

Aspek Klinis dan Pemeriksaan Laboratorium untuk Diagnosis Demam Berdarah Dengue

Melly Ariyanti¹, Debie Anggraini^{2*}

¹ Laboratorium Klinik, RSUD Kebayoran Baru, Jakarta, Indonesia

² Bagian Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Baiturrahmah

*Email : debieanggraini@fk.unbrah.ac.id

Abstrak

Infeksi dengue adalah infeksi virus melalui arthropoda yang ditemukan di seluruh dunia. Penyakit ini disebabkan oleh virus dengue yang terdiri dari empat serotipe dan masing-masing serotipe tersebut dapat menyebabkan penyakit. Patogenesis infeksi dengue, khususnya mekanisme manifestasi demam berdarah dengue (DBD) masih belum dipahami secara jelas. Hasil pemeriksaan laboratorium pada demam berdarah dengue ditemukan trombositopenia ($\leq 100.000/\text{mm}^3$), peningkatan hematokrit 20% dan uji Rumpel Leed positif. Lima uji serologi dasar yang digunakan untuk mendeteksi antibodi dalam mendiagnosis infeksi dengue adalah hemaglutinasi-inhibisi (HI), fiksasi komplemen (CF), uji netralisasi (NT), IgM capture enzyme-linked immunosorbent assay (MAC-ELISA), dan IgG tidak langsung. ELISA. Pemeriksaan RT-PCR di sejumlah penelitian dilaporkan berhasil mendeteksi virus dengue. Pemeriksaan ini memiliki spesifisitas dan sensitivitas yang lebih baik dibandingkan isolasi virus dengan waktu perputaran yang cepat. Pemeriksaan laboratorium pada infeksi dengue meliputi pemeriksaan hematologi, serologi dan asam nukleat yang berperan dalam mendukung diagnosis demam berdarah dengue secara cepat dan akurat.

Kata kunci: Demam Berdarah Dengue, Pemeriksaan Laboratorium

Abstract

Dengue infection is a viral infection through arthropods that is found throughout the world. This disease is caused by dengue virus which consists of four serotypes and each of these serotypes can cause disease. The pathogenesis of dengue infection, especially the mechanism of dengue hemorrhagic fever (DHF) manifestations is still not clearly understood. The results of laboratory tests on dengue hemorrhagic fever found thrombocytopenia ($\leq 100,000/\text{mm}^3$), a 20% increase in hematocrit and a positive Rumpel Leed test. Five basic serological tests used to detect antibodies in diagnosing dengue infection are haemagglutination-inhibition (HI), complement fixation (CF), neutralization test (NT), IgM capture enzyme-linked immunosorbent assay (MAC-ELISA), and indirect IgG. ELISA. RT-PCR examination in a number of studies was reported to have successfully detected the dengue virus. This examination has better specificity and sensitivity compared to virus isolation with a fast turn around time. Laboratory tests on dengue infection include hematological, serological and nucleic acid tests that play a role in supporting the rapid and accurate diagnosis of dengue hemorrhagic fever.

Keywords: Dengue Hemoragic Fever, Laboratory examination

I. PENDAHULUAN

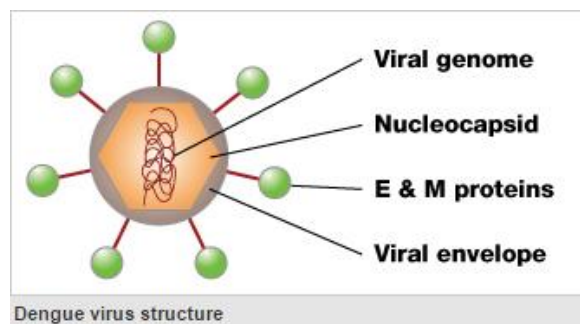
Infeksi dengue adalah infeksi virus melalui arthropoda yang banyak ditemukan di seluruh dunia. Penyakit ini disebabkan virus Dengue yang terdiri dari empat serotipe dan masing-masing serotipe ini dapat menyebabkan penyakit. Gejala mulai dari hanya demam disebut demam dengue (DD), demam berdarah dengue (DBD) dan dengue shock syndrome (DSS) (Rodenhuis-Zybert et al., 2010).

II. TINJAUAN PUSTAKA

Infeksi dengue disebabkan oleh virus Dengue yang termasuk genus Flavivirus dan famili Flaviviridae. Empat serotipe yang berbeda dari DENV telah diidentifikasi yaitu DENV-1, DENV-2, DENV-3, dan DENV-4 (Alcaraz-Estrada et al., 2010; Rodenhuis-Zybert et al., 2010).

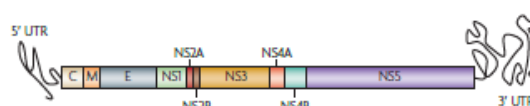
Struktur Virus Dengue

Virus Dengue secara morfologi adalah partikel berbentuk bulat dengan diameter 50 nm, berisi nukleokapsid berukuran 30 nm dikelilingi oleh selubung lipid. Dua protein struktural, envelope (E), dan protein membran (M), terdapat dalam membran lipid. Glikoprotein E menjadi penentu sifat antigenik virus dan sangat penting dalam attachment dan entry virus. Protein M, disintesis dari prekursor (prM), berfungsi sebagai chaperon selama pematangan partikel virus. Nukleokapsid terdiri dari protein kapsid (C), protein dasar dengan afinitas terhadap RNA yang berhubungan dengan genom (Gambar 2.1). Genom virus Dengue adalah ssRNA bermuatan positif berukuran 11 kb (Alcaraz-Estrada et al., 2010; Rodenhuis-Zybert et al., 2010).



Gambar 1. Struktur Virus Dengue (Anonymous, 2015a)

Open reading frame genom DENV sangat unik, diapit oleh dua daerah untranslated region (UTR), yang mengandung unsur struktural dan fungsional yang dibutuhkan untuk translasi dan replikasi virus. Daerah N-terminal mengode protein struktural C, prM dan E, diikuti oleh NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B dan NS5 (Gambar 2.2). Sebagian besar protein nonstruktural berperan dalam replikasi Flavivirus. Urutan imunogenitas tertinggi dalam merangsang pembentukan antibodi adalah protein E diikuti protein prM dan C, Sedangkan pada protein nonstruktural yang paling berperan adalah protein NS1 (Alcaraz-Estrada et al., 2010; Rodenhuis-Zybert et al., 2010).



Gambar 2. Genom Virus Dengue (Guzman et al., 2010)

Protein C memiliki berat molekul ~ 13.500 Dalton dan kaya arginin dan residu lisin. Protein C adalah protein pertama yang disintesis selama proses translasi. Protein M memiliki berat molekul ~ 8.000 Dalton adalah protein non-glikosilasi yang terbentuk setelah pembelahan proteolitik prekursor prM terglykosilasi selama maturasi virus. Pembentukan M dari prM penting dalam morfogenesis virus yang meningkatkan infektivitas virus. Protein E memiliki berat molekul yang bervariasi antara serotipe dari

~ 51.000 sampai ~ 59.000 Dalton. Protein E berperan dalam menentukan sifat antigen dari virus Dengue. Heterolog sifat antigen protein E dari DENV terkait dengan reaktivitas silang antara empat serotipe DENV. Protein E berperan dalam beberapa kegiatan biologis penting karena merupakan virus hemagglutinin dan protein yang mengikat reseptor sehingga menginduksi antibodi netralisasi virus dan berperan dalam fusi membran dan replikasi virus. Selubung virus terdiri dari lipid bilayer, yang berasal dari membran sel pejamu (Koraka, 2007).

Flavivirus NS1 merupakan glikoprotein dengan berat molekul 46-55 kDa, tergantung pada glikosilasinya. Protein ini ditemukan dalam bentuk yang berbeda pada sel yang berbeda.

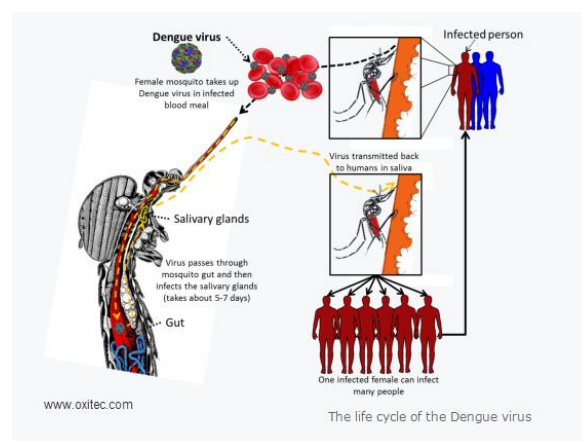
Protein NS1 imatur berbentuk monomer dalam retikulum endoplasma, dan diolah menjadi homodimer stabil yang berikatan dengan permukaan membran melalui glycosyl phosphatidylinositol. Protein NS1 yang mature mengandung 352 residu asam amino. Protein NS1 DENV tidak seperti protein nonstruktural lainnya, dapat disekresikan sebagai soluble heksamer, dalam bentuk partikel lipoprotein. Antigen NS1 beredar pada pasien dengue dari hari pertama setelah timbulnya demam sampai hari ke-9, saat fase klinis penyakit ini hilang. Kadar serum NS1 diperkirakan berkisar 0,01-50 mg/ml dan konsentrasi awal NS1 dalam darah berhubungan dengan tingkat keparahan penyakit. Deteksi antigen NS1 DENV berhasil digunakan untuk diagnosis awal infeksi DENV (Valdes et al, 2000; McBride, 2009; Chuang et al., 2013).

Vektor Dan Trasmisi Demam Berdarah Dengue

Aedes aegypti dan *Aedes albopictus* merupakan dua vektor yang penting dalam penyebaran dengue di Indonesia. Spesies ini merupakan nyamuk pemukiman, stadium pradewasanya mempunyai habitat

perkembangbiakan di tempat penampungan air/wadah yang berada di permukaan dengan air yang relatif jernih. Nyamuk *Ae. aegypti* lebih banyak ditemukan berkembang biak di tempat penampungan air buatan sedangkan *Ae. albopictus* lebih banyak ditemukan di penampungan air alami di luar rumah. Spesies nyamuk tersebut mempunyai sifat antropofilik, artinya lebih memilih menghisap darah manusia, dan multiple feeding artinya untuk memenuhi kebutuhan darah dalam satu periode siklus gonotropik biasanya menghisap darah beberapa kali (Gubler, 1998; Sukowati, 2010).

Transmisi virus dengue terjadi melalui gigitan nyamuk betina menghisap darah manusia yang terinfeksi selama fase viremia, dua hari sebelum timbulnya demam dan berlangsung 4-5 hari setelah timbulnya demam. Virus dalam darah terinfeksi bereplikasi pada lapisan sel epitel usus tengah dan lolos ke haemocoel menginfeksi kelenjar ludah dan akhirnya memasuki air liur. Jalur genital juga terinfeksi dan virus dapat masuk ke dalam telur berkembang pada saat oviposisi. Masa inkubasi ekstrinsik berlangsung delapan sampai 12 hari dan nyamuk tetap terinfeksi selama sisa hidupnya. Periode inkubasi intrinsik terjadi lima sampai tujuh hari (Gambar 2.3) (Gubler, 1998; WHO, 2011).



Gambar 3 Transmisi Virus Dengue (anonymous, 2015)

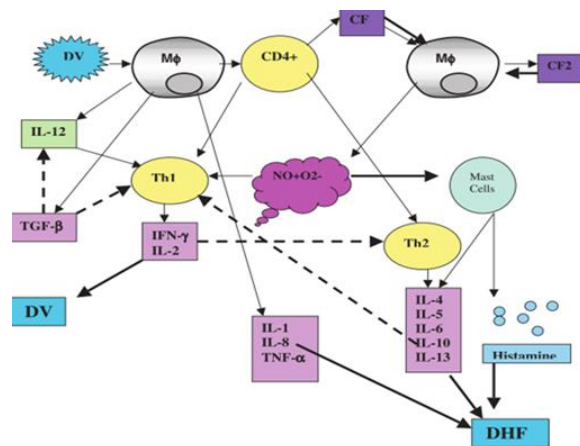
Patogenesis Dengue

Patogenesis infeksi dengue terutama mekanisme manifestasi DBD atau DSS, masih belum dipahami dengan jelas. Tidak adanya hewan model yang tepat sebagian besar menghambat pemahaman kita mengenai patogenesis infeksi dengue. Data *vitro* dan otopsi menunjukkan ada tiga sistem organ yang memainkan peran penting dalam patogenesis DBD/DSS yaitu sistem kekebalan tubuh, hati, dan sel endotel pembuluh darah ((Sanyal, Sinha, & Halder, 1991)Martina et al., 2009).

Latar belakang genetik penjamu memengaruhi reaksi respons imun tubuh terhadap infeksi DENV. Inokulasi DENV ke dalam dermis, akan menginfeksi terutama sel langerhans dan keratinosit. Virus kemudian menyebar melalui darah (*viremia primer*) dan menginfeksi terutama makrofag jaringan di beberapa organ. Replikasi DENV di sel dendritik, monosit, dan makrofag, serta replikasi di sel endotel, sel stroma sumsum tulang, dan sel hati, bersama-sama menentukan viral load dalam darah. Viral load ini merupakan faktor risiko penting munculnya penyakit yang berat. Infeksi pada makrofag, hepatosit, dan sel endotel memengaruhi hemostatik dan respon imun terhadap DENV (Martina et al., 2009; Sun & Kochel, 2013).

Virus dengue di dalam makropag yang berfungsi sebagai antigen presenting cell (APC) akan dipecah menjadi peptida-peptida. Mayor histocompatibility complex (MHC) class II akan mengikat peptida tersebut selanjutnya dipresentasikan ke permukaan APC untuk memberikan sinyal kepada sel T CD4 naive sehingga berpolarisasi menjadi Th1 dan Th2 yang akan menstimulasi sel T CD4+ dan sel T CD8+. Sel Th1 akan menghasilkan sitokin proinflamasi seperti TNF- α , IFN- γ , IL-2 dan IL-12. Interleuki-2 mengaktifkan sel T sitotoksik CD8+ yang akan melisis sel yang terinfeksi dengan bantuan MHC kelas

1. Sel Th2 akan menghasilkan sitokin anti inflamasi seperti IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 dan IL-13, yang menyebabkan aktivasi sel limfosit B sehingga berubah menjadi sel plasma untuk menghasilkan antibodi (Chaturvedi et al., 2000; Rabson, 2005; Rosa & Pinto, 2006).



Gambar 4 Patogenesis Infeksi Dengue (Chaturvedi, 2006)

Individu yang terinfeksi virus Dengue pertama kali akan membentuk antibodi IgM yang memberikan respon untuk yang menetralkan aktivitas DENV yang menginfeksi. Antibodi IgM ini muncul mulai hari ke-3 setelah onset demam dan menetap 2 sampai 3 bulan dan dalam beberapa kasus hingga 8 bulan. Antibodi IgG akan meningkat setelah antibodi IgM mencapai puncak dan dapat dideteksi dalam darah untuk jangka waktu lama dibandingkan dengan antibodi IgM (Karoka, 2007; Wahala & deSilva, 2011).

Infeksi dengue sekunder ditandai dengan peningkatan antibodi IgG yang cepat dibandingkan dengan infeksi primer. Respon yang cepat ini disebabkan oleh stimulasi sel B memori dari infeksi primer. Antibodi yang muncul ini menetralkan virus serotipe homolog dengan infeksi primer lebih baik daripada serotipe heterolog ((Wan et al., 2013)Karoka, 2007; Wahala & deSilva, 2011).

Hemopoiesis ditekan tergantung derajat infeksi sel stroma sumsum tulang dan kadar IL-6, IL-8, IL-10, dan IL-18. Viral load yang tinggi dalam darah dan menginfeksi sel endotel, merangsang aktivasi trombosit sehingga menyebabkan trombositopenia dan disfungsi trombosit dapat mengakibatkan kerapuhan kapiler, sehingga muncul petechiae, memar, dan perdarahan mukosa gastrointestinal, yang merupakan karakteristik dari DBD ((Halstead, 2012)Martina et al., 2009; Sun & Kochel, 2013).

Infeksi merangsang respon imun seluler dan produksi antibodi spesifik terhadap DENV pada saat yang sama. Antibodi IgM akan bereaksi silang dengan sel endotel, merangsang produksi trombosit dan plasmin, yang menyebabkan peningkatan permeabilitas pembuluh darah dan koagulopati. Antibodi IgG mengikat virus heterolog pada infeksi sekunder yang meningkatkan infeksi terhadap APC, sehingga berkontribusi terhadap peningkatan viral load selama viremia sekunder (Martina et al., 2009; Sun & Kochel, 2013).

Viral load yang tinggi merangsang sel T secara berlebihan. sel T yang bereaksi silang menunda virus clearance dan memproduksi sitokin proinflamasi yang banyak serta mediator lainnya. Sitokin yang sangat banyak ini akan menginduksi perubahan sel endotel yang mengarah pada proses koagulopati dan kebocoran plasma yang merupakan karakteristik DSS ((Fry et al., 2011)Martina et al., 2009; Sun & Kochel, 2013).

Manifestasi Klinis

Infeksi dengue merupakan penyakit sistemik dan dinamis. Penyakit ini memiliki spektrum klinis yang luas dengan manifestasi klinis ringan sampai berat dan mengancam jiwa. Penyakit dimulai secara tiba-tiba setelah masa inkubasi, diikuti oleh tiga fase, demam,

kritis, dan pemulihan (WHO, 2009, Simmon et al., 2012(Seema & Jain, 2005)).

Pasien biasanya mengalami demam tinggi secara tiba-tiba biasanya antara 390C-400C dengan gambaran bifasik disertai mialgia, artralgia dan sakit kepala. Fase demam akut ini biasanya berlangsung 2-7 hari dan sering disertai dengan kemerahan yang difus pada wajah, leher, dan dada selama dua sampai tiga hari pertama. Ruam makulopapular atau rubelliform muncul pada hari ketiga atau keempat di seluruh tubuh yang menghilang pada saat penurunan suhu tubuh diikuti petechie yang muncul secara lokal pada kaki, tungkai, tangan dan lengan. Beberapa pasien mungkin mengalami nyeri tenggorokan, injeksi faring dan konjunctiva. Anoreksia, mual dan muntah umumnya juga ditemukan. Fase demam awal ini sulit untuk membedakan infeksi dengue secara klinis dengan infeksi bukan dengue. Tes torniket positif pada fase ini meningkatkan kemungkinan dengue. Gambaran klinis pada fase ini tidak dapat membedakan antara kasus dengue ringan dan berat. Pemantauan tanda bahaya dan parameter klinis lain sangat penting untuk mengenali munculnya fase kritis ((Organization, 2009) Simmon et al., 2012).

Manifestasi perdarahan ringan seperti petechiae dan perdarahan membran mukosa pada hidung dan gusi mungkin ditemukan. Perdarahan vagina yang masif pada wanita usia subur dan perdarahan gastrointestinal dapat terjadi selama fase ini namun jarang. Hepar sering membesar setelah beberapa hari demam. Perubahan parameter hematologi yang dapat ditemukan adalah penurunan jumlah leukosit yang harus diwaspadai dokter untuk kemungkinan dengue (WHO, 2009; WHO 2011; Simmon et al., 2012). Peningkatan permeabilitas kapiler sejalan dengan peningkatan kadar hematokrit dapat terjadi dan merupakan tanda ini awal fase kritis. Gejala ini terjadi waktu penurunan suhu badan sampai yg normal yaitu ketika suhu turun menjadi 37,50C-38oC atau

kurang biasanya terjadi pada hari ke 3-7 sakit.

Kebocoran plasma secara klinis biasanya berlangsung 24-48 jam. Leukopenia progresif diikuti dengan penurunan jumlah trombosit yang cepat biasanya mendahului kebocoran plasma. Pasien tanpa peningkatan permeabilitas kapiler akan mengalami perbaikan, sementara jika terjadi peningkatan permeabilitas kapiler pasien akan mengalami kehilangan plasma sehingga mengalami perburukan. Tingkat kebocoran plasma bervariasi. Efusi pleura dan asites mungkin secara klinis dapat terjadi tergantung pada tingkat kebocoran plasma dan jumlah terapi cairan. Tingkat kenaikan hematokrit dari awal sering mencerminkan keparahan kebocoran plasma (WHO, 2009; Simmon et al., 2012).

Syok terjadi ketika volume kritis plasma hilang melalui kebocoran yang didahului dengan tanda-tanda suhu tubuh di bawah normal ketika syok terjadi. Syok menyebabkan hipoperfusi organ sehingga menyebabkan gangguan organ, asidosis metabolik dan koagulasi intravaskular. Hal ini menyebabkan perdarahan berat menyebabkan hematokrit menurun pada syok yang berat. Jumlah leukosit dapat meningkatkan pada pasien dengan perdarahan hebat (WHO, 2009; Simmon et al., 2012).

Beberapa pasien mengalami kebocoran plasma tanpa penurunan suhu badan sehingga perubahan parameter hematologi menjadi memandu terjadinya fase kritis dan kebocoran plasma. Pasien yang memburuk bermanifestasi dengan tanda-tanda bahaya disebut dengue dengan tanda-tanda bahaya. Kasus ini dapat pulih dengan rehidrasi intravena awal. Beberapa kasus akan memburuk menjadi dengue berat (WHO, 2009; Simmon et al., 2012).

Reabsorpsi bertahap cairan kompartemen ekstrasvaskuler berlangsung dalam 48-72 jam

berikutnya pada pasien yang bertahan pada fase kritis 24-48 jam. Keadaan umum membaik, nafsu makan kembali, gejala gastrointestinal mereda, hemodinamik stabil dan diuresis terjadi. Beberapa pasien mungkin memiliki ruam dan yang lain mungkin mengalami pruritus. Bradikardia dan perubahan elektrokardiografi ditemukan selama tahap ini. Hematokrit stabil atau mungkin lebih rendah karena efek dilusi dari absorpsi cairan. Jumlah leukosit mulai naik setelah penurunan suhu badan tapi pemulihan jumlah trombosit lebih lambat dibandingkan leukosit. Gangguan pernapasan akibat efusi pleura masif dan asites dapat terjadi tiba-tiba akibat pemberian cairan infus yang berlebihan. Terapi cairan yang berlebihan selama fase kritis dan atau fase pemulihan berhubungan dengan edema paru atau gagal jantung kongestif (WHO, 2009; Simmon et al., 2012).

III. PEMERIKSAAN LABORATORIUM

Pemeriksaan laboratorium pada infeksi dengue meliputi pemeriksaan hematologi, serologi dan asam nukleat (WHO, 2011).

A. Pemeriksaan hematologi, infeksi dengue pada demam dengue ditemukan leukopeni (leukosit $\leq 5000/\text{mm}^3$), trombositopeni (jumlah trombosit $\leq 150.000/\text{mm}^3$), peningkatan hematokrit 5-10%. Hasil pemeriksaan laboratorium pada demam berdarah dengue di temukan trombositopeni ($\leq 100.000/\text{mm}^3$), peningkatan hematokrit 20% dan uji Rumpel Leed positif. Uji Rumpel Leed positif adalah ketika terdapat 20 atau lebih petechiae per 2,5 cm² yang diamati di volar lengan bawah (WHO, 2011).

B. Pemeriksaan Serologi, Lima pemeriksaan serologi dasar yang digunakan untuk mendeteksi antibodi dalam mendiagnosis diagnosis infeksi dengue yaitu haemagglutination-inhibition (HI), Complement fixation (CF), neutralization test (NT), IgM capture enzyme-linked

immunosorbent assay (MAC-ELISA), dan indirect IgG ELISA. Sejumlah Pemeriksaan serologi cepat untuk deteksi IgM dan IgG tersedia secara komersial dalam beberapa tahun terakhir ini. Pemeriksaan tersebut memberikan hasil dalam waktu 15 menit (WHO, 2011).

Deteksi Antibodi Spesifik (Imunoglobulin M dan Imunoglobulin G).Pemeriksaan MAC-ELISA paling banyak digunakan mendiagnosis dengue. Pemeriksaan ini sederhana dan cepat serta membutuhkan peralatan canggih yang sangat sedikit. Pemeriksaan MAC-ELISA didasarkan pada deteksi antibodi IgM dengue spesifik dalam serum yang diikat oleh anti-human IgM yang melapisi fase solid. Serum pasien yang mengandung antibodi IgM spesifik dengue akan mengikat antigen dengue yang ditambahkan pada langkah berikutnya dan dapat dideteksi dengan penambahan antibodi anti-dengue yang dilabel enzim. Substrat ditambahkan untuk bereaksi dengan enzim menghasilkan reaksi warna (Peeling et al., 2010; WHO, 2011)

Indirect IgG-ELISA dapat juga digunakan untuk membedakan infeksi dengue primer dan sekunder. Pemeriksaan ini sederhana dan mudah dilakukan. Pemeriksaan IgG-ELISA tidak spesifik karena memiliki reaksi silang yang luas antara Flavivirus sehingga tidak dapat digunakan untuk mengidentifikasi serotipe virus dengue yang menginfeksi. Pemeriksaan ini lebih banyak digunakan dalam kombinasi untuk memastikan diagnosa (Peeling et al., 2010; WHO, 2011).

Antibodi IgM muncul sedikit lebih awal dari IgG, dan biasanya terdeteksi pada hari ke-5 sakit. Titer antibodi IgM pada infeksi primer lebih tinggi daripada di infeksi sekunder. Antibodi IgM pada infeksi primer dapat bertahan selama lebih dari 90 hari, tetapi pada kebanyakan pasien berkurang pada kadar yang tidak terdeteksi dalam 60 hari (Peeling et al., 2010; WHO, 2011).

Deteksi Antigen Virus Non Struktural 1

Protein NS1 adalah suatu glikoprotein yang diproduksi oleh semua flavivirus, sangat penting dalam replikasi dan kelangsungan hidup virus. Protein ini yang disekresikan oleh sel-sel mamalia yang terinfeksi tetapi tidak oleh sel serangga. Antigen NS1 muncul pada hari pertama setelah timbulnya demam dan menurun ke tingkat tidak terdeteksi pada 5-6 hari kemudian. Pemeriksaan berdasarkan antigen ini dapat digunakan untuk diagnosis dini (Peeling et al., 2010; WHO, 2011).

Penelitian mengenai NS1 menggunakan ELISA dan dot blot assay menunjukkan antigen ini hadir dalam konsentrasi tinggi dalam serum pasien terinfeksi virus dengue selama fase awal penyakit dan dapat dideteksi pada pasien dengan infeksi dengue primer dan sekunder sampai enam hari setelah onset ((Hermann et al., 2014); WHO, 2011).

Deteksi NS1 secara cepat dengan metode imunokromatografi mulai berkembang dalam sepuluh tahun terakhir ini menawarkan pemeriksaan yang sederhana, murah, dan mudah. Metode ini sangat banyak digunakan di negara yang memiliki sumber daya terbatas (Fry et al., 2011). Sensitivitas dan spesifisitas tes ini bervariasi tergantung pada serotipe virus dengue sehingga sampai saat ini belum ada metode pemeriksaan NS1 yang disetujui Food and Drug Administration (FDA) (Hermann et al., 2014). Blackshell dalam suatu review membahas kinerja rapid test NS1 menemukan sensitivitas NS1 yang beredar secara komersial saat ini berkisar antar 48,5% sampai 78,9% dengan spesifisitas 92,5% sampai 100% (Blackshell, 2012).

Pemeriksaan Asam Nukleat

Pemeriksaan RT-PCR pada sejumlah penelitian dilaporkan berhasil mendeteksi virus dengue. Pemeriksaan ini spesifisitas dan sensitivitasnya lebih baik dibandingkan

dengan isolasi virus dengan turn around time yang cepat. Pemeriksaan deteksi asam nukleat melibatkan tiga langkah dasar: (i) ekstraksi asam nukleat dan pemurnian; (ii) amplifikasi asam nukleat; dan (iii) deteksi produk yang diamplifikasi. Hasil positif palsu dapat terjadi, dan dapat dicegah dengan isolasi yang tepat dan prosedur dekontaminasi yang ketat (WHO, 2011).

1. Nested RT-PCR

Pemeriksaan ini menggunakan primer dengue universal menargetkan regio C/PRM dari genom virus untuk langkah awal reverse transcription dan amplifikasi, diikuti dengan amplifikasi nested PCR terhadap serotipe tertentu (WHO, 2011).

2. One Step Multiplex RT-PCR

Pemeriksaan ini alternatif dari nested RT-PCR. Kombinasi dari primer oligonukleotida empat serotipe spesifik digunakan dalam satu tahap reaksi untuk mengidentifikasi serotipe. Produk reaksi dipisahkan dengan elektroforesis menggunakan gel agarosa yang divisualisasikan sebagai band dengan berat molekul yang berbeda setelah pewarnaan gel menggunakan pewarna etidium bromida dan dibandingkan dengan penanda dengan berat molekul standar. Serotipe dengue diidentifikasi berdasarkan ukuran band (WHO, 2011).

3. Real-time RT-PCR

Pemeriksaan ini menggunakan pasangan primer dan probe yang spesifik untuk setiap serotipe dengue. Penggunaan probe berfluoresen memungkinkan deteksi reaksi produk dengan cepat, menggunakan mesin PCR khusus, tanpa elektroforesis. Pemeriksaan real-time RT-PCR bisa singleplex (mendeteksi hanya satu serotipe pada satu waktu) atau multiplex (mampu mengidentifikasi keempat serotipe dari sampel tunggal) (WHO, 2011).

4. Isothermal Amplification Method

Nucleic acid sequence-based amplification assay (NASBA) merupakan uji amplifikasi RNA-spesifik secara isothermal tanpa instrumentasi siklus termal. Tahap awal berupa reverse transcription target RNA single stranded disalin menjadi molekul DNA double stranded yang berfungsi sebagai template untuk transkripsi RNA. Amplifikasi RNA dideteksi dengan electrochemiluminescence atau real time menggunakan probe beacon yang dilabel zat fluoresen. Sensitivitas metode RT-PCR bervariasi dari 80% sampai 100% dibandingkan dengan isolasi virus dan tergantung pada regio genom target yang digunakan sebagai primer serta pendekatan yang digunakan untuk mengamplifikasi atau mendeteksi produk PCR. Keuntungan dari teknologi ini adalah sensitivitas dan spesifisitas tinggi, kemudahan identifikasi serotipe dan deteksi dini infeksi namun teknologi ini mahal, yang memerlukan peralatan yang canggih dan tenaga kerja terampil (WHO, 2011).

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Alcaraz-Estrada S, Monroy M, and del Angel R, 2010, Insights into Dengue Virus Genome Replication, *Future Virol* 5(5):575-92
- [2] Rodenhuis-Zybert I, Wilschut J, and Smit J, 2010, Dengue Virus Life Cycle: Viral and Host Factors Modulating Infectivity, *Cell Mol Life Sci* 67:2773-86
- [3] Anonymous, 2015a, Dengue Virus Structure, diunduh dari <http://www.nature.com/scitable/content/dengue-virus-structure-22401481>
- [4] Guzman M, Halstead S, Artsob H, Buchy P, Farrar J, Gubler D, *et al.*, 2010, Dengue : a continuing global threat, *Nature Review* 12:S7-16
- [5] Koraka P, 2007, Dengue Virus Specific Immune Response: Implications for Laboratory Diagnosis and Vaccine Development, Thesis.
- [6] Gubler D, 1998, Dengue and Dengue Hemorrhagic Fever, *Clinical Microbiology Review*, 7:480-96
- [7] Chuang Y, Wang S, Lin Y, Chen H, and Yeh T, 2013, Reevaluation of the pathogenic roles of nonstructural protein 1 and its antibodies during

- Dengue Virus Infection, *Journal of Biomedical Science*, 20:42-9
- [8] Valdes K, Alvarez M, Pupo M, Vazquez S, Rodriguez R, and Guzman MG, 2000, Human dengue antibodies against structural and nonstructural proteins. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology* 7:856-7.
- [9] Sukowati S, 2010, Masalah Vektor Demam Berdarah Dengue (BDB) dan Pengendaliannya di Indonesia, *Buletin Jendela Epidemiologi*, 2:26-30
- [10] Sun P and Kochel T, 2013, The Battle between Infection and Host Immune Responses of Dengue Virus and Its Implication in Dengue Disease Pathogenesis, *The Scientific World Journal*:1-11
- [11] Wahala W and deSilva A, 2011, The Human Antibody Response to Dengue Virus Infection, *Viruses* 3:2374-95
- [12] Rosa MS and Pinto AM, 2006, 'Cytokine', in : *Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostic*, Fourth edition, editors, Burtis CA, Ashwood ER, Bruns D, Saunders Elsevier, p. 645-744
- [13] Rabson A, Roitt IM, and Delves PJ, 2005, 'Really Essential Medical Immunology' Second edition, Blackwell Publishing Ltd, p.62-105
- [14] Chaturvedi.U.C, Agarwal.R, Elbishbishi.E.A, and Mustafa.A.S, 2000, Cytokine Cascade in Dengue Hemorrhagic Fever: Implication for Pathogenesis. *Immunology and Medical Microbiology*, 28:183-188.
- [15] Anonymous, 2015, Life Cycle of Dengue, diunduh dari www.oxitec.com pada tanggal 1 Juni 2015
- [16] Sun P and Kochel T, 2013, The Battle between Infection and Host Immune Responses of Dengue Virus and Its Implication in Dengue Disease Pathogenesis, *The Scientific World Journal*:1-11
- [17] World Health Organization, 2009, *Dengue for Diagnosis, Treatment, Prevention and Control*, WHO Press:Switzerland.
- [18] World Health Organization, 2011, Epidemiology of Dengue Fever and Dengue Haemorrhagic Fever in Comprehensive Guidelines for Prevention and Control of Dengue and Dengue Haemorrhagic Fever, SEARO:India.pp:9-15
- [19] Peeling R, Artsob H, Pelegrino J, Buchy P, Cardosa M, Devi S, *et al.*, 2010, Evaluation of Diagnostic Test : Dengue, *the Nature Review* 12:S32-8
- [20] Hermann L, Thaisomboonsuk B, Poolpanichupatam Y, Jarman R, Kalayanaroj S, Nisalak A, *et al.*, 2014, Evaluation of a Dengue NS1 Antigen Detection Assay Sensitivity and Specificity for the Diagnosis of Acute Dengue Virus Infection, *Plos Neglected Tropical Disease*, 8(10):e3193
- [21] Blacksell S, Mammen M, Thongpaseuth S, Gibbons R, Jarman R, Jenjaroen K, *et al.*, 2008, Evaluation of the Panbio Dengue Virus Nonstructural 1 antigen detection and immunoglobulin M Antibody Enzyme-linked Immunosorbent assays for the Diagnosis of Acute Dengue Infection in Laos, *Diagnostic Microbiology and Infection Disease* 60:43-9