulkan pada penelitian ini merupakan sera dari kasus DBD dengan manifestasi klinis berat, karena disertai manifestasi perdarahan atau dengan gejala klinis yang berpotensi menimbulkan perdarahan.

Pada infeksi dengue, viremia terjadi mulai dari beberapa hari sebelum demam, mencapai puncaknya pada hari pertama dan kedua kemudian mulai turun pada hari ketiga.¹³ Jadi, pada awal demam merupakan saat terbaik untuk mendeteksi virus dengue dari specimen darah penderita. Pada penelitian ini, kebanyakan penderita dirawat di Rumah Sakit pada hari ke 4-6 demam (tabel 1). Dapat dimengerti bila hasil pemeriksaan RT-PCR tidak semua positif (tabel 2).

Hal yang perlu mendapat perhatian dari hasil penelitian ini adalah sebaran serotipe virus Dengue di Samarinda, Manado, Ternate dan Jayapura. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa serotipe 4 ditemukan pada Samarinda dan Manado, sama dengan hasil penelitian yang dilakukan di Jawa tahun 1976-1978⁵ maupun pada kejadian luar biasa DBD di Jakarta tahun 2004.⁶ Hal menarik lainnya adalah serotipe virus yang dominan ditemukan dari masing-masing kota. Secara umum virus dengue serotipe 3 adalah yang paling dominan ditemukan di Indonesia.^{5,6} Pada penelitian ini, virus dengue serotipe 3 terlihat paling menonjol di Manado, berbeda jauh dengan serotipe lainnya. Di Samarinda, serotipe 4 diidentifikasi paling banyak, diikuti dengan serotipe 3 dan 1. Sementara di Ternate dan Jayapura virus yang ditemukan adalah serotipe 3 diikuti dengan serotipe 2. (Tabel 3). Hasil ini menunjukkan bahwa virus dengue serotipe 3 paling banyak memberikan gejala klinis dengan manifestasi perdarahan atau berpotensi menimbulkan perdarahan, begitu juga virus dengue serotipe 2 dan 1.

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa keempat serotipe virus dengue bersirkulasi di Samarinda dan Manado dengan mayoritas virus dengue serotipe 4 di Samarinda dan serotipe 2 di Manado.

Ucapan Terimakasih

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

Kepada teman-teman Hastini, Farida Siburian, 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 Soedarso dan Antonius di Pontianak; Rumah Sakit Pirngadi dan Adam Malik di MedansertaRumahSakitKoja dan Tarakan di Jakarta penulis mengucapkan terima kasih yang sebanyak banyaknya atas semua bantuan dan partisipasinya dalam pengambilan sampel sehingga penelitian ini dapat berjalan dengan baik.

Daftar Rujukan

1. Pencegahan Dan Pemberantasan Demam Berdarah Dengue Di Indonesia, Direktorat Jendral Pengendalian Penyakit dan Penyehatan Lingkungan, Departemen Kesehatan, 2005.
2. Gubler, D. J. Dengue and dengue hemorrhagic fever. *Clin. Microbiol. Rev.* 1998;11:480-496.
3. Gibbons, R. V., and D. W. Vaughn. Dengue: an escalating problem. *BMJ* 2002;324:1563-1566
4. World Health Organization. *Dengue haemorrhagic fever: diagnosis, treatment, prevention and control*, 2nd ed. World Health Organization, Geneva, Switzerland. 1997.
5. Loroño-Pino, M.A., Cropp, C.B., Farfán, J. A., Vorndam, A. V., E. M. Rodríguez-Angulo, Rosado-Peredes, E.P., et al. Common occurrence of concurrent infections by multiple dengue virus serotypes. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1999;61(5):725-730
6. Suwandono, A, Kosasih, H., Nurhayati, Kusriastuti, R, Harun, S., Ma'roef, C., et al. Four dengue virus serotypes found circulating during an outbreak of dengue fever and dengue haemorrhagic fever in Jakarta, Indonesia, during 2004. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 2006; 100: 855—862.

7. Malagiye, G.N., Fernando, S., Fernando, S., & Seneviratne, S.L. Dengue viral infections. *Postgrad Med J.* 2004; **80**:588-601.
8. Medin, CL. Chemokine induction by dengue virus infection : Mechanisms and role of viral protein. [Dissertation]. University of Massachusetts. 2005.
9. Cologna, R and Rico-Hesse, R. American Genotype Structures Decrease Dengue Virus Output from Human Monocytes and Dendritic Cells. *Journal Of Virology.* 2003; **77**:3929–3938
10. Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2003. Pencegahan Dan Penanggulangan Penyakit Demam Dengue Dan Demam Berdarah Dengue. Petunjuk Lengkap Terjemhandari WHO Regional Publication SEARO No. 29: "Prevention and Control of Dengue and Dengue Haemorrhagic Fever " hal. 8.
11. Lemeshow, S., Hosmer Jr, D.W., Klar, J., dan Lwanga, S.K. Besar sampel dalam Penelitian Kesehatan (terjemahan). Gajah Mada University Press. 1990
12. Lanciotti, R., et al. Rapid detection and typing of dengue viruses from clinical sampels by using reverse transcriptase-polymerase chain reaction. *Journal of Clinical Microbiology.* 1992; **30**(3): 545-551.
13. World Health Organization. Dengue : Guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control. Geneva: The Organization, 2009.