

KORELASI ANTARA KADAR *TRANSFORMING GROWTH FACTOR-BETA 1* DENGAN KADAR IMUNOGLOBULIN E PLASMA PADA DEMAM BERDARAH DENGUE

CORRELATION BETWEEN TRANSFORMING GROWTH FACTOR-BETA 1 AND PLASMA IMMUNOGLOBULIN E IN DENGUE HEMMORAGIC FEVER



Tesis

untuk memenuhi sebagian persyaratan mencapai derajat Sarjana S-2 dan memperoleh keahlian dalam bidang Ilmu Kesehatan Anak

Abdul Hakam

**PROGRAM PASCASARJANA
MAGISTER ILMU BIOMEDIK
DAN
PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS I
ILMU KESEHATAN ANAK
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG
2010**

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa :

- Tesis ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan didalamnya tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan lembaga pendidikan lainnya. Pengetahuan yang diperoleh dari hasil penerbitan maupun yang belum / tidak diterbitkan, sumbernya dijelaskan di dalam tulisan dan daftar pustaka.
- Hasil penelitian ini selanjutnya menjadi milik Bagian Ilmu Kesehatan Anak Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro / RSUP. Dr. Kariadi Semarang dan karenanya untuk kepentingan publikasi keluar harus seizin Ketua Bagian tersebut di atas

Semarang, April 2010

Abdul Hakam

RIWAYAT HIDUP

Data Pribadi

- Nama : Abdul Hakam
- Jenis Kelamin : Laki-laki
- Tempat dan Tanggal Lahir : Kudus, 3 Desember 1967
- Agama : Islam
- Status : Menikah
- Alamat : Jln Sunan Kudus 218 A Kudus

Riwayat Pendidikan

- SDN Jember 1 Kudus : Lulus Tahun 1984
- SMP Negeri 1 Kudus : Lulus tahun 1987
- SMA Negeri 1 Kudus : Lulus tahun 1990
- FK UNS Surakarta : Lulus tahun 1996
- PPDS-I Ilmu Kesehatan Anak Fakultas UNDIP : Januari 2005 - sekarang
- Magister Ilmu Biomedik UNDIP : Januari 2005 – sekarang

Riwayat Pekerjaan

- 1996 – 1999 Dokter UGD dan Klinik 24 Jam di beberapa tempat di Tangerang
- Maret 2000 – Maret 2003, Dokter PTT di Puskesmas Gondosari, Kabupaten Kudus, Jawa Tengah.

Riwayat Keluarga

- Nama Orang Tua :
 - Ayah : Abdulloh Tamami
 - Ibu : Hasnah Amirhadi
 - Nama Istri : dr. Renni A Yuniati, SpKK
 - Anak : Farah Chilwa Hidayati
 - M. Auzi'nal Haq
 - M. Arjul Huda
 - M. Ahda Sabila

KATA PENGANTAR

Syukur saya panjatkan ke hadirat Allah Yang Maha Pemurah, karena atas rahmat dan karunia-Nya, Laporan Penelitian yang berjudul “**Korelasi Kadar TGF- β 1 dan Kadar Immunoglobulin E Plasma Pada Penderita Demam Berdarah Dengue**“ dapat saya selesaikan, guna memenuhi sebagian persyaratan dalam mencapai derajat S-2 dan memperoleh keahlian dalam bidang Ilmu Kesehatan Anak (IKA) Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro (FK UNDIP).

Saya menyadari bahwa tulisan ini masih jauh dari sempurna karena keterbatasan yang saya miliki. Namun karena dorongan keluarga, bimbingan guru-guru kami dan teman-teman maka tulisan ini dapat terwujud.

