

616.921

AL1

t e



**TITER IgG & RASIO IgM / IgG ANTI DENGUE
TERHADAP INDEKS EFUSI PLEURA
DAN DERAJAT KLINIS DEMAM BERDARAH DENGUE**

NOOR ALIFAH

TESIS

**Disusun untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh
Gelar Dokter Spesialis Anak
Program Pendidikan Dokter Spesialis I**

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS I
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS DIPONEGORO**

2004

Penelitian ini dilakukan di Bagian Ilmu Kesehatan Anak / SMF Kesehatan Anak
Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro / RS. Dr. Kariadi Semarang
Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh sebutan
Dokter Spesialis Anak

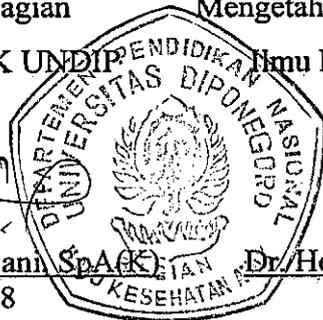
**HASIL DAN ISI PENELITIAN INI MERUPAKAN HAK MILIK
BAGIAN ILMU KESEHATAN ANAK FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO SEMARANG**

Disetujui untuk diajukan

Semarang, 7 September 2004

Mengetahui Ketua Bagian Ilmu Kesehatan Anak FK UNDIP
Mengetahui Ketua Program Studi PPDS-1 Ilmu Kesehatan Anak FK UNDIP


Dr. Kamilah Budhi Rahardjani, Sp.A(K)
NIP. 130 354 868




Dr. Hendriani Selina, Sp.A. MARS
NIP. 140 090 543

UPT-PUSTAK-UNDIP

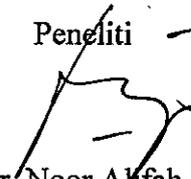
No. Daft: 3175/T/FK/04
Tgl. 29/12/04

HALAMAN PENGESAHAN

1. Judul Penelitian : Titer IgG dan Rasio IgM / IgG anti dengue terhadap indeks efusi pleura dan derajat klinis demam berdarah dengue
2. Ruang Lingkup : SMF Kesehatan Anak
3. Pelaksana Penelitian :
 - a. Nama : dr. Noor Alifah
 - b. NIP : 140 350 011
 - c. Pangkat/gol : Penata Muda Tk I/III B
 - d. Jabatan : Peserta PPDS I IKA FK UNDIP
4. Subyek Penelitian : Penderita DBD di bagian Anak RSDK
5. Lama Penelitian : 24 bulan
6. Sumber Biaya : Penelitian Bersama Demam Berdarah Dengue Indonesia – Belanda

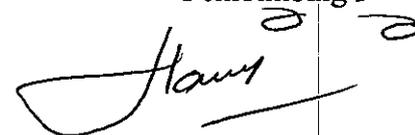
Semarang, 7 September 2004

Peneliti

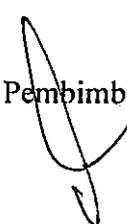

dr. Noor Alifah
NIP. 140 350 011

Disetujui oleh :

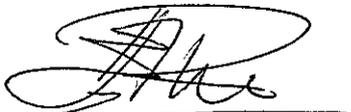
Pembimbing I


Prof. Dr.dr. Harsoyo Notoatmodjo, SpA(K), DTM&H
NIP. 130 324 147

Pembimbing II


dr. Herawati Yuslam, SpA(K)
NIP. 140 088 814

Pembimbing III


Dr. dr. Tatty Ermin S, SpAK
NIP. 140 061 237

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT karena hanya dengan izin, petunjuk, rahmat, dan hidayah-Nya laporan penelitian kami yang berjudul **“Titer IgG dan Rasio IgM/IgG perawatan hari ke-7 Antidengue terhadap Indeks Efusi Pleura dan Derajat Klinis Demam Berdarah Dengue”** dapat diselesaikan.

Tidak ada satu usaha apapun dapat terlaksana tanpa bantuan orang lain. Oleh karena itu penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada berbagai pihak yang telah membantu pelaksanaan penelitian ini.

Pertama kali penulis ucapkan terima kasih kepada Prof. Ir. Eko Budiharjo, MSc selaku Rektor Universitas Diponegoro Semarang beserta jajarannya yang telah memberikan izin bagi penulis untuk menempuh Program Pendidikan Dokter Spesialis-1 Ilmu Kesehatan Anak Fakultas Kedokteran di Universitas Diponegoro, Semarang.

Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada dr. Anggoro DB Sachro, SpA(K), DTM&H selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro periode 1996 – 2002 dan Prof. Dr. Kabulrachman, SpKK selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro saat ini beserta jajarannya yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk mengikuti Program Pendidikan Dokter Spesialis-1 Ilmu Kesehatan Anak Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.

Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada dr. Gatot Suharto, MKes,

MMR selaku Direktur Rumah Sakit Dr. Kariadi Semarang beserta jajarannya yang telah memberikan izin bagi penulis untuk menempuh Program Pendidikan Dokter Spesialis-1 Ilmu Kesehatan Anak Fakultas Kedokteran di Bagian Ilmu Kesehatan Anak/SMF Kesehatan Anak di Rumah Sakit Dr. Kariadi Semarang.

Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada dr. Kamilah Budhi Raharjani SpA(K) selaku Ketua Bagian Ilmu Kesehatan Anak FK UNDIP/SMF Kesehatan Anak RS Dr. Kariadi Semarang dan dr. Hendriani Selina, SpA, MARS selaku Ketua Program Studi Program Pendidikan Dokter Spesialis-1 Ilmu kesehatan Anak FK UNDIP periode 2000 sampai sekarang yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk mengikuti Program Pendidikan Dokter Spesialis-1 Ilmu kesehatan Anak FK UNDIP Semarang.

Kepada yang terhormat, Prof. Dr. dr. Harsoyo Notoatmojo SpA(K) DTM&H, dr. Herawati Yuslam SpA(K) sebagai pembimbing I dan pembimbing II, penulis sampaikan ucapan terima kasih dan penghargaan setinggi-tingginya atas kesabaran dan pengertian memberikan bimbingan, wawasan, arahan, dorongan, dan motivasi kepada penulis dalam menyelesaikan penelitian ini.

Kepada yang terhormat Dr. dr. Tatty Ermin Setiati, SpA(K), secara khusus penulis sampaikan ucapan terima kasih dan penghargaan setinggi-tingginya atas kepercayaannya selaku peneliti utama dan ketua tim *Collaboration Study on Dengue Hemorrhagic Fever Between Indonesia – Netherlands* untuk mengikutsertakan penulis sebagai anggota tim, sehingga penulis dapat mengambil salah satu topik yang menjadi judul penelitian ini dan dapat mengambil data yang dibutuhkan dalam penelitian ini, sekaligus menjadi Pembimbing III dalam penelitian ini yang telah

memberikan bimbingan, wawasan, dan arahan dalam penyelesaian penelitian ini.

Dalam kesempatan ini pula penulis sampaikan ucapan terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada yang terhormat para guru besar dan guru-guru kami staf pengajar di Bagian/SMF Kesehatan Anak Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro / RS Dr. Kariadi Semarang : Prof. dr. Moeljono S Trastotenojo, SpA(K), Prof. Dr. dr. Hariyono Suyitno, SpA(K), Prof. dr. Hardiman Sastrosubroto, SpA(K), Prof. Dr. dr. Ag. Soemantri, SpA(K), Ssi(Stat), Prof. Dr. dr. I. Sudigbia, SpA(K), Prof. Dr. dr. Lydia Kristanti Kosnadi Hartono, SpA(K), dr. Budi Santoso, SpA(K), dr. M. Sidhartani Zain, MSc, SpA(K), dr. R. Rochmanadji Widajat, SpA(K), MARS, dr. Tjipta Bahtera, SpA(K), dr. Soetadji Notoatmodjo, SpA(K), dr. Moedrik Tamam, SpA(K), dr. H.M. Sholeh Kosim, SpA(K), dr. Rudy Susanto, SpA(K), dr. I. Hartantyo, SpA, dr. JC Susanto, SpA(K), dr. Agus Priyatno, SpA(K), dr. Dwi Wastoro Dadiyanto, SpA(K), dr. Asri Purwanti, SpA, MPd, dr. Bambang Sudarmanto, SpA, dr. Elly Deliana, SpA, dr. MM DEAH Hapsari, SpA, dr. Alifiani Hikmah Putranti, SpA, dr. Mexitalia Setiawati, SpA, dr. M. Herumuryawan, SpA, dr. Gatot Irawan Sarosa, SpA, dr. Anindita S, SpA, dr. Wistiani SpA yang telah berperan besar dalam proses pendidikan penulis dan penyelesaian penelitian ini.

Kepada dr. Hardian, MSc, penulis ucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya atas bimbingannya dalam memahami statistik pada penelitian ini.

Kepada seluruh teman sejawat peserta Program Pendidikan Dokter Spesialis – 1, atas segala kerjasama, saling membantu dan memotivasi, penulis sampaikan terima kasih. Khususnya kepada teman sejawat anggota Tim Penelitian Demam Berdarah Dengue : dr. A. Susanto Nugroho, SpA, dr. Fauzia Arih N, SpA, dr.

Endang Sulistyowati, SpA, dr. Pudjiati, dr. Sri Priyantini, dr. Fajar Danu Aji, dr. Eni Sulistyorini, dr. Fitri Hartanto, dr. Tripni Prihutomo, dr. Anastasia Ratnaningsih, dr. Azizah Retno Kustiyah, dan dr. M. Supriatna TS penulis sampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya atas kerjasama yang telah terjalin selama ini.

Kepada rekan-rekan dari Laboratorium Bioteknologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro : dr. Kis Djamiatun, MSc, Sdri. Dwi Kustiani, Sdri Lusi Suwarsih, dan Sdri. Wiwik Lestari dan rekan-rekan dari Laboratorium Patologi Klinik RS Dr. Kariadi : Sdr. Agus Kismono dan Sdr. Supriyanto penulis sampaikan terima kasih atas kerjasamanya.

Untuk suamiku tercinta Ir. Hari Eko Susilo dan anak-anakku tersayang Yura dan Ghulam, terima kasih yang tidak terhingga untukmu semua atas kesabaran, pengertian, dorongan, curahan kasih sayang dan doanya untuk penulis sehingga penelitian ini selesai. Kepada ibunda tercinta Musyarofah, ayahanda Suharyanto, ibunda mertua Sulimah dan ayahanda mertua Sri Harto penulis ucapkan terima kasih atas segala bantuan dan dukungan moril hingga selesainya penelitian ini.

Penulis menyampaikan terima kasih kepada semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang telah mendukung dan membantu penulis dalam menyelesaikan penelitian ini.

Tiada gading yang tak retak, penulis memohon kepada semua pihak untuk memberikan masukan dan sumbang saran atas penelitian ini sehingga dapat meningkatkan kualitas penelitian ini dan memberikan bekal bagi penulis untuk penelitian ilmiah di masa yang akan datang.

Akhirnya dari lubuk hati yang paling dalam, penulis juga menyampaikan

permintaan maaf kepada semua pihak yang mungkin telah mengalami hal yang kurang berkenan dalam berinteraksi dengan penulis selama kegiatan penelitian ini. Semoga Allah SWT senantiasa melimpahkan taufik dan hidayah-Nya kepada kita sekalian. Amin.

Semarang, 7 September 2004

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
Halaman Judul	i
Halaman Pengesahan	ii
Kata Pengantar	iv
Daftar Isi	ix
Daftar Tabel	x
Daftar Gambar	xiii
Abstrak	xiv
BAB I PENDAHULUAN	
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Perumusan Masalah	3
1.3. Tujuan Penelitian	4
1.4. Manfaat Penelitian	5
BAB I TINJAUAN PUSTAKA	
2.1. Definisi Demam Berdarah Dengue	6
2.2. Patogenesis Infeksi Virus Dengue	9
2.3. Efusi Pleura pada DBD	13
2.4. Kerangka Teori	16
2.5. Kerangka Konsep	17
2.6. Hipotesis	18

BAB III METODE PENELITIAN

3.1. Tempat dan Waktu Penelitian	19
3.2. Desain Penelitian	19
3.3. Populasi dan Sampel Penelitian	19
3.3.1. Populasi penelitian	19
3.3.2. Sampel penelitian	20
3.3.3. Besar sampel	20
3.3.4. Metoda sampling	21
3.4. Variabel Penelitian	21
3.4.1. Variabel bebas	21
3.4.2. Variabel terikat	21
3.4.3. Variabel perancu	21
3.5. Pengumpulan Data	21
3.6. Definisi Operasional	22
3.7. Analisis Data	24
3.8. Etika Penelitian	25
3.9. Orisinalitas Penelitian	26

BAB IV HASIL PENELITIAN

4.1. Karakteristik Subyek Penelitian	27
4.2. Titer IgG perawatan hari ke-0, IgG hari ke-7, IgM hari ke-7, rasio IgM/IgG hari ke-7 dan Indeks Efusi Pleura	29

4.3. Hubungan antara titer IgG perawatan hari ke-0, rasio IgM/IgG hari ke-7, Indeks Efusi Pleura dan derajat klinis DBD	30
BAB V PEMBAHASAN	33
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN	
6.1. Kesimpulan	38
6.2. Saran	39
DAFTAR PUSTAKA	

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Karakteristik penderita berdasarkan derajat klinis DBD	27
Tabel 2. Titer IgG perawatan hari ke-0, IgM hari ke-7, IgG hari ke-7 dan rasio IgM/IgG perawatan hari ke-7 pada subyek penelitian	29
Tabel 3. Koefisien korelasi antara titer IgG perawatan hari ke-0, rasio IgM/IgG perawatan hari ke-7, Indeks Efusi Pleura dan derajat berat DBD.	30
Tabel 4. Hasil uji regresi ganda antara titer IgG perawatan hari ke-0 dan rasio IgM/IgG perawatan hari ke-7 dengan IEP	31
Tabel 5. Hasil uji regresi logistik antara titer IgG perawatan hari ke-0 dan rasio IgM/IgG perawatan hari ke-7 dengan derajat klinis DBD	32

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Respon Imun Terhadap Infeksi Virus Dengue dan Patogenesis DBD/SSD	10
Gambar 2. Kinetik IgM dan IgG pada infeksi primer dan sekunder dengue ..	12
Gambar 3. Respon imunopatologik tubuh terhadap infeksi virus dengue : pembentukan kompleks imun, aktivasi limfosit, aktivasi komplemen dan trombosit yang menyebabkan disfungsi sel endotel	14
Gambar 4. Perhitungan Indeks Efusi Pleura pada Foto Polos Dada	15

Abstrak

Latar Belakang

Imunoglobulin G (IgG) anti dengue adalah antibodi yang mempunyai peran penting dalam imunopatogenesis demam berdarah dengue (DBD). Rasio IgM/IgG anti dengue mempunyai nilai prognostik pada manifestasi klinis DBD. Respon sistem imun tubuh terhadap infeksi virus dengue menyebabkan kebocoran plasma dan kelainan hemostasis. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui hubungan antara titer IgG dan rasio IgM/IgG antidengue dengan indeks efusi pleura (IEP) dan derajat klinis DBD.

Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian prospektif di RSDK Semarang pada periode 2001 s/d 2003. Subyek penelitian adalah 99 anak umur 3-14 tahun dengan DBD, yang terbagi atas 49 kasus DBD tanpa syok dan 50 kasus sindrom syok dengue (SSD). Titer IgG pada perawatan hari ke-0 (panas hari ke 2-4, fase akut) dan ke-7 (panas hari ke 8-11, fase konvalesen dini) serta IgM pada perawatan hari ke-7 (panas hari ke 8-11, fase konvalesen dini) diperiksa dengan metode ELISA. IEP ditentukan berdasarkan foto polos dada pada perawatan hari ke-0.

Hasil

Titer IgG pada perawatan hari ke 0 penderita DBD tanpa syok adalah 7,5 (SD=3,2), sedangkan penderita SSD adalah 9,2 (SD=2,45). Rasio IgM/IgG perawatan hari ke-7 penderita DBD tanpa syok adalah 1,3 (SD=2,34) sedangkan penderita SSD adalah 0,6 (SD=0,95). Titer IgG perawatan hari ke-0 penderita SSD adalah lebih tinggi secara bermakna dibanding pada penderita DBD tanpa syok. Tidak ada perbedaan yang bermakna antara rasio IgM/IgG perawatan hari ke-7 antara penderita SSD dan DBD tanpa syok. Ada hubungan yang bermakna antara titer IgG perawatan hari ke-0 dan rasio IgM/IgG perawatan hari 7 dengan IEP. Ada hubungan yang bermakna antara titer IgG perawatan hari ke-0 dengan derajat klinis DBD.

Kesimpulan

Titer IgG perawatan hari ke-0 penderita SSD lebih tinggi secara bermakna dibanding DBD tanpa syok. Titer IgG perawatan hari ke-0 dan rasio IgM/IgG perawatan hari ke-7 berhubungan dengan indeks efusi pleura. Titer IgG perawatan hari ke-0 berhubungan bermakna dengan derajat klinis DBD

Kata kunci: Dengue, syok, efusi pleura, IgG, IgM, rasio IgM/IgG

Abstract

Background

Anti dengue IgG has important role on dengue hemorrhagic fever (DHF) immunopathogenesis. IgM/IgG ratio has prognostic value for DHF clinical manifestation. Body immun system respon to dengue may cause plasma leakage dan coagulation disorder. The aim of this research is to investigate the relation of anti dengue IgG level and IgM/IgG ratio with pleural effusion index (PEI) and severity of DHF.

Research Method

This prosepective research was conducted on Kariadi General Hospital in periode 2001 until 2003. Research subjets were 99 children who diagnosed as DHF that composed of 49 children non shock and 50 children with dengue shock syndrom (DSS). The anti dengue (DEN) IgG at day 0 (fever day 2-4, acute phase) and 7 (fever day 8-11, early convalescence), IgM at day 7(fever day 8-11, early convalescence) were measured by ELISA method. PEI was calculated from plain thorax photo at day 0 hospitalization.

Result

The average anti DEN IgG level at day-0 hospitalization of non shock group was 7,5 (SD=3,2), on DSS group 9,2 (SD=2,45). IgM/IgG ratio at day 7 on non shock group was 1.3 (SD=2.34), on children with DSS was 0.6 (SD=0.95). IgG level at day-0 hospitalization of DSS group was significantly higher than non shock. There was no significant different on IgM/IgG ratio at day 7 between DSS and non shock. There was a significant correlation between IgG at day-0 hospitalization with IgM/IgG ratio at day 7 and PEI. IgG at day-0 was also significantly associated with clinical severity od DHF

Conclusion

Anti DEN IgG at day-0 hospitalization on DSS group was significantly higher than non shock. IgG at day-0 and IgM/IgG ratio at day 7 hospitalization was associated to pleural effusion indeks. IgG at day-0 hospitalization was also significantly associated with clinical severity od DHF

Keywords: Dengue, shock, pleural effusion, IgG, IgM, IgM/IgG ratio

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Imunoglobulin G (IgG) antidengue adalah antibodi utama yang diduga mempunyai peran penting dalam imunopatogenesis demam berdarah dengue (DBD)^(1,2). Dalam teori *infection enhancing antibody* yang merupakan teori terpopuler saat ini, menyebutkan bahwa antibodi IgG yang terbentuk pada infeksi dengue terdiri dari antibodi yang berfungsi menghambat replikasi virus (*neutralizing antibody*) dan antibodi yang memacu replikasi virus (*infection enhancing antibody*)⁽³⁾. Antibodi non netralisasi yang dibentuk pada infeksi primer akan menyebabkan terjadinya kompleks imun pada infeksi sekunder yang dapat memacu replikasi virus. Teori ini pula yang mendasari pendapat bahwa infeksi sekunder virus dengue oleh serotipe yang berlainan akan cenderung menyebabkan manifestasi berat (*hipothesis of secondary heterologous infection*)⁽¹⁾.

Meskipun saat ini teori *infection enhancing antibody* merupakan teori paling populer, namun mekanisme sebenarnya tentang patofisiologi, hemodinamika dan biokimiawi DBD belum diketahui secara pasti karena kesukaran mendapatkan model binatang percobaan yang dapat digunakan untuk menimbulkan gejala klinis DBD seperti pada manusia⁽¹⁾.

Koraka dkk (1997) pada penelitiannya mengenai hubungan antara kinetik kelas dan subkelas imunoglobulin anti dengue dengan derajat klinis demam dengue menyatakan bahwa titer IgM, IgG₁, IgG₃ merupakan antibodi predominan pada penderita demam dengue, DBD tanpa syok dan SSD. Sedangkan IgA, IgG₁ dan IgG₄ adalah parameter yang berhubungan dengan derajat klinis DBD⁽⁴⁾.

Infeksi primer dan sekunder dibedakan melalui respon imun yang tampak dari titer IgM dan IgG, yang kinetiknya mengalami perubahan menyolok pada 3 fase yakni fase akut (sakit hari ke 2-4), fase konvalesen dini (sakit hari ke 8-11) dan fase konvalesen (setelah hari ke 15). Adapun *positivitas rate* imunoglobulin berdasar lama sakit, bergantung kepada jenis infeksi^(4,5).

Rasio imunoglobulin M dan imunoglobulin G anti dengue (IgM/IgG anti DEN) pada pemeriksaan ELISA (*Enzyme-linked Immunosorbent Assay*) dapat digunakan untuk membedakan infeksi primer dan sekunder virus dengue^(6,7,8). Pemeriksaan ini mempunyai nilai prognostik mengingat infeksi sekunder selama ini dikaitkan dengan kejadian demam berdarah dengue (DBD) dengan berbagai manifestasi klinisnya^(7,8,9). Penelitian Faizi (1998) mengenai validitas IgM/IgG sebagai pembeda infeksi primer dan sekunder, menyatakan bahwa pada rasio $IgM/IgG < 1,09$ adalah infeksi sekunder dan perlu kewaspadaan terjadinya syok⁽⁹⁾.

Selain infeksi sekunder dengan strain virus yang berbeda, faktor lain yang diduga ikut mempengaruhi berat ringannya derajat klinis DBD adalah

umur, jenis kelamin, status gizi, HLA, golongan darah, status imun penderita, serta virulensi virus^(10,11).

Respon imunopatologi tubuh terhadap infeksi virus dengue menyebabkan kebocoran plasma dan kelainan hemostasis. Kebocoran plasma ini membedakan DBD dengan demam dengue (DD) dan menentukan derajat DBD^(9,12,13). Pada beberapa penelitian, efusi pleura berhubungan bermakna dengan terjadinya syok dan mortalitas⁽¹⁴⁾. Penelitian prospektif oleh Green (1997), efusi pleura didapatkan pada 84% penderita DBD dan penderita dengan indeks efusi pleura rata-rata 14,1% menimbulkan kewaspadaan terhadap syok⁽¹⁴⁾. Penelitian oleh Tatty ES (2004), efusi pleura terdapat pada 80,3% sindroma syok dengue dan 39,7% DBD tanpa syok. Indeks efusi pleura lebih dari 6% mempunyai risiko syok 13,86 kali pada DBD⁽¹⁵⁾.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui hubungan antara titer IgG dan rasio IgM/IgG perawatan hari ke-7 antidengue terhadap kebocoran plasma dengan manifestasi efusi pleura yang diestimasi secara semikuantitatif menggunakan indeks efusi pleura, dan terhadap derajat klinis DBD.

1.2. Perumusan Masalah

- a. Apakah terdapat perbedaan antara titer IgG anti dengue pada DBD tanpa syok dan SSD?
- b. Apakah terdapat perbedaan antara rasio IgM / IgG anti dengue pada DBD tanpa syok dan SSD?

- c. Apakah terdapat hubungan antara titer IgG anti dengue dengan indeks efusi pleura pada penderita DBD ?
- d. Apakah terdapat hubungan antara rasio IgM / IgG anti dengue dengan indeks efusi pleura pada penderita DBD?
- e. Apakah terdapat hubungan antara titer IgG dan rasio IgM/IgG dengan indeks efusi pleura?
- f. Apakah terdapat hubungan antara titer IgG dan rasio IgM/IgG dengan derajat klinis DBD?

1.3. Tujuan Penelitian

1. Mengetahui perbedaan antara titer IgG anti dengue pada DBD tanpa syok dan SSD.
2. Mengetahui perbedaan antara rasio IgM / IgG anti dengue pada DBD tanpa syok dan SSD.
3. Mengetahui hubungan antara titer IgG anti dengue dengan indeks efusi pleura pada penderita DBD.
4. Mengetahui hubungan antara rasio IgM / IgG anti dengue dengan indeks efusi pleura pada penderita DBD.
5. Mengetahui hubungan antara titer IgG dan rasio IgM/IgG dengan indeks efusi pleura.
6. Mengetahui hubungan antara titer IgG dan rasio IgM/IgG dengan derajat klinis DBD.

1.4. Manfaat Penelitian

a. Pelayanan Kesehatan

Menunjang diagnosis dan mengetahui prognosis penderita demam berdarah dengue.

b. Pendidikan

Menambah pengetahuan tentang patogenesis, diagnosis serta perjalanan penyakit demam berdarah dengue.

c. Penelitian

Sebagai landasan untuk penelitian selanjutnya.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Definisi Demam Berdarah Dengue

Demam berdarah dengue (DBD) adalah infeksi akut yang disebabkan oleh virus dengue (DEN 1,2,3,4)^(16,17). Khas ditandai oleh manifestasi klinik mayor berupa panas tinggi, fenomena perdarahan, sering disertai hepatomegali dan pada kasus yang berat terdapat tanda-tanda gangguan sirkulasi^(1,2,16). Pada penderita mungkin mengalami syok hipovolemia akibat dari perembesan plasma. Hal ini disebut sindroma syok dengue (SSD). Gambaran laboratoris yang khas pada DBD adalah trombositopenia dan hemokonsentrasi^(16,17). Kriteria klinis, laboratorium dan derajat penyakit DBD menurut WHO 1999⁽²⁾.

Klinis	Derajat Penyakit
- Panas tinggi mendadak	I. Demam dengan uji bendung (+)
- Perdarahan (uji bendung (+)), ptekieae, epistaksis dll	II. Derajat I dengan perdarahan spontan
- Hepatomegali	III. Nadi cepat dan kecil, tekanan nadi < 20 mmHg, hipotensi, akral dingin
- Syok : Nadi kecil dan cepat tekanan nadi < 20/hipotensi disertai gelisah dan akral dingin	IV. Syok berat, nadi tak teraba, tekanan darah tak terukur

Kriteria Laboratoris :

- Trombositopenia (< 100.000/ml)
- Hemokonsentrasi (Ht > 20 % dari normal)

Diagnosis pasti DBD ditegakkan melalui pemeriksaan serologi dan isolasi virus. Isolasi virus adalah cara yang paling baik untuk diagnosis laboratorium⁽¹⁸⁾. Oleh karena dapat langsung mengetahui tipe virus penyebab.

Virus dengue terdapat dalam jumlah besar di darah pada saat stadium viremia yang berlangsung singkat, (sekitar 5 hari) sejak demam. Di luar itu jumlah virus sudah berkurang atau tidak ada sama sekali. Untuk isolasi virus dipakai darah atau plasma, sedangkan untuk identifikasi virus atau partikel dapat dipakai jaringan biopsi organ tubuh yang banyak mengandung virus. Spesimen untuk isolasi itu kemudian diperbanyak virusnya dengan cara membiakkannya pada beberapa media misalnya, biakan jaringan, nyamuk *Aedes aegypti* dewasa, muda, atau nyamuk *Aedes albopictus* secara intratoraks, larva *Aedes aegypti* secara intraserebral dan *suckling mice* secara intraserebral⁽¹⁹⁾

Uji serologi didasarkan atas antibodi yang timbul akibat infeksi virus dengue^(18,20) Sesudah virus dengue masuk dalam tubuh, maka virus akan menghilang beberapa saat (fase eklips). Sesudah itu akan timbul antibodi netralisasi. Antibodi ini akan keluar pertama kali, naik, dan mencapai puncak, kemudian turun perlahan-lahan dan mungkin ada seumur hidup dalam titer yang rendah. Antibodi netralisasi, sifatnya sangat spesifik, dan tesnya sangat sensitif⁽²⁰⁾. Antibodi yang muncul kemudian adalah *hemaglutinasi inhibisi* (HI)⁽²¹⁾. Antibodi ini juga akan naik mencapai puncak, kemudian turun perlahan-lahan dan akan ada dalam titer yang rendah seumur hidup. Antibodi ini sifatnya tidak spesifik tetapi tesnya sangat sensitif. Yang terakhir adalah antibodi komplemen fiksasi (CF). Zat ini keluar terakhir, naik, mencapai puncak, turun perlahan dan menghilang setelah 2 – 3 tahun. Tes antibodi CF terletak di antara keduanya. Dari ketiga tes itu, uji HI yang paling populer dan yang paling banyak dipakai, dengan alasan sederhana, murah, dan relatif cepat.

Interpretasi uji HI berdasarkan titer spesimen kedua naik > 4 kali kelipatan dari titer spesimen 1 atau salah satu spesimen titernya menunjukkan titer tinggi > 1280^(20,21).

Pemeriksaan serologi secara ELISA, menentukan titer IgM dan IgG⁽²²⁾.

Pada saat ini dikenal ELISA IgM/IgG sebagai berikut:

1. Uji ELISA IgM/IgG yang dikembangkan laboratorium sendiri (ELISA Captured).
2. Uji ELISA IgM/IgG komersial (IgM blot dan IgG blot, Dengue Rapid IgM/IgG).

Metode ELISA lebih spesifik dibandingkan metode HI karena tidak mengadakan reaksi silang dengan golongan flavivirus yang lain. Metode ini juga berhasil mengukur rasio IgM antidengue terhadap IgM anti *Japanese encephalitis*, sehingga dapat ditentukan penyebab infeksi yang lebih berperan diantara kedua penyakit tersebut⁽²³⁾.

Di samping uji laboratorium yang spesifik, ada beberapa uji laboratorium yang tidak spesifik dalam arti tidak hanya untuk infeksi dengue, seperti berikut.

1. Jumlah leukosit yang normal atau menurun dengan didominasi oleh neutrofil pada awal perjalanan penyakit. Pada akhir fase demam didapatkan limfositosis relatif dengan jumlah limfosit atipikal lebih dari 15%⁽²⁴⁾
2. Trombositopenia dan hemokonsentrasi selalu didapatkan pada DBD. Trombosit menurun sedikit lebih cepat daripada peningkatan hematokrit dan kedua kelainan itu terjadi sebelum suhu turun dan sebelum terjadi syok.
3. Ada penurunan protein plasma terutama hipoalbuminemia.

4. Hiponatremia terjadi pada kasus berat.
5. Serum *alanin transferase* (ALT) sedikit meningkat.
6. Kelainan pembekuan terjadi sesuai derajat penyakit⁽⁵⁾.

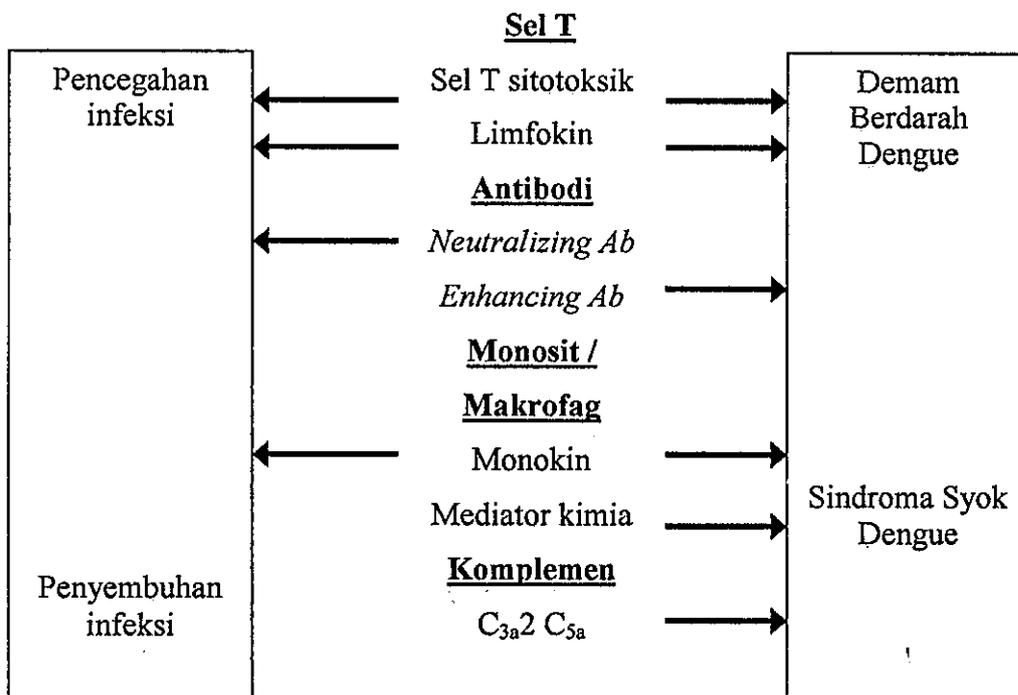
Selain pemeriksaan laboratorium darah, pemeriksaan penunjang radiologis juga memberikan kontribusi dalam menegakkan diagnosis demam berdarah dengue. Pada pemeriksaan foto polos dada atau USG akan tampak adanya penimbunan cairan dalam rongga pleura yang disebut efusi pleura⁽²⁵⁾. Pada penderita demam berdarah dengue, efusi pleura ini dapat terjadi pada hemitorak kanan atau kedua hemitorak. Namun demikian tidak pernah terjadi efusi pleura kiri saja^(25,26,27).

2.2. Patogenesis Infeksi Virus Dengue

Kerusakan sel pejamu oleh virus dengue, terjadi secara langsung maupun tidak langsung melalui respon imun atau kombinasi keduanya⁽¹⁾. Respon imun tersebut merupakan respon pertahanan tubuh yang terjadi sebagai akibat infeksi virus dengue, meliputi pembentukan kompleks imun, aktivasi limfosit T, aktivasi sistem komplemen dan produksi sitokin⁽³⁾. Kecurigaan terhadap peran mekanisme imunologik pada patogenesis DBD dimulai sejak ditemukannya korelasi yang kuat antara respon imun sekunder dengan DBD berat^(1,3).

Penelitian mengenai respon imun terhadap infeksi virus dengue pada manusia membuktikan adanya dua jenis respon imun yang berlawanan yaitu pertama, respon imun yang berfungsi untuk pencegahan dan penyembuhan

infeksi virus dengue; kedua, respon imunopatologi yang menyebabkan terjadi manifestasi klinis DBD^(1,28).



Gambar 1 Respon Imun Terhadap Infeksi Virus Dengue dan Patogenesis DBD/SSD⁽¹⁾.

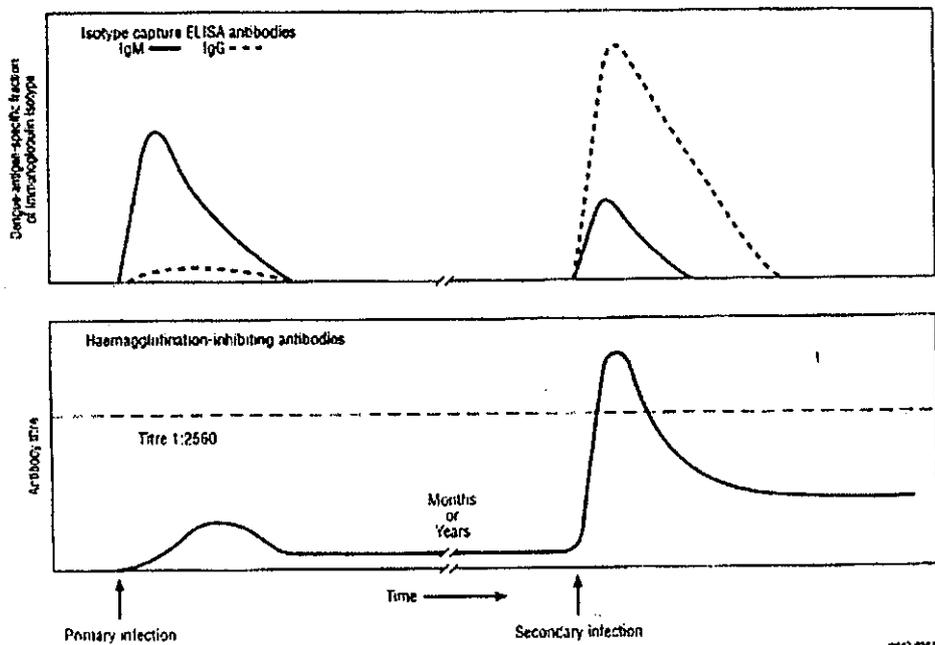
Respon kekebalan tubuh penderita demam berdarah dengue dan demam dengue terdiri dari respon imun yang tidak spesifik, spesifik yang meliputi respon imun humoral maupun seluler^(1,3,29)

Pada respon kekebalan tubuh non spesifik penderita DBD yang berperan adalah makrofag, komplemen, dan trombosit. Sedangkan pada respon kekebalan humoral yang berperan adalah IgG dan IgM bekerjasama dengan kekebalan tubuh non spesifik membentuk *antibody dependent cytotoxic cell* (ADCC). Sedangkan pada respon kekebalan seluler yang berperan adalah sel limfosit T-sitotoksik, CD 8, MHC 1, IL-1, IL-6, TNF alfa, dan interferon⁽³⁰⁾.

Pada respon imun yang tidak spesifik setelah terinfeksi virus dengue maka akan terjadi aktivitas sistem komplemen C3 akan menghasilkan C3a dan C5a yang merupakan mediator peningkatan permeabilitas kapiler dan terjadi perembesan plasma dari ruang intravaskuler ke ekstravaskuler (*plasma leakage*)^(1,3).

Infeksi primer dan sekunder dibedakan melalui respon imun yang tampak dari titer IgM dan IgG, yang kinetiknya mengalami perubahan menyolok pada 3 fase yakni fase akut (sakit hari ke 2-4), fase konvalesen dini (sakit hari ke 8-11) dan fase konvalesen (setelah hari ke 15). Pada infeksi primer antibodi yang berespon terutama adalah IgM yang akan bereaksi terhadap serotipe homolog. Pada infeksi sekunder antibodi utama adalah IgG. Setelah fase viremia (hari 3 – 5) berakhir, pada infeksi primer IgM mulai terbentuk. Sedangkan pada infeksi sekunder titer IgG yang telah ada meningkat dengan cepat^(3,29). IgM berada dalam darah sekitar hari ke 5, meningkat pada minggu pertama sampai ketiga dan menghilang setelah 2 – 3 bulan. IgG pada infeksi primer meningkat setelah hari ke 5 dan mencapai titer tertinggi setelah hari ke 14. Sedang pada infeksi sekunder IgG meningkat setelah hari ke 2⁽⁷⁾. Lihat gambar 2.

Pada infeksi DBD, antibodi mempunyai dua fungsi yang berlawanan. Pertama sebagai *neutralizing antibody*, mencegah infeksi dengan cara mengikat partikel virus dan menghambat pengikatan virus pada reseptor permukaan sel. Antibodi juga melawan protein virus yang diekspresikan pada permukaan sel yang terinfeksi, sehingga memungkinkan pengikatan oleh sel



Gambar 2. Kinetik IgM dan IgG pada infeksi primer dan sekunder dengue⁽³⁾

NK (*natural killer*) atau makrofag dan memacu terjadinya fagositosis atau ADCC (*antibody dependent cell mediated cytotoxicity*). Sejalan dengan mobilitas monosit, infeksi akan menyebar ke seluruh tubuh dan monosit/makrofag ini akan menjadi target eliminasi sistem imun yang diperantarai oleh CTLs ⁽¹⁾ Fungsi kedua, fenomena *Antibody Dependent Enhancement* (ADE) yaitu dengan adanya *non neutralizing antibody* yang akan meningkatkan sel yang terinfeksi⁽¹⁾. Monosit yang terinfeksi virus dengue akan merangsang limfosit dan mengaktifasi limfosit sehingga memproduksi sitokin yang akan mempengaruhi reseptor Fc monosit yang menyebabkan jumlah sel yang terinfeksi bertambah. Pelepasan sitokin tersebut seperti IFN α , IL-1, IL-2, TNF dan faktor jaringan selanjutnya akan mempengaruhi sel-sel endotel menyebabkan permeabilitas vaskular dan mengaktifasi kaskade koagulasi,

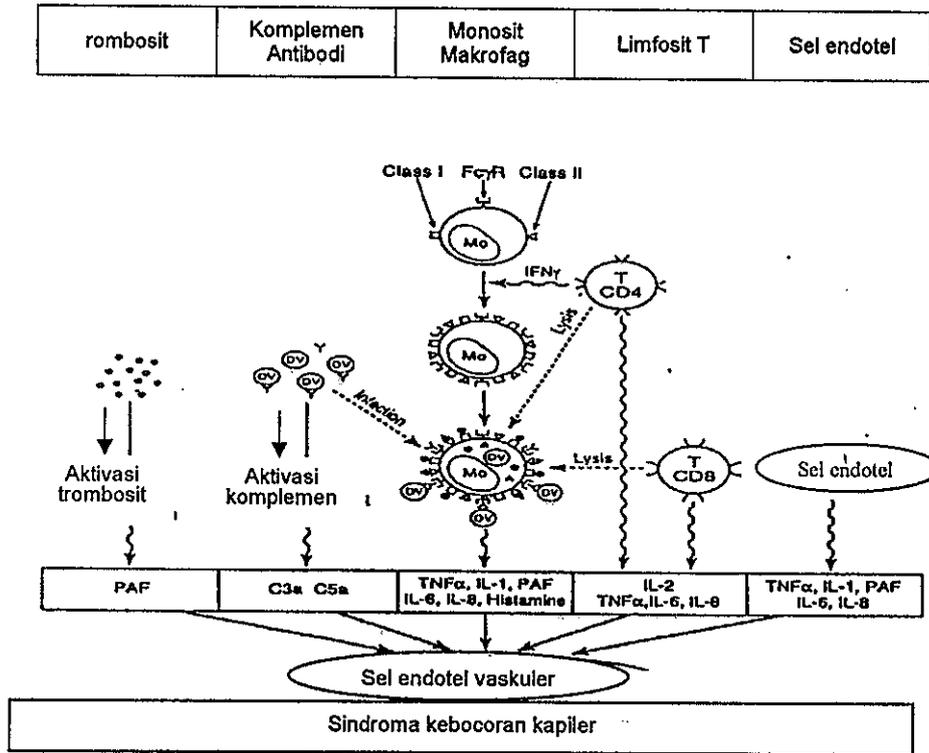
sehingga terjadi kebocoran plasma sampai syok, juga terjadinya perdarahan (1,3,30).

Pada DBD terutama infeksi sekunder, virus yang masuk ke makrofag/monosit akan mendapat tanggapan dari limfosit. Peptida virus akan dibawa oleh molekul MHC kelas I ke permukaan sel monosit tersebut sehingga akan lebih mudah dikenali oleh limfosit T CD 8. Terjadi aktivasi sel T yang bermakna dengan dikeluarkannya CD 4 dan CD 8. Aktivasi ini menyebabkan dilepaskannya sitokin-sitokin dan mediator-mediator yang berperan pada permeabilitas kapiler dan kaskade koagulasi serta terjadi lisis dari monosit yang terinfeksi dengue melalui perantaraan sel T sitotoksik (28,30). Aktivasi respon imun seluler ini tampak sejak awal infeksi dan bertambah sesuai dengan derajat klinis penyakit. Green dkk yang meneliti RNA virus memakai *flow cytometri* menemukan peningkatan sel T dan sel NK pada hari ke 3 penderita DBD dibanding penderita dengue⁽³⁰⁾.

2.3. Efusi Pleura pada DBD

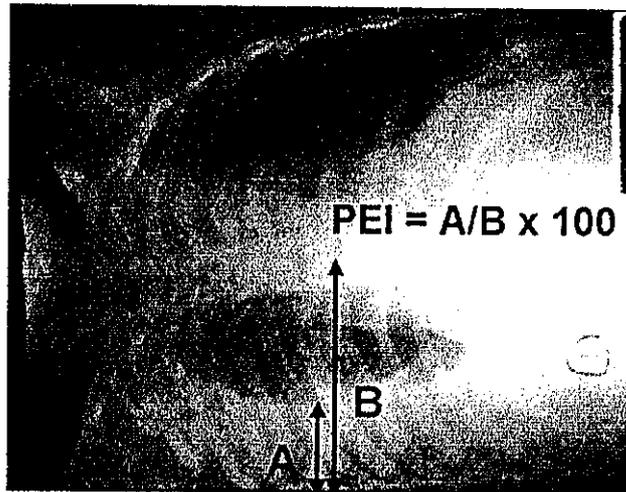
Efusi pleura merupakan salah satu manifestasi klinis kebocoran vaskular yang merupakan gambaran khas pada DBD dan juga indikator untuk menentukan derajat penyakit DBD (9,12,13). Kebocoran vaskular disebabkan oleh perubahan permeabilitas yang meningkat akibat disfungsi struktur sel endotel. Hal ini terjadi karena respon imunopatologik tubuh terhadap infeksi virus dengue. Respon imun tersebut meliputi pembentukan kompleks antibodi, aktivasi limfosit T, aktivasi sistem komplemen, dan produksi sitokin⁽³¹⁾.

Kebocoran vaskular lebih mudah terjadi pada penderita anak-anak karena pembuluh darah masih dalam pertumbuhan dan lebih permeabel⁽³²⁾. Lihat gambar 3.



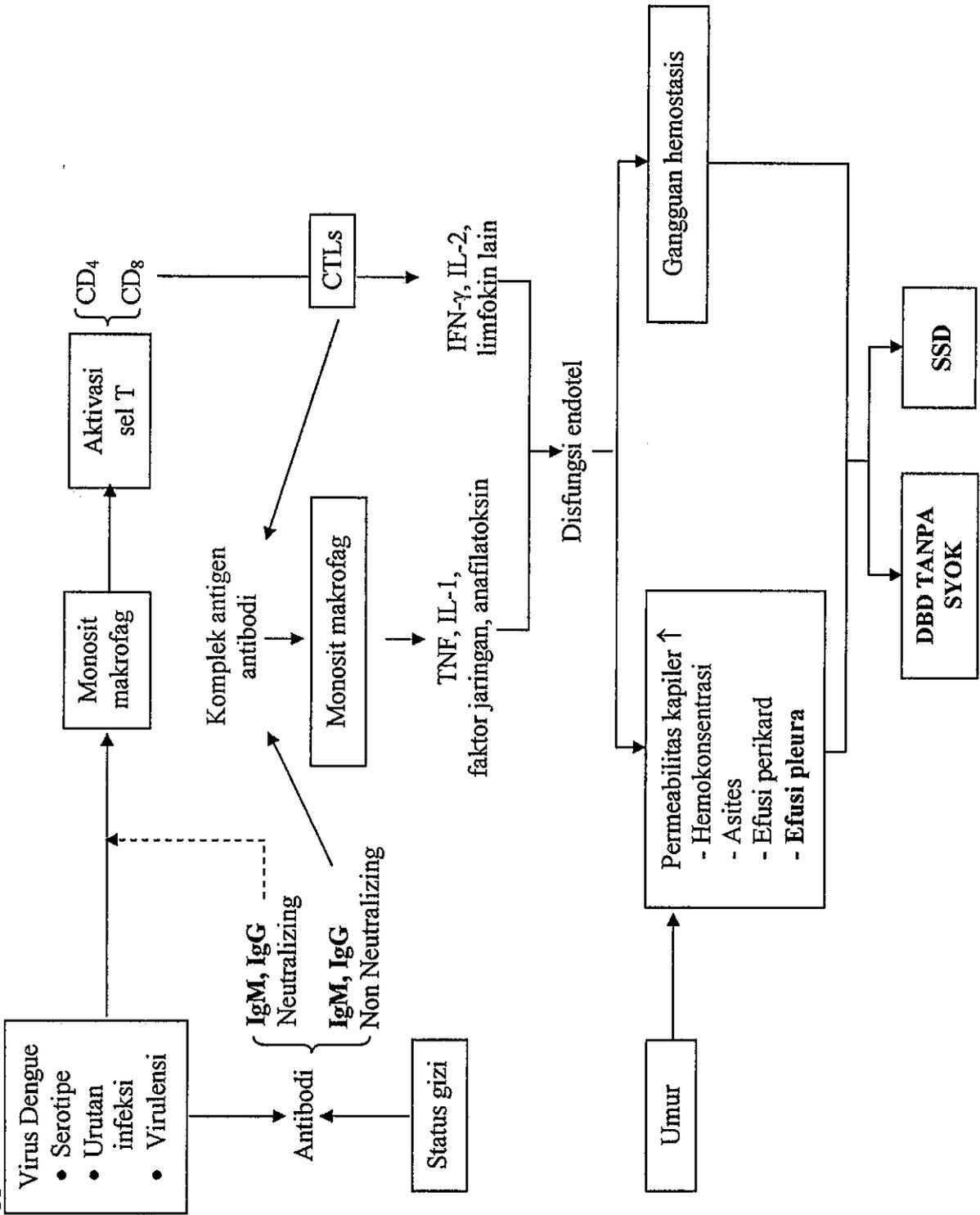
Gambar 3. Respon imunopatologik tubuh terhadap infeksi virus dengue : pembentukan kompleks imun, aktivasi limfosit, aktivasi komplemen dan trombosit yang menyebabkan disfungsi sel endotel⁽³³⁾

Secara klinis penilaian adanya dan derajat berat efusi pleura adalah dalam bentuk Indeks Efusi Pleura (IEP). Indeks efusi pleura adalah estimasi semikuantitatif cairan serosa rongga pleura pada foto polos dada pada proyeksi lateral dekubitus kanan dengan membandingkan lebar maksimal efusi pleura dengan lebar maksimal hemitorak kanan. Rumus perhitungan adalah $IEP = A/B \times 100$. Lihat gambar 4.

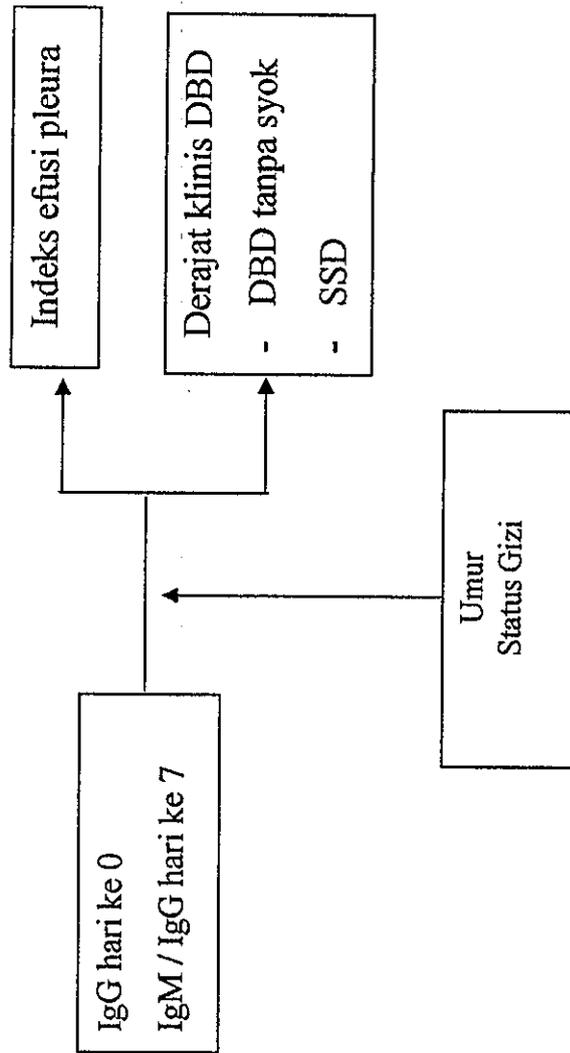


Gambar 4. Perhitungan Indeks Efusi Pleura pada Foto Polos Dada

2.4. Kerangka Teori



2.5. Kerangka Konsep



2.6. Hipotesis

- a. Terdapat perbedaan antara titer IgG anti dengue pada DBD tanpa syok dan SSD.
- b. Terdapat perbedaan antara rasio IgM / IgG anti dengue pada DBD tanpa syok dan SSD.
- c. Terdapat hubungan antara titer IgG anti dengue dengan indeks efusi pleura pada penderita DBD.
- d. Terdapat hubungan antara rasio IgM / IgG anti dengue dengan indeks efusi pleura pada penderita DBD.
- e. Terdapat hubungan antara titer IgG dan rasio IgM/IgG dengan indeks efusi pleura.
- f. Terdapat hubungan antara titer IgG dan rasio IgM/IgG dengan derajat klinis DBD.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan pada penderita DBD yang dirawat di bangsal Infeksi, HND dan PICU bagian anak RSDK Semarang, mulai bulan Juli 2001 sampai sampel tercapai.

3.2. Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian analitik observasional dan prospektif yang mengukur titer IgG perawatan hari ke 0 dan rasio IgM & IgG pada perawatan hari ke 7 sebagai respon imun infeksi dengue, dihubungkan dengan indeks efusi pleura dan manifestasi derajat klinis penyakit demam berdarah dengue.

3.3. Populasi dan Sampel Penelitian

3.3.1. Populasi penelitian

Populasi target: anak usia 3-14 tahun yang menderita DBD.

Populasi terjangkau: anak usia 3-14 tahun yang menderita DBD dan dirawat di Rumah Sakit Dr. Kariadi selama periode penelitian.

3.3.2. Sampel penelitian

Penderita yang memenuhi kriteria sebagai berikut

a. Kriteria Inklusi

- Pasien DBD derajat I – IV (kriteria WHO 1997) yang dirawat, umur 3 – 14 tahun, menderita panas hari ke 2-4.
- Orang tua bersedia penderita masuk dalam penelitian

b. Kriteria Eksklusi

Menderita gizi buruk, penyakit keganasan, keadaan hipoalbuminemia karena sebab lain (sirosis hepatis, sindroma nefrotis), penyakit kardiovaskular (gagal jantung, hepatitis), penyakit infeksi paru bakterial, mendapat terapi steroid jangka lama.

3.3.3. Besar sampel

Besar sampel dihitung berdasar rumus untuk uji hipotesis terhadap 2 proporsi⁽³⁴⁾:

$$n_1 = n_2 = \left[\frac{z\alpha\sqrt{2PQ} + z\beta\sqrt{(P_1Q_1) + (P_2Q_2)}}{P_1 - P_2} \right]$$

$$P = \frac{P_1 + P_2}{2}$$

$$Q = 1 - P$$

$P_1 = 60\%$ proporsi kejadian DBD tanpa syok pada infeksi sekunder

$$P_2 = 1 - P_1$$

$P_2 = 25\%$ proporsi kejadian SSD pada infeksi sekunder

$$d_0 = 20\%$$

$n = 47$; Besar sampel total 94

Perhitungan besar sampel berdasarkan *outcome* indeks efusi pleura tidak dilakukan karena belum ada data dan apabila dihitung jumlahnya lebih kecil dari perhitungan sampel di atas.

3.3.4. Metoda sampling

Consecutive sampling, semua penderita DBD yang masuk pada periode penelitian dan memenuhi kriteria akan digunakan sebagai sample sampai besar sample terpenuhi.

3.4. Varibel Penelitian

3.4.1. Variabel bebas

Titer IgG, Rasio IgM dan IgG (IgM/IgG), skala rasio

3.4.2. Variabel terikat

- Indeks efusi pleura, skala rasio
- Derajat klinis, skala nominal, dibedakan menjadi Sindroma Syok Dengue (SSD) dan demam berdarah dengue tanpa syok (DBD tanpa syok).

3.4.3. Variabel perancu

- Umur, skala rasio
- Status gizi, skala ordinal

3.5. Pengumpulan Data

Dicatat data penderita meliputi umur, jenis kelamin, gejala klinis, hasil pemeriksaan laboratorium, hari sakit, lama perawatan dan *outcome* setelah pengelolaan di RSDK Semarang.

Penderita dibagi menjadi 2 kelompok, yaitu kelompok DBD tanpa dan disertai syok (SSD).

Untuk mengukur titer IgG anti dengue, yakni perawatan hari ke 0 (panas hari ke 2-4, fase akut); sedangkan untuk mengukur rasio IgM/IgG perawatan hari ke-7 anti dengue, digunakan sampel darah perawatan hari ke 7 (panas hari ke 8-11, fase konvalesen dini). Pemeriksaan serologi dilakukan di Belanda dengan menggunakan metode MRL ELISA (*product code EL 1500 M*) indirek.

Hasil pemeriksaan serologi dinyatakan presuntif dengue bila titer IgM $\geq 1,0$ atau IgG $\geq 1,0$; Infeksi primer bila rasio IgM terhadap IgG $\geq 1,0$, dan infeksi sekunder bila rasio IgM terhadap IgG $< 1,0$.

Data foto polos dada diambil pada perawatan hari ke 0 dengan posisi antero posterior dan lateral dekubitus kanan (RLD). Dari posisi RLD dihitung indeks efusi pleura.

3.6. Definisi operasional

No.	Variabel	Skala
a.	Titer IgG hari ke 0 adalah titer Ig G anti dengue yang diukur saat penderita masuk rumah sakit (panas hari ke 2-4) Sampel darah diambil dari darah vena. Kadar IgG diukur dengan metode ELISA	Rasio
b.	Titer IgM hari ke 7 adalah titer IgM anti dengue yang diukur pada perawatan hari ke7 (panas hari 8 – 11) Sampel diambil dari darah vena. Kadar IgM diukur dengan metode ELISA	Rasio

No.	Variabel	Skala
c.	<p>Titer IgG hari ke 7 adalah titer IgG anti dengue yang diukur pada perawatan hari ke7 (panas hari 8 – 11)</p> <p>Sampel diambil dari darah vena. Kadar IgG diukur dengan metode ELISA</p> <p>Rasio IgM dan IgG (IgM/IgG) anti dengue: perbandingan antara titer IgM dan IgG pada perawatan hari ke 7</p>	Rasio
d.	<p>Indeks efusi pleura : estimasi semikuantitatif cairan serosa rongga pleura pada foto polos dada pada proyeksi lateral dekubitus kanan dengan membandingkan lebar maksimal efusi pleura (A) dengan lebar maksimal hemitorak kanan (B).</p> <p>$IEP = A/B \times 100$</p>	Rasio
e.	<p>Derajat klinis DBD. Ditentukan pada saat pasien masuk kerumah sakit berdasarkan Kriteria WHO 1999 untuk derajat berat Demam Berdarah Dengue.</p> <ul style="list-style-type: none"> • DBD tanpa syok: DBD derajat I dan II menurut kriteria WHO • SSD (Sindroma Syok Dengue) : DBD derajat III dan IV menurut kriteria WHO 	Nominal

No.	Variabel	Skala
f.	Umur dinyatakan dalam tahun penuh pada saat penderita masuk rumah sakit berdasarkan data tanggal lahir yang tercantum dalam catatan medik.	Rasio
g.	Indeks Massa Tubuh (IMT) dihitung menggunakan rumus: berat badan dalam kg dibagi kuadrat panjang badan dalam meter	Interval
h.	Status gizi ditentukan berdasarkan kurva persentil Indeks Massa Tubuh dari <i>National Center for Chronic Disease Prevention and Health, CDC National Center for Health Statistics (2002)</i> . <ul style="list-style-type: none"> • Gizi Kurang < persentil 5 • Gizi Normal 86 – 95 pesentil • Gizi lebih (<i>overweight</i>) > persentil 95 	Ordinal

3.7. Analisis Data

Persiapan data sebelum analisis data. Data yang terkumpul dilakukan *cleaning, coding, tabulasi dan data entry*. Dibedakan menjadi analisa diskriptif dan uji hipotesis. Pada analisa diskriptif data yang berskala kategorial akan dinyatakan dalam distribusi frekuensi dan persen.

Data yang berskala numerik yaitu titer IgG, rasio IgM/IgG perawatan hari ke-7 dan indeks efusi pleura dinyatakan sebagai rerata dan simpang baku.

Uji hipotesis untuk membandingkan IgG hari ke 0 antara DBD tanpa syok dan SSD menggunakan uji *t*-tidak berpasangan atau uji *Mann-Withney* apabila distribusi data tidak normal. Uji hipotesis untuk membandingkan rasio IgM/IgG perawatan hari ke-7 antara DBD tanpa syok dan SSD menggunakan uji *t*-tidak berpasangan, atau uji *Mann-Withney* apabila data distribusinya tidak normal. Uji hipotesis untuk mengetahui hubungan antara IgG hari ke 0 dengan indeks efusi pleura menggunakan uji korelasi *Pearson* atau bila distribusi data tidak normal, digunakan uji korelasi *Spearman*.

Uji hipotesis untuk mengetahui hubungan antara rasio IgM/IgG perawatan hari ke-7 dengan indeks efusi pleura menggunakan uji korelasi *Pearson* atau bila distribusi data tidak normal digunakan uji korelasi *Spearman*. Uji korelasi parsial digunakan untuk mengetahui hubungan antara IgG perawatan hari ke 0, rasio IgM / IgG perawatan hari ke 7 dan indeks efusi pleura dengan mempertimbangkan faktor umur dan indeks masa tubuh.

Hubungan antara derajat klinis DBD dengan titer IgG dan rasio IgM/IgG perawatan hari ke-7 diuji dengan menggunakan uji regresi logistik. Hubungan antara titer IgG dan rasio IgM/IgG perawatan hari ke-7 dengan indeks efusi pleura diuji dengan menggunakan uji regresi ganda.

Perbedaan atau hubungan dianggap bermakna apabila $p \leq 0,05$. Analisis data menggunakan *SPSS for window ver. 11.5*

UPT-PUSTAK-UNDIP

3.8. Etika Penelitian

Persetujuan untuk diikutsertakan dalam penelitian dimintakan dari orangtua penderita secara tertulis dengan menggunakan *Informed Consent*. Orangtua penderita sebelumnya telah diberikan penjelasan secara rinci tentang tujuan dan prosedur penelitian. Seluruh biaya yang dipergunakan untuk penelitian ditanggung oleh peneliti. Responden tidak dibebani biaya tambahan apapun untuk penelitian.

3.9. Orisinalitas Penelitian

Banyak peneliti yang mempelajari imunopatogenesis penyakit DBD. Koraka, dkk telah melakukan penelitian kinetik IgM, IgG anti dengue terhadap derajat klinis demam berdarah dengue. Juga telah dilakukan pengujian validitas rasio IgM/IgG perawatan hari ke-7 anti dengue sebagai pembeda infeksi primer dan sekunder pada demam berdarah dengue. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui hubungan antara titer IgG, rasio IgM/IgG perawatan hari ke-7 terhadap indeks efusi pleura dan derajat klinis DBD.

BAB IV

HASIL PENELITIAN

4.1. Karakteristik Subyek Penelitian

Pada periode penelitian didapatkan 111 anak yang didiagnosis menderita DBD berdasarkan kriteria WHO dan hasil pemeriksaan serologi. Walaupun demikian hanya 99 kasus yang memiliki data lengkap sehingga jumlah 99 kasus ini yang digunakan dalam analisis. Data karakteristik penderita berdasarkan derajat klinis DBD selanjutnya ditampilkan pada tabel 1.

Tabel 1. Karakteristik penderita berdasarkan derajat klinis DBD

Variabel	Diagnosis Klinis		p
	DBD tanpa syok (n=49)	SSD (n=50)	
Umur; tahun; rerata (SD)	8,6 (2,84)	7,1 (3,12)	0,01*
Jenis kelamin; n (%)			
• Laki-laki	19 (19,2 %)	30 (30,3 %)	
• Perempuan	30 (30,3 %)	20 (20,2 %)	0,04 [§]
Indeks Massa Tubuh	15,3 (2,61)	13,6 (3,67)	< 0,001
Status gizi			
• Kurang	13 (13,3 %)	31 (31,6 %)	
• Normal	33 (33,7)	16 (16,3)	
• Lebih	2 (2,0 %)	3 (3,1 %)	0,01 [§]
Lama panas	3,15 (0,8)	3,25 (0,8)	0,2*
Kategori infeksi dengue; n(%)			
• Primer	10 (90,9 %)	1 (9,1 %)	
• Sekunder	39 (44,3 %)	49 (55,7 %)	0,004 [§]
Efusi pleura	19 (20,0 %)	36 (37,9 %)	< 0,001

* Uji Mann-Whitney

[§] Uji χ^2

Rerata umur adalah 7,8 tahun ($SD=3,05$) yang terdiri atas 49 laki (49,5%) dengan rerata umur 7,9 tahun ($SD= 3,23$) dan 50 perempuan (50,5%) dengan rerata umur 7,8 tahun ($SD=2,91$)

Data pada tabel 1 menunjukkan umur penderita SSD adalah lebih muda dibanding DBD tanpa syok, dimana secara statistik perbedaan tersebut adalah bermakna ($p=0,05$). Berdasarkan jenis kelamin tampak bahwa penderita laki-laki yang menderita SSD adalah lebih banyak dibanding wanita ($p=0,04$).

Indeks Massa Tubuh (IMT) penderita SSD lebih rendah secara bermakna dibanding DBD tanpa syok ($p<0.001$). Pada tabel tampak bahwa sebagian besar penderita dengan SSD adalah berstatus gizi kurang (31,6%), sedangkan pada penderita DBD tanpa syok sebagian besar memiliki status gizi normal (33,7%). Secara statistik perbedaan tersebut adalah bermakna ($p=0,01$).

Pada tabel juga tampak bahwa lama panas pada perawatan hari ke-0 di RS (saat timbul panas pertama kali sampai dengan masuk rumah sakit) antara penderita SSD dan DBD tanpa syok adalah tidak berbeda bermakna dan rerata panas hari ke-3,2.

Dari hasil pemeriksaan serologi ELISA didapatkan 11 kasus infeksi primer dan 88 kasus infeksi sekunder dengue. Pada kelompok infeksi primer didapatkan 1 kasus (9,1%) dengan SSD, sedangkan pada kelompok infeksi sekunder didapatkan 49 kasus (55,7 %) yang mengalami SSD.

4.2. Titer IgG perawatan hari ke-0, IgG hari ke-7, IgM hari ke-7, rasio IgM/IgG hari ke-7 dan Indeks Efusi Pleura

Hasil pemeriksaan Titer IgG perawatan hari ke-0, IgG hari ke-7, IgM hari ke-7, rasio IgM/IgG perawatan hari ke-7 dan Indeks Efusi Pleura pada penderita DBD yang menjadi subyek penelitian ditampilkan pada tabel 2.

Tabel 2. Titer IgG perawatan hari ke-0, IgM hari ke-7, IgG hari ke-7 dan rasio IgM/IgG perawatan hari ke-7 pada subyek penelitian

Variabel	Klinis DBD						p*
	DBD Tanpa Syok (n=49)			SSD (n=50)			
	Rerata	(SD)	median	Rerata	(SD)	median	
Titer IgG _{hr0}	7,5	(3,2)	8,5	9,2	(2,45)	9,9	0,002
Titer IgG _{hr7}	11,8	(4,45)	13,1	13,1	(2,73)	13,6	0,1
Titer IgM _{hr7}	6,7	(4,15)	5,3	6,0	(3,72)	5,1	0,5
Rasio IgM/IgG perawatan hari ke-7	1,3	(2,34)	0,4	0,6	(0,95)	0,4	0,2
IEP	4,8	(8,20)	0,00	17,5	(14,36)	5,43	<0,001

* Uji Mann-Whitney

IgG_{hr0} = IgG pada waktu perawatan hari ke-0

IgG_{hr7} = IgG perawatan hari ke-7

IgM_{hr7} = Titer IgM waktu perawatan hari ke-7

IEP = Indeks Efusi Pleura

Data pada tabel 2 menunjukkan bahwa rerata titer IgG perawatan hari ke-0 penderita SSD adalah lebih tinggi secara bermakna dibanding DBD tanpa syok ($p=0,002$). Titer IgG hari ke-7 penderita SSD adalah lebih tinggi dibanding penderita tanpa syok, tetapi secara statistik perbedaan tersebut adalah tidak bermakna ($p=0,1$). Sebaliknya, titer IgM hari ke-7 penderita DBD tanpa syok lebih tinggi dibanding penderita SSD, walaupun demikian perbedaan tersebut adalah tidak bermakna ($p=0,5$).

Rerata rasio IgM/IgG perawatan hari ke-7 penderita DBD tanpa syok lebih tinggi dibanding penderita dengan SSD. Secara statistik perbedaan rasio IgM/IgG perawatan hari ke-7 antara penderita DBD tanpa syok dengan SSD adalah tidak bermakna ($p=0,2$).

Rerata IEP pada penderita SSD adalah lebih tinggi secara bermakna dibanding yang DBD tanpa syok ($<0,001$).

4.3. Hubungan antara titer IgG perawatan hari ke-0, rasio IgM/IgG hari ke-7, Indeks Efusi Pleura dan derajat klinis DBD

Hasil uji korelasi parsial antara titer IgG perawatan hari ke-0, rasio IgM/IgG perawatan hari ke-7, Indeks Efusi Pleura dengan mengontrol faktor umur dan IMT ditampilkan pada tabel 3.

Tabel 3. Koefisien korelasi antara titer IgG perawatan hari ke-0, rasio IgM/IgG perawatan hari ke-7, Indeks Efusi Pleura dan derajat berat DBD dengan mengontrol variabel umur dan IMT. Angka dalam kurung menunjukkan derajat kemaknaan.

Variabel	Titer IgG Hari ke-0	Rasio IgM/IgG	Indeks Efusi Pleura
Titer IgG perawatan hari ke-0	1	-0,6 ($< 0,001$)	+0,2 (0,04)
Rasio IgM/IgG perawatan hari ke-7		1	-0,2 (0,03)
Indeks Efusi Pleura			1

Data pada tabel 3 menunjukkan bahwa setelah mengontrol faktor umur dan IMT didapatkan korelasi yang bermakna antara IgG perawatan hari ke-0 dengan IEP ($p=0,04$), dimana koefisien korelasi antara IgG perawatan hari ke-0 dengan IEP adalah + 0,2 (korelasi derajat rendah). Pada korelasi antara rasio

IgM/IgG perawatan hari ke-7 dengan IEP menunjukkan adanya korelasi bermakna ($p=0,03$) dengan nilai koefisien korelasi $-0,2$. Hal ini menunjukkan bahwa apabila rasio IgM/IgG perawatan hari ke-7 naik maka IEP akan turun. Korelasi yang bermakna juga didapatkan pada hubungan antara titer IgG perawatan hari ke-0 dengan rasio IgM/IgG perawatan hari ke-7 dengan nilai koefisien korelasi $-0,6$ (korelasi derajat baik). Hal ini menunjukkan apabila titer IgG pada perawatan hari ke-0 meningkat maka rasio IgM/IgG perawatan hari ke-7 akan menurun.

Hubungan antara titer IgG perawatan hari ke-0 dan rasio IgM/IgG perawatan hari ke-7 dengan IEP ditampilkan pada tabel 4.

Tabel 4. Hasil uji regresi ganda antara IEP dengan titer IgG perawatan hari ke-0 dan rasio IgM/IgG perawatan hari ke-7 dengan mempertimbangkan faktor IMT dan umur.

Variabel	β	SE	t	p
Titer IgG waktu hari ke-0	0,5	0,57	0,824	0,4
Rasio IgM/IgG perawatan hari ke-7	-1,0	0,90	-1,131	0,3
IMT	0,03	0,41	0,06	0,9
Umur	-1,3	0,44	-2,82	0,006
Konstan	7,8	5,55	1,397	0,2
$R = 0,4$ $R^2 = 0,1$ Adjusted $R^2 = 0,1$ $p = 0,01$				

Tabel 4 menunjukkan bahwa hubungan antara IEP sebagai variabel tergantung dengan titer IgG perawatan hari ke-0 dan rasio IgM/IgG perawatan hari ke-7 sebagai variabel bebas/prediktor serta IMT dan umur sebagai variabel perancu memberikan nilai koefisien regresi sebesar 0,4 ($p=0,01$). Pada tabel

tampak bahwa faktor umur memiliki hubungan yang bermakna dengan IEP, dimana umur yang lebih muda cenderung mengalami derajat IEP yang lebih tinggi.

Hubungan antara titer IgG perawatan hari ke-0 dan rasio IgM/IgG perawatan hari ke-7 dengan derajat klinis DBD dengan ditampilkan pada tabel 5.

Tabel 5. Hasil uji regresi logistik antara titer IgG perawatan hari ke-0 dan rasio IgM/IgG perawatan hari ke-7 dengan derajat klinis DBD

Variabel	β	S.E.	Wald	Df	Sig.
IgG perawatan hari ke-0	0,3	0,10	5,351	1	0,02
Rasio IgM/IgG perawatan hari ke-7	-0,06	0,2	0,071	1	0,8
IMT	- 1,1	0,4	7,201	1	0,007
Umur	- 0,2	0,08	4,669	1	0,03
Konstan	-1,5	0,9	2,534	1	0,1

Pada tabel 5 tampak bahwa titer IgG pada hari ke-0 memiliki asosiasi yang bermakna dengan derajat klinis DBD dengan koefisien $\beta = 0,3$ ($p=0,02$). Sedangkan hubungan antara rasio IgM/IgG perawatan hari ke-7 dengan derajat klinis DBD adalah tidak bermakna ($p=0,8$). Pada tabel diatas juga tampak bahwa selain titer IgG hari ke-0, status gizi dan umur juga memiliki asosiasi yang bermakna dengan derajat klinis DBD.

BAB V

PEMBAHASAN

Penelitian ini merupakan penelitian analitik observasional dan prospektif yang mengukur titer IgG perawatan hari ke 0 dan rasio IgM / IgG pada perawatan hari ke 7 sebagai respon imun infeksi dengue, dihubungkan dengan indeks efusi pleura dan manifestasi derajat klinis penyakit demam berdarah dengue. Data yang digunakan adalah data primer.

Rerata umur pada subyek penelitian ini adalah 8,13 tahun (SD=3,23) Rerata umur diatas 6 tahun merupakan umur kejadian DBD terbanyak, yang juga didapatkan oleh peneliti-peneliti sebelumnya^(2,13). Pada penelitian ini umur penderita SSD adalah lebih muda dibanding DBD tanpa syok, dimana secara statistik perbedaan tersebut adalah bermakna ($p=0,05$). Hal ini kemungkinan terjadi karena pembuluh darah pada anak, masih dalam pertumbuhan, lebih permiabel dan mudah terjadi kebocoran, sehingga lebih memungkinkan terjadinya syok⁽³²⁾.

Berdasarkan jenis kelamin tampak bahwa penderita laki-laki yang menderita SSD adalah lebih banyak dibanding wanita ($p=0,04$). Di Singapura, Goh (1987) melaporkan jumlah kasus syok pada laki-laki lebih tinggi daripada perempuan, sedangkan Sumarmo (1988) melaporkan tidak ada perbedaan yang bermakna pada kejadian syok pada anak laki-laki dan perempuan⁽²⁾

Indeks Massa Tubuh (IMT) penderita SSD lebih rendah secara bermakna dibanding DBD tanpa syok ($p<0.001$). Secara teoritis, status gizi mempengaruhi derajat klinis DBD. Dalam teori imunologi, pada gizi baik bila terjadi infeksi

dengue terjadi respon imun adekuat, yang ditandai dengan peningkatan titer antibodi. Namun pada infeksi dengue sekunder, peningkatan titer antibodi (IgG) yang bersifat poliklonal atau heterolog, justru menimbulkan reaksi silang sehingga terbentuk kompleks antigen antibodi yang dapat menginisiasi proses imunopatologi infeksi dengue menjadi berat. Tetapi dari penelitian Sugiyanto (1983) di Yogyakarta dan Thysakorn dan Nimmannitya (1993) di Thailand menyebutkan bahwa meskipun ada malnutrisi juga dapat terjadi infeksi dengue yang berat⁽¹³⁾.

Lama panas pada perawatan hari ke 0 di RS (saat timbul panas pertama kali sampai dengan masuk rumah sakit) antara penderita SSD dan DBD tanpa syok tidak berbeda bermakna dan rerata panasnya hari ke 3,2. Panas antara hari ke 2-4 merupakan fase akut, titer antibodi mulai meningkat, terjadi pembentukan kompleks antigen antibodi yang menginisiasi imunopatogenesis DBD sehingga menyebabkan terjadinya gangguan hemostasis dan kebocoran vaskular⁽⁴⁾.

Rasio IgM/IgG antidengue pada pemeriksaan ELISA (*Enzyme-linked Immunosorbent Assay*) digunakan untuk membedakan infeksi primer dan sekunder virus dengue^(6,7,8). Pemeriksaan ini mempunyai nilai prognostik mengingat pada beberapa penelitian sebelumnya, infeksi sekunder selama ini dikaitkan dengan kejadian demam berdarah dengue (DBD) dengan berbagai penyulitnya^(7,8,9). Pemeriksaan pada penelitian ini menggunakan metode MRL ELISA (*product code EL 1500 M*) indirek dengan interpretasi presuntif dengue bila titer IgM $\geq 1,0$ atau IgG $\geq 1,0$; Infeksi primer bila rasio IgM terhadap IgG $\geq 1,0$, dan infeksi sekunder bila rasio IgM terhadap IgG $< 1,0$.

Pemeriksaan IgG pada subyek penelitian dilakukan pada perawatan hari ke-0 (panas hari ke 2-4) dan perawatan hari ke-7 (panas hari ke 8-11). IgM hanya diperiksa pada perawatan hari ke-7 mengingat *positivitas rate* IgM pada panas antara hari ke 8-10 adalah 100 %. Samsi dkk(1992) menemukan positivitas rate IgM hanya 20 % pada fase akut dengan rerata panas hari ke 3,8. Faizi (1998) menemukan positivitas rate IgM pada rerata panas hari ke 4,5 adalah 49 %⁽⁹⁾. Pada penelitian Koraka, didapatkan kenaikan titer IgM dan IgG yang masih linear dari fase akut ke fase konvalesen dini pada DBD tanpa syok maupun SSD⁽⁴⁾, sehingga rasio IgM/IgG fase konvalesen dini diasumsikan masih sama dengan fase akut.

Dari hasil pemeriksaan serologi ELISA dengan menghitung rasio IgM/IgG perawatan hari ke-7, didapatkan 11 kasus infeksi primer dan 88 kasus infeksi sekunder dengue. Pada kelompok infeksi primer didapatkan 1 kasus (9,1%) dengan SSD, sedangkan pada kelompok infeksi sekunder didapatkan 49 kasus (55,7 %) yang mengalami SSD. Dari penelitian serologis sebelumnya, penderita yang mengalami SSD adalah penderita dengan infeksi sekunder^(1,9,13). Rerata rasio IgM/IgG perawatan hari ke-7 penderita SSD lebih rendah dibanding DBD tanpa syok. Secara statistik perbedaan rasio IgM/IgG perawatan hari ke-7 antara penderita DBD tanpa syok dengan SSD adalah tidak bermakna ($p=0,2$). Pada penelitian Faizi (1998) yang menguji validitas rasio IgM/IgG sebagai pembeda infeksi primer dan sekunder pada penderita DBD menyatakan bahwa pada rasio IgM/IgG 1,09 adalah infeksi sekunder, dan pada titer tersebut perlu kewaspadaan terjadinya syok⁽⁹⁾.

Titer IgG perawatan hari ke-0 (rerata panas hari 3,6) penderita SSD adalah lebih tinggi secara bermakna dibanding DBD tanpa syok ($p=0,002$). Hasil penelitian

ini juga menunjukkan bahwa didapatkan hubungan yang bermakna antara IgG perawatan hari ke-0 dengan IEP, dimana koefisien korelasi antara IgG perawatan hari ke-0 dengan IEP adalah + 0,2 (korelasi derajat rendah). Hal ini berarti bila IgG meningkat maka IEP juga meningkat. Pada korelasi antara rasio IgM/IgG perawatan hari ke-7 dengan IEP menunjukkan adanya korelasi bermakna ($p=0,03$) dengan nilai koefisien korelasi - 0,2. Hal ini berarti apabila rasio IgM/IgG perawatan hari ke-7 naik maka IEP akan turun.

Sesuai teori *infection enhancing antibody* yang merupakan teori terpopuler saat ini, IgG mempunyai kemampuan untuk mengaktivasi jalur klasik komplemen dan afinitas untuk reseptor Fc makrofag/monosit. Pada keadaan ini, semakin banyak sel fagosit mononuklear yang terinfeksi, maka semakin berat penyakitnya. Sel-sel yang terinfeksi akan mengadakan interaksi dengan sistem humoral dan sistem komplemen dengan akibat dilepaskannya mediator yang mempengaruhi permeabilitas kapiler dan mengaktivasi sistem koagulasi^(1,2,3). Akibat permeabilitas kapiler yang meningkat, akan terjadi kebocoran plasma ke dalam ruang ekstrasvaskular yang disertai efusi cairan serosa. Plasma keluar melalui sel-sel endotel kapiler yang mengalami disfungsi. Adapun perubahan patologi berupa kerusakan endotel pada demam berdarah dengue relatif sangat sedikit dibandingkan dengan gejala klinis yang ditimbulkannya^(1,5). Namun teori ini tidak dapat menjelaskan infeksi primer yang ternyata juga didapatkan pada penderita DBD tanpa syok maupun SSD.

Hubungan antara IEP sebagai variabel tergantung dengan titer IgG perawatan hari ke-0 dan rasio IgM/IgG perawatan hari ke-7 sebagai variabel bebas serta IMT

dan umur sebagai variabel perancu memberikan nilai koefisien regresi sebesar 0,4 ($p=0,01$). Tampak bahwa faktor umur memiliki hubungan yang bermakna dengan IEP, dimana umur yang lebih muda cenderung mengalami derajat IEP yang lebih tinggi.

Hubungan antara titer IgG perawatan hari ke-0 dan rasio IgM/IgG perawatan hari ke-7 dengan derajat klinis DBD menunjukkan bahwa titer IgG perawatan hari ke-0 memiliki pengaruh yang bermakna dengan derajat klinis DBD dengan koefisien $\beta = 0,3$ ($p=0,02$). Status gizi dan umur memiliki asosiasi yang bermakna dengan derajat klinis DBD.

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1. Kesimpulan

1. Rerata umur penderita SSD ($7,3 \pm 3,22$ tahun) adalah lebih muda dibanding DBD tanpa syok ($8,5 \pm 3,08$ tahun).
2. Berdasarkan jenis kelamin tampak bahwa penderita laki-laki (30,3%) yang menderita SSD adalah lebih banyak dibanding perempuan (20,2%).
3. IMT penderita SSD ($13,6 \pm 3,67$) adalah lebih rendah secara bermakna dibanding yang non SSD ($15,3 \pm 2,61$).
4. Titer IgG pada perawatan hari ke 0 (panas hari ke 2-4, fase akut) penderita demam berdarah dengue tanpa syok adalah 7,5 (SD=3,2), sedangkan penderita sindroma syok dengue adalah 9,2 (SD=2,45). Rasio IgM/IgG perawatan hari ke-7 (panas hari ke 8-11, fase konvalesen dini) penderita DBD tanpa syok adalah 1.3 (SD=2.34) sedangkan penderita sindroma syok dengue adalah 0.6(SD=0.95).
5. Titer IgG perawatan hari ke-0 pada penderita sindroma syok dengue adalah lebih tinggi secara bermakna dibanding penderita demam berdarah dengue tanpa syok.
6. Rasio IgM/IgG perawatan hari ke-7 penderita sindroma syok dengue tidak berbeda bermakna dengan penderita demam berdarah dengue tanpa syok.
7. Terdapat hubungan positif yang bermakna antara titer IgG perawatan hari ke-0 dengan indeks efusi pleura.

8. Terdapat hubungan negatif yang bermakna antara rasio IgM/IgG perawatan hari ke-7 dengan indeks efusi pleura.
9. Tidak terdapat hubungan yang bermakna antara Titer IgG perawatan hari ke-0 dan rasio IgM/IgG perawatan hari ke-7 dengan indeks efusi pleura.
10. Titer IgG perawatan hari ke-0 memiliki hubungan yang lebih bermakna dengan derajat klinis DBD dibanding rasio IgM/IgG perawatan hari ke-7 dengan derajat klinis DBD.
11. Faktor umur memiliki hubungan negatif yang bermakna dengan Indeks Efusi Pleura
12. Faktor umur dan indeks masa tubuh memiliki hubungan yang bermakna dengan derajat klinis demam berdarah dengue.

6.2. Saran

Penelitian ini belum dapat menunjukkan adanya *secondary heterologous infection* virus dengue oleh karena tidak ada pemeriksaan serotipe virus dengue pada saat infeksi primer dan sekunder. Untuk mengetahui *secondary heterologous infection* perlu dilakukan survey pendataan serotipe virus dengue di daerah endemis dan dilakukan pemeriksaan serotipe virus dengue berikutnya apabila penderita dirawat di rumah sakit karena DBD.

Penelitian seperti ini dapat lebih bermanfaat untuk klinisi bila dilakukan penelitian dengan metode yang sama akan tetapi memakai kriteria inklusi penderita yang diduga mengalami infeksi virus dengue, yaitu dengan melaksanakan penelitian di unit rawat jalan pada penderita dengan keluhan utama panas ≥ 2 hari dengan atau

tanpa perdarahan yang diikuti perkembangan klinisnya, sehingga dapat diketahui titer IgG atau rasio IgM/IgG sebagai prediktor terjadinya syok pada DBD.

DAFTAR PUSTAKA

1. Hadinegoro SR. Imunopatogenesis demam berdarah dengue. Dalam : Akib AA, Tublelaka AR. Pendekatan imunologis berbagai penyakit alergi dan infeksi. Bagian IKA FK UI. Jakarta. 2001 : 41 – 57.
2. Hadinegoro SR, Soegijanto S, Wurjadi S. Tatalaksana demam dengue/demam berdarah dengue. DEPKES RI Dirjen Pemberantasan Penyakit Menular dan Penyehatan Lingkungan Pemukiman. Jakarta. 1999.
3. Rahayu FA. Patogenesis demam berdarah dengue : Suatu tinjauan mengenai sel target virus dengue. Medika. Mei 2000.
4. Koraka P, Setiati TE, Suharti C et all. Kinetics of dengue virus – specific serum immunoglobulin classes and subclasses correlate with clinical outcome of infection. Journ of Clin Microbiol. 2001; 39 : 332 – 8.
5. Leangpibul P. Thongcharoen P. Clinical laboratory investigation. In : WHO. Monograph on dengue/dengue hemorrhagic fever. WHO SEARO. New Delhi. 1993 : 62 – 70.
6. Cuzzubbo AJ, Endy TP, Nisalak A. Use of recombinant envelope proteints for serological diagnosis of dengue virus infection in an immunochromatographic assay. Clinical and diagnostic laboratory immunology. Nov. 2001 : 1150 – 5.
7. Vaughn DW, Nisalak A, Kalayanarooj S. Evaluation , of a rapid immunochromatographic test for diagnosis of dengue virus infection. Journ of Clin Microbiol. Jan. 1998 : 234 – 8.
8. Branch SL, Levett PN. Evaluation of four methods for detection of immunoglobulin M antibodies to dengue virus. Clinical and diagnostic laboratory immunology. July 1999 : 555 – 7.
9. Soegiyanto S. Masalah penyakit demam berdarah dengue di Indonesia. Dalam: Firmansyah A, Sastroasmoro S, Prihono P (penyunting).Buku naskah lengkap KONIKA XI . IDAI Pusat Jakarta 1999; 55-63.
10. Bhamarapravati N. Pathology of dengue hemorrhagic fever. In : WHO. Monograph on dengue/dengue hemorrhagic fever. WHO SEARO. New Delhi. 1993 : 72 – 8.

11. Sharon Green. Early immune activation in acute illness is related to development of plasma leakage and disease severity. *Journ of Inf dis.* 1999, Vol 179 : 755 – 62.
12. World Health Organization. Dengue haemorrhagic fever. Diagnosis, treatment, prevention and control. 2nd ed. Geneve 1997.
13. Sumarmo PS. Masalah demam berdarah dengue di Indonesia. Dalam : demam berdarah dengue. Sri Rezeki H, Hindra Irawan Satari, Penyunting. Balai Penerbit FKUI 1999: 1 – 12.
14. Kalayanarooj S, Vaughn DW, Nimmannitya S et. al. Early clinical and laboratory indicators of acute dengue illness. *J Infect Dis* 1997; 176: 313 – 21.
15. Tatty ES. Faktor hemostasis dan faktor kebocoran vascular sebagai faktor diskriminan untuk memprediksi syok pada demam berdarah dengue. Disertasi 2004.
16. Halstead SB. Dengue fever/dengue hemorrhagic fever. In : Berhman RE, Kliegman RM, Jenson HB. *Nelson textbook of pediatrics*. Philadelphia. WB Saunders. 2000; 16 : 1005 – 7.
17. Nimmannitya S. Clinical Manifestation of dengue/dengue hemorrhagic fever. In : WHO. *Monograph on dengue/dengue hemorrhagic fever*. WHO SEARO. New Delhi. 1993 : 48 – 54.
18. Vorndam V, Kuno G. Laboratory Diagnosis of Dengue Virus Infections. In : DJ Gubler, Kuno G, eds. *Dengue and Dengue Haemorrhagic Fever*. London, UK : CAB International 1997: 322 – 30.
19. Gubler DJ. Dengue and Dengue Haemorrhagic Fever. *Clin. Microbiol. Rev* 1998: 480 – 96.
20. Russel PK, Nisalak AA. Plaque Reduction Test for Dengue Virus Neutralizing Antibodies. *J Immunol* 1967; 99 : 285 – 90.
21. Clarke DH, Casals J. Techniques for Hemagglutination and Hemagglutination – Inhibition (HI) with Arthropod–Borne Viruses. *Am J Trop Med Hyg* 1987; 7 : 561 – 77.

22. Groen J, Velzing J, Copra C, Balentien E, Deubel V, Vorndam V et al. Diagnostic value of dengue virus spesific IgG and IgM serum antibody detection. *Microbes Infect* 1999; 1: 1-6
23. Innis BL, Nisalak S. An enzyme linked immunosorbent assay to characterized dengue infection where dengue and Japanese encephalitis cicirculated. *Am J Trop Med Hyg.* 1989;40:418-27.
24. Sutaryo. Limfosit Plasma Biru: Arti Diagnostik dan Sifat Immunologik pada Infeksi Dengue. Disertasi Doktor Universitas Gadjah Mada 1991.
25. Pramulyo HS. Peran pencitraan pada demam berdarah dengue. Dalam: Hadinegoro SR, Satari HI (penyunting). Demam berdarah dengue. Naskah lengkap pelatihan bagi pelatih dokter spesialis anak dan dokter spesialis penyakit dalam dalam tatalaksana kasus DBD. Jakarta: Balai Penerbit FK UI 1999; 65-74.
26. Vaughn DW, Green S, Kalayanarooj S, et al. Dengue in the early febrile phase: viremia and antibody responses. *J Infect Dis* 1997; 176:322-30.
27. Knisely BL. Disease of the Pleura. In: Crummy JH, Kuhlman JE eds. *Essential of Radiologic Imaging.* Lipincott-Raven Publishers 1998: 1141 – 48.
28. Jufrie M, Haasnoot K. Thijs LG. Dengue virus infection and dengue hemorrhagic shock. *Crit care and shock.* 2000; 3 (3) : 130 – 47.
29. Novriani H. Respon imun dan derajat kesakitan demam berdarah dengue dan dengue shock syndrome. *Cermin Dunia Kedokteran* 2002; 134 : 46 – 8.
30. Kurane I, Rothman AL, Livingston PG. Immunopathologic mechanism of dengue hemorrhagic fever and dengue shock syndrome. *Arch Virol.* 1994; 9 : 59-64.
31. Kurane I, Ennis FA. Cytokines in dengue virus infections : Role of cytokines in the pathogenesis of dengue haemorrhagic Fever. *J. Virol* 1994; 5: 443 – 48.
32. Gamble J, Bethell D, Day NPJ, et. al. Age related changes in microvascular permeability: A significant factor in The susceptibility of children to shock ? *Clin Sci* 2000; 98: 211 – 16.
33. Madiyono B, Moeslichan S, Sastroasmoro S. Perkiraan besar sampel. Dalam: Sastroasmoro S, Ismael S. *Dasar-dasar matodologi penelitian klinis.* Jakarta. Binarupa Aksara. 1995: 200.