Banyak sekali pihak yang telah berkenan membantu saya dalam menyelesaikan penulisan ini, jadi kiranya tidaklah berlebihan apabila pada kesempatan ini saya menghaturkan rasa terima kasih dan penghormatan yang setinggi-tingginya kepada:

1. Rektor Universitas Diponegoro Semarang, **Prof. DR. Dr. Susilo Wibowo, MS. Med, Sp.And** dan mantan Rektor **Prof. Ir. Eko Budiardjo, M.Sc** dan beserta jajarannya yang telah memberikan ijin bagi saya untuk menempuh PPDS-1 IKA FK UNDIP Semarang.
2. Direktur Program Pasca Sarjana Universitas Diponegoro, **Prof. Drs. Y. Warella, MPA, Ph.D** yang telah memberikan ijin kepada saya untuk menempuh Program Pasca Sarjana UNDIP Semarang.
3. Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik Program Pascasarjana UNDIP Semarang **DR. dr. Winarto, Sp.MK, Sp.M(K)** dan para pengelola, **DR. dr. Andrew Johan MSi, dr. Neni Susilaningsih Msi** yang telah meluangkan waktu, tenaga dan pikiran untuk memberi pengarahan dan dukungan moril selama pendidikan.

4. Dekan FK UNDIP **dr. Soejoto, PAK, Sp.KK(K)** beserta jajarannya yang telah memberikan kesempatan kepada saya untuk mengikuti PPDS-1 IKA FK UNDIP.
5. Direktur Utama Rumah Sakit Dr. Kariadi Semarang **dr. Hendriani Selina, SpA(K), MARS** dan mantan Direktur Utama **dr. Budi Riyanto, Sp.PD, M.Sc**, beserta jajaran Direksi yang memberikan ijin kepada saya untuk menempuh PPDS-1 IKA di Bagian IKA / SMF Kesehatan Anak di RSUP Dr. Kariadi Semarang.
6. Ketua Bagian Ilmu Kesehatan Anak FK UNDIP / SMF Kesehatan Anak RSUP Dr. Kariadi Semarang, **dr. Dwi Wastoro SpA(K)** dan **dr. Budi Santosa, Sp.A(K)** selaku mantan Ketua Bagian Ilmu Kesehatan Anak RSUP Dr. Kariadi Semarang yang memberikan kesempatan kepada saya untuk mengikuti PPDS-1.
7. **DR. dr. Tatty Ermin Setiati, Sp.A(K), Ph.D** sebagai Pembimbing Utama dalam penelitian ini, secara khusus saya sampaikan ucapan terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya atas segala ketulusan dalam memberikan bimbingan, wawasan, arahan dan meluangkan waktu sehingga saya dapat penyelesaian penelitian ini.
8. Saya sampaikan juga ucapan terima kasih kepada **dr. Noor Wijayahadi, SpFK, M. Kes, PhD** sebagai Pembimbing Kedua dalam penelitian ini atas segala ketulusannya, dalam memberikan bimbingan, motivasi, wawasan, arahan sehingga saya dapat menyelesaikan penelitian ini.
9. **dr. Budi Santosa Sp.A(K)**, selaku dosen wali pembimbing selama menjalani pendidikan di PPDS-1 IKA FK UNDIP, atas bimbingannya kepada saya.
10. Ketua Program Studi PPDS-1 IKA FK UNDIP, **dr. Alifiani Hikmah P, Sp.A(K)** saya sampaikan ucapan terima kasih dan penghargaan setinggi-tingginya atas pengertian dalam memberikan arahan, dorongan dan motivasi terus-menerus dalam menyelesaikan penelitian ini.

11. **Prof. DR. Dr. Tjahyono, Sp.PA(K), FIAC, Prof. Dr. Lisyani Suromo Sp.PK(K), DR. dr. Tatty Ermin Setiati, Sp.A(K), PhD, dr. Noor Wijayahadi, M.Kes, PhD, dr. Niken Puruhita, MMed.Sc,Sp.GK**, saya ucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya atas kesediaannya sebagai tim penguji Proposal serta segala bimbingannya untuk perbaikan dan penyelesaian Tesis ini.
12. Para guru besar dan guru-guru saya, staf pengajar di Bagian IKA Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro / RS. Dr. Kariadi Semarang: Prof. dr. Moeljono S. Trastotenojo, Sp.A(K), Prof. DR. dr. Ag. Soemantri, Sp.A(K), Ssi (Stat), Prof. DR. dr. I. Sudigbia, Sp.A(K), Prof. DR. dr. Lydia Kristanti K, Sp.A(K), Prof. DR. dr. Harsoyo N, Sp.A(K), DTM&H, Prof. dr. M. Sidhartani Zain, MSc, SpA(K), dr. R. Rochmanadji Widajat, Sp.A(K), MARS, DR.dr Tjipta Bahtera, SpA, dr. Moedrik Tamam, Sp.A(K), dr. H.M. Sholeh Kosim, Sp.A(K), dr. Rudy Susanto, Sp.A(K), dr. I. Hartantyo, Sp.A(K), dr. Herawati Juslam, Sp.A(K), dr. JC Susanto, Sp.A(K), dr. Hendriani Selina, Sp.A(K),MARS, dr. Agus Priyatno, Sp.A(K), dr. Asri Purwanti, Sp.A(K), MPd, dr. Bambang Sudarmanto, Sp.A(K), dr. MMDEAH Hapsari, Sp.A(K), DR.dr. Mexitalia Setiawati, Sp.A(K), dr. M. Heru Muryawan, Sp.A, dr. Gatot Irawan Sarosa, Sp.A, dr. Anindita S, Sp.A, dr. Wistiani, Sp.A, dr. M. Supriatna, SpA, dr. Fitri Hartanto Sp.A, dr. Omega Mellyana, SpA, dr. Ninung Rose Diana, SpA,MSi Med, dr. Yetty Moevita N, SpA, dr. Nahwa Arkhaesi, SpA, MSi Med yang telah berperan besar dalam proses pendidikan saya.
13. **dr. Hardian**, yang telah dengan tulus hati membantu saya dalam pengolahan data, membimbing dan memberi arahan dalam pembuatan proposal dan penyusunan laporan penelitian ini.
14. Seluruh teman sejawat peserta PPDS-I, khususnya kepada anggota Tim DHF 2005-2006, dr. Haryson Tondy Winoto, dr. Zuhrawardi, Sp.A, MSi Med, dr. Yusrina Istanti, Sp.A, Msi Med, dr. Ni Putu Aniek Mahayani, dr. Liku

Satriani, Sp.A, MSi Med dan dr. Novita Wijayanti, Sp.A, MSi Med terima kasih atas kekompakannya selama ini.

15. Rekan-rekan dari Lab. Bioteknologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, Sdr. Taufik dan Sdri. Wiwik Lestari dan dari Lab. Patologi Klinik RSUP Dr. Kariadi Semarang, Sdr. Agus Kismono dan Sdr. Supriyanto, serta rekan-rekan perawat RSUP Dr. Kariadi Semarang.
16. Orang tuaku tercinta dan adik-adikku tersayang atas bantuan, perhatian, dukungan, nasehat dan doa tulus sejak saya memulai pendidikan hingga sekarang.
17. Mertuaku tercinta yang dengan penuh kasih sayang dan perhatian memberikan perhatian dan dorongan semangat dalam menempuh pendidikan.
18. Istri terkasih **dr. Renni A Yuniati, SpKK** dan anak-anakku tersayang terima kasih karena senantiasa menjadi sumber kebahagiaan dan kekuatan tak terkira pada saya.
19. Kepada semua pasien dan keluarganya yang turut berpartisipasi secara ikhlas dalam penelitian ini maupun yang selama ini banyak memberi pelajaran yang saya butuhkan untuk menjadi seorang dokter yang baik, saya sampaikan terima kasih serta penghargaan setinggi-tingginya

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 senantiasa melimpahkan berkat dan karunia-NYA kepada kita sekalian, Amin.

Semarang, April 2010

Abdul Hakam

DAFTAR ISI

Halaman Judul	i
Lembaran Pengesahan	ii
Pernyataan	ii
Riwayat Hidup	iii
Kata Pengantar	v
Daftar Isi	ix
Daftar Gambar dan Daftar Tabel.....	xii
Daftar Singkatan.....	xiii
Daftar Lampiran	xiv
Abstrak	xv
Bab 1. Pendahuluan	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Perumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4. Manfaat Penelitian	4
1.5. Orisinalitas Penelitian.....	5
Bab 2. Tinjauan Pustaka.....	6
2.1.Patogenesis Infeksi Virus Demam Berdarah.....	6
2.2. <i>Transforming Growth Factor</i> -Beta 1.....	8
2.3. Imunoglobulin E.....	12
2.4. Ig E pada Virus Dengue.....	14
2.5. Hubungan antara TGF- β 1 dan Ig E pada DBD.....	15

Bab.3. Kerangka Teori, Kerangka Konsep dan Hipotesis.....	17
3.1. Kerangka Teori.....	17
3.2. Kerangka Konsep.....	18
3.3. Hipotesis	18
 Bab.4. Metode Penelitian.....	 19
4.1. Ruang Lingkup Penelitian	19
4.2. Tempat dan Waktu Penelitian.....	19
4.3. Jenis Penelitian.....	19
4.4. Populasi dan Sampel Penelitian.....	19
4.5. Besar Sampel Penelitian.....	20
4.6. Variabel Penelitian.....	21
4.7. Definisi Operasional.....	22
4.8. Bahan dan Cara Kerja Penelitian.....	22
4.9. Analisis Data.....	24
4.10. Alur Kerja Penelitian.....	25
4.11. Etika Penelitian.....	26
 Bab.5. Hasil Penelitian.....	 27
5.1. Karakteristik Subyek Penelitian.....	27
5.2. Kadar TGF- β 1.....	28
5.3. Kadar Immunoglobulin E.....	29
5.4. Korelasi Antara TGF- β 1 dengan Ig E.....	30
 Bab.6. Pembahasan.....	 31
6.1. Kadar TGF- β 1.....	32
6.2. Kadar Ig E.....	33
6.3. Korelasi Kadar TGF- β 1 Plasma dengan Kadar Ig E Plasma.....	33

Bab.7. Simpulan dan Saran.....	35
Daftar Pustaka	36

DAFTAR GAMBAR

		Halaman
Gambar 1	Kaskade Sitokin pada DBD.....	10
Gambar 2	Regulasi Immunoglobulin E.....	13
Gambar 3	Hubungan antara kadar TGF- β 1 dan IgE pada pemeriksaan hari ke-0 dan ke-2.....	30

DAFTAR TABEL

		Halaman
Tabel 1	Matrik penelitian -penelitian sebelumnya.....	5
Tabel 2	Karakteristik Subyek Penelitian.....	27
Tabel 3	Jenis Infeksi Dengue.....	28
Tabel 4	Obat-obat yang sudah diminum.....	28
Tabel 5	Perbedaan kadar TGF- β 1 serum subyek penelitian pada hari ke-0 dan ke-2.....	29
Tabel 6	Perbedaan kadar Ig E serum subyek penelitian pada hari ke-0 dan ke-2.....	29

DAFTAR SINGKATAN

DBD	: Demam berdarah dengue
DD	: Demam dengue
SSD	: Sindroma syok dengue
TGF- β 1	: <i>Transforming growth factor beta 1</i>
Ig E	: <i>Imunoglobulin E</i>
TNF	: <i>Tumor necosis factor</i>
CTL	: <i>Cytotoxic T lymphocyte</i>
VCAM	: <i>Vasculer cell adhesion molecule</i>
RANTES	: <i>Regulated and activation T cell excretion and secretion</i>
IFN	: <i>Interferon</i>
IL	: <i>Interleukin</i>
NK	: <i>Natural killer</i>
ADCC	: <i>Antibody dependent cytotoxic cell</i>
C	: <i>Complement</i>
Sel NK	: <i>Sel Natural Killer</i>
NO	: <i>Nitric oxide</i>
ADE	: <i>antibody dependent enchancement</i>

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Sampel Penelitian
Lampiran 2	<i>Ethical Clearance</i> (Penelitian Payung)
Lampiran 3	Prosedur Pemeriksaan Kadar TGF- β 1 Plasma
Lampiran 4	Prosedur Pemeriksaan Kadar Ig E Serum
Lampiran 5	Lembar <i>Informed Consent</i> Penelitian dan Status Penderita DBD
Lampiran 6	<i>Case Report Form</i>
Lampiran 7	Hasil-Hasil Pengolahan Data dengan SPSS 15.0

ABSTRACT

Background. The main pathophysiology of DHF is increased capillary permeability, and hemostasis. Immune responses during dengue virus infection involving various cytokines. Transforming growth factor beta 1 is a cytokine that suggested taking apart in pathogenesis of DHF. Levels of immunoglobulin E increase in DHF.

Purpose. To determine the correlation between TGF- β 1 and Immunoglobulin E in DHF day- 0 and day- 2

Research Methods. This was an observational prospective studies. The sample were patients aged 3-14 years by the 1999 WHO criteria for DHF hospitalized in pediatric wards or in the PICU RSUP Dr. Kariadi Semarang period July 2005 - July 2006. The correlation test used to determine the correlation between TGF- β 1 levels and Ig E levels on day-0 and day-2

Results. Sixty two samples of 84 DHF patients could be analyzed. Mostly females, with means of age were 7.35 ± 2.47 . Mostly secondary infection, means of TGF- β 1 levels on day-2 (49364.72) were higher than day-0 (45062.92). Means IgE levels on days-0 (686.18) were higher than day-2 (452.087). Correlation test between TGF- β 1 levels with IgE levels on day 0 was ($r=0.12;p=0.30$) and day 2 ($r=0.04;p=0.769$).

Conclusion. There is no correlation between TGF- β 1 levels and IgE levels on day-0 and day-2.

Keywords. DHF, TGF- β 1, Ig E.

ABSTRAK

Latar Belakang. Patofisiologi DBD adalah peningkatan permeabilitas kapiler dan hemostasis. Respons imun selama infeksi virus dengue melibatkan berbagai sitokin. *Transforming growth factor beta 1* adalah sitokin yang diduga berperan pada patogenesis DBD. Imunoglobulin E plasma meningkat pada DBD.

Tujuan. Menilai korelasi antara kadar TGF- β 1 plasma dengan Imunoglobulin E plasma pada DBD hari perawatan ke-0 dan ke-2.

Metode Penelitian. Penelitian observasional prospektif. Sampel penelitian penderita umur 3-14 tahun dengan DBD kriteria WHO 1999 yang dirawat di bangsal penyakit anak atau di *PICU* RSUP Dr. Kariadi Semarang periode Juli 2005 – Juli 2006. Pemeriksaan kadar TGF- β 1 plasma dan Ig E plasma dilakukan hari pengamatan ke-0 dan ke-2. Data dianalisa dengan uji korelasi.

Hasil Penelitian. Ada 62 sampel dari 84 penderita DBD yang memenuhi kriteria penelitian dan dapat dianalisa. Sebagian besar berjenis perempuan dengan rerata $7,35 \pm 2,47$. Mayoritas infeksi sekunder. Rerata kadar TGF- β 1 hari ke-2 (49364,72) lebih tinggi daripada hari ke-0 (45062,92). Rerata kadar IgE hari ke-0 (686,18) lebih tinggi dibanding hari ke-2 (452,087). Uji korelasi antara TGF- β 1 plasma dengan Ig E plasma hari ke 0 adalah ($r=0,12;p=0,30$) dan hari ke 2 ($r=0,04;p=0,769$).

Kesimpulan. Tidak ada korelasi antara kadar TGF- β 1 plasma dengan kadar Ig E plasma pada pengamatan hari ke-0 dan hari ke-2.

Kata Kunci. DBD, TGF- β 1, Ig E.

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Infeksi virus dengue merupakan salah satu penyakit virus yang masih merupakan masalah kesehatan masyarakat Indonesia. Penderita demam dengue (DD) di seluruh dunia diasumsikan setiap tahun berjumlah 50-100 juta penderita, sementara penderita demam berdarah dengue (DBD) berjumlah 250-500.000.^{1,2,3} DBD telah merupakan penyakit endemik di lebih dari 100 negara di dunia. Sekitar 2,5-3 milyar orang (\pm 2/5 penduduk dunia) secara konstan memiliki risiko untuk terkena infeksi virus dengue, angka kejadian sindrom syok dengue (SSD) 11,2-42,8% dari jumlah demam berdarah dengue (DBD) di berbagai rumah sakit di Indonesia.^{2,3,4} Perawatan penderita Sindrom Syok Dengue (SSD) di *Pediatric Intensive Care Unit (PICU)* RSUP Dr. Kariadi yang berlanjut dengan kematian pada tahun 1996 adalah 12% dan pada tahun 2004 adalah 10,8 %, namun demikian angka ini menunjukkan bahwa masih tingginya kematian perawatan di *PICU*.^{4,5}

Respons imun yang terjadi selama infeksi virus dengue melibatkan berbagai sitokin, *transforming growth factor beta 1* (TGF- β 1) adalah salah satu sitokin yang diduga mempunyai peran pada patogenesis DBD.^{6,7} Penelitian pada 79 anak dengan berbagai manifestasi klinis infeksi virus dengue didapatkan TGF- β 1 dan mRNA TGF- β 1 plasma terdeteksi pada hampir semua penderita infeksi virus dengue (96%) dan tidak ditemukan pada kelompok kontrol sehat. Kadar

terendah TGF β 1 dijumpai pada penderita DD dan kadar tertinggi TGF- β 1 pada DBD derajat IV.⁶ Kadar TGF- β 1 plasma mulai terdeteksi pada awal perjalanan penyakit (sejak hari 1-4 panas) dan secara bertahap meningkat dan mencapai kadar puncak pada hari ke 5-8.⁶ Penelitian di Polinesia pada 52 anak yang terinfeksi virus dengue mengatakan pada fase awal perawatan (hari ke 1-3 demam) ditemukan kadar TGF- β 1 lebih tinggi pada DBD dibanding DD.⁷

Respons imun spesifik pada penderita infeksi virus termasuk infeksi virus dengue pada respons imun humoral, pemeran utama dalam sistem imun spesifik humoral adalah sel B, sel B yang dirangsang oleh benda asing akan berproliferasi, berdiferensiasi dan berkembang menjadi plasma yang memproduksi antibodi dan disebut reaksi antigen antibodi, antibodi yang diproduksi adalah imunoglobulin, salah satunya adalah Ig E.^{10,11}

Penelitian kadar imunoglobulin E (IgE) total pada penderita DBD meningkat pada fase akut khususnya pada fase *effervescence* dimana pada penderita dalam keadaan dengan manifestasi klinis yang berat.⁸ Penelitian oleh Miguez-Burbano dkk tahun 1999 menunjukkan bahwa kadar Ig E total pada pasien-pasien dengan riwayat infeksi virus dengue meningkat dibandingkan dengan mereka yang tidak mempunyai riwayat infeksi virus dengue.⁹ Pada infeksi virus dengue terjadi peningkatan yang signifikan kadar Ig E total yang terbukti juga bahwa peningkatan tersebut sesuai dengan tingkat derajat infeksi virus demam berdarah dengue.⁹

Penelitian diluar infeksi virus dengue menemukan produksi kadar Ig E dipengaruhi beberapa hal salah satunya adalah dikendalikan oleh sitokin regulator,

sitokin regulator yang diduga berpengaruh pada infeksi virus dengue adalah TGF- β 1.¹² Penelitian di luar dengue menunjukkan produksi IgE ditekan oleh TGF- β secara tidak langsung melalui tekanan produksi terhadap IL-4 oleh TGF- β . Pada penelitian yang lain kadar IgE dapat digunakan sebagai petanda prognostik tambahan dalam perkembangan dari komplikasi yang berat dalam infeksi virus dengue.^{12,13}

Apakah ada korelasi antara produksi IgE total dengan TGF- β 1 plasma pada penderita demam berdarah dengue (DBD) belum pernah dibuktikan. Penelitian tentang korelasi antara TGF β -1 yang merupakan salah satu sitokin regulator yang diduga merupakan sitokin yang berperan pada infeksi virus dengue dengan kadar Ig E plasma darah pada penderita DBD merupakan hal yang akan coba kami teliti.

Pemeriksaan kadar TGF- β 1 plasma dan kadar Ig E plasma akan dilakukan pada pengamatan hari ke-0 (hari pertama saat penderita DBD dirawat atau hari saat diagnosis DBD pertama kali ditegakkan berdasarkan kriteria WHO tahun 1999, sesuai demam hari ke-4) dan pengamatan hari ke-2 (hari ketiga perawatan terhitung sejak penderita DBD dirawat atau sejak diagnosis DBD pertama kali ditegakkan, sesuai demam hari ke-6).⁴

Pertimbangan pengamatan hari ke-0 dan ke-2 adalah karena rata-rata penderita masuk pada saat demam hari ke-4 yang merupakan masa kritis saat terjadinya kebocoran vaskuler dan mulai terjadinya peningkatan kadar TGF- β 1 dan terjadi peningkatan Ig E pada fase akut.^{8,14} Pertimbangan lain karena kebocoran vaskuler pada DBD berlangsung sangat singkat yaitu dalam 24-48 jam

saja. Umur antara 3-14 tahun dipilih karena penelitian ini terbatas pada kasus DBD anak-anak, dan umur 3 tahun dipilih karena alasan teknis pengambilan sampel darah pada anak umur 3 tahun keatas akan lebih mudah dibanding anak yang lebih kecil.

1.2. Perumusan Masalah

Apakah terdapat korelasi antara kadar TGF- β 1 plasma dengan kadar Immunoglobulin E plasma pada penderita Demam Berdarah Dengue (DBD)?

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Membuktikan adanya korelasi antara kadar TGF β 1 plasma dengan kadar Ig E plasma pada penderita DBD

1.3.2. Tujuan Khusus

- a. Mendiskripsikan kadar TGF β 1 plasma dan kadar Ig E plasma penderita DBD pada hari pengamatan ke 0 dan 2
- b. Menganalisis korelasi kadar TGF β 1 plasma dengan kadar Ig E plasma penderita DBD pada hari pengamatan ke 0 dan 2

1.4. Manfaat Penelitian

1.4.1 Iptek

Dapat memberikan sumbangan pengetahuan tentang imunopatogenesis pada DBD

1.4.2 Pelayanan

Meningkatkan pelayanan pengelolaan DBD dan menurunkan angka kematian penderita DBD di masa yang akan datang.

1.5. Originalitas Penelitian

Belum ada penelitian yang membuktikan adanya korelasi antara kadar TGF- β 1 plasma dengan kadar Immunoglobulin E plasma pada penderita DBD.

Tabel 1. Matriks penelitian-penelitian sebelumnya

Peneliti	Judul	Variabel	Hasil
Laur dkk 1998	<i>Plasma levels of TNF α and TGF β1 in children with dengue 2 virus infection in French Polynesia</i>	TNF- α , TGF- β 1	Kadar TNF- α □ pada DBD dan DD tidak berbeda bermakna, kadar TGF- β 1 lebih tinggi pada DBD dibanding DD. ⁷
Agarwal dkk 1999	<i>Profile of TGF β1 in patients with dengue hemorrhagic fever</i>	TGF- β 1, mRNA- TGF- β 1	Kadar TGF- β 1 dan mRNA TGF- β 1 ditemukan pada 96% pasien, paling tinggi pada DBD derajat IV. ⁶
Migues- Burbano Mi dkk, 1999	<i>Total Ig E levels and dengue infection on San Andres Island, Colombia</i>	Ig E total	Peningkatan kadar Ig E selama tahap akut berkorelasi dengan keparahan infeksi dengue. ⁹
Karoka dkk 2003	<i>Elevated levels of total and dengue virus-specific immunoglobulin E in patients with varying disease severe</i>	Ig E total	Kadar Ig E total yang tinggi pada fase akut pada DBD. ¹³

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Patogenesis Infeksi Virus Demam Berdarah Dengue (DBD)

2.1.1. Patogenesis Infeksi Demam Berdarah Dengue

Mekanisme patogenesis DBD maupun SSD sampai saat ini masih merupakan masalah kontroversial, terdapat dua teori yang sering dianut pada DBD dan SSD yaitu:¹⁵

1. Teori virulensi virus, dimana virus dengue mempunyai sifat tertentu yaitu seseorang akan terkena infeksi virus dengue dan menjadi sakit kalau jumlah dan virulensi virus cukup kuat untuk mengalahkan pertahanan tubuh.
2. Teori imunopatologi, dimana manusia yang terinfeksi mengalami suatu proses imunologi yang berakibat kebocoran plasma, perdarahan dan pelbagai manifestasi klinis.

Teori – teori yang lain merupakan campuran dari kedua teori tersebut. Pada teori hipotesis infeksi sekunder menyebutkan bahwa penderita yang mengalami infeksi yang kedua kalinya dengan serotipe virus dengue yang heterolog, mempunyai risiko yang lebih besar untuk menderita DBD atau SSD. Antibodi reinfeksi yang berasal dari serotipe lain tersebut dikenal sebagai *antibody dependent enchancement* (ADE) yaitu proses yang meningkatkan infeksi dan replikasi virus dengue didalam sel mononuklear.^{16,18} Beberapa teori lain mengenai patogenesis DBD adalah teori antigen antibodi, mediator, apoptosis,

peran endotoksin dan endotel. Pada teori endotel, dikemukakan bahwa pada endotel terdapat bermacam reseptor, disamping dapat mengeluarkan bahan vasoaktif kuat dan bila terdapat gangguan pada endotel maka akan menyebabkan terjadinya aktivasi koagulasi.^{16,17}

Patofisiologi yang menentukan derajat penyakit dan yang membedakan antara demam berdarah dengue dengan demam dengue adalah adanya peningkatan permeabilitas kapiler, penurunan volume plasma, terjadinya hipotensi, trombositopeni serta diatesis hemoragik yang terjadi pada demam berdarah dengue.^{18,21} Pada kasus berat, syok terjadi secara akut, nilai hematokrit meningkat bersamaan dengan menghilangnya plasma melalui endotel dinding pembuluh darah. Meningginya hematokrit pada kasus syok menimbulkan dugaan bahwa syok terjadi sebagai akibat kebocoran plasma ke daerah ekstra vaskuler melalui kapiler yang terganggu.^{17,20}

2.1.2. Mekanisme Imun pada DBD

Respons tubuh untuk mengeliminasi antigen merupakan kejadian yang kompleks disebut respons imun. Respons imun non spesifik penderita DBD yang berperan penting antara lain adalah sel fagosit dan komplemen. Respons imun spesifik meliputi dua: respons imun humoral dan seluler. Respons imun humoral yang paling berperan adalah Ig G dan Ig M yang bekerjasama dengan respons imun non spesifik membentuk *antibody dependent cell-mediated cytotoxicity* (ADCC).^{17,20,21}

2.2. Transforming Growth Factor - Beta 1 (TGF- β 1)

TGF- β 1 merupakan suatu sitokin polipeptida multifungsi yang disekresikan oleh berbagai macam sel dalam tubuh termasuk makrofag, monosit, limfosit dan lain-lain.²² Sitokin merupakan sekelompok protein dan peptida yang digunakan organisme sebagai senyawa pembawa sinyal (mirip dengan hormon atau neurotransmitter) yang memungkinkan sel berkomunikasi satu dengan yang lain.¹¹ TGF- β 1 diproduksi oleh limfosit, makrofag, dan sel-sel dendritik. TGF- β 1 dapat berperan sebagai sitokin proinflamasi maupun sitokin antiinflamasi tergantung pada konsentrasinya.^{6,22,23} Adapun kadar normalnya adalah 27.300 pg/ml.²⁴

TGF- β 1 memiliki berbagai efek terhadap sel target dan jaringan: menghambat proliferasi sel T dan sel B, menjadi antagonis sitokin-sitokin proinflamasi seperti TNF- α dan IFN- γ , memblokir aktivitas CTL (*cytotoxic T lymphocyte*) dan menghambat induksi terhadap reseptor IL-1 dan IL-2 sehingga sel-sel tidak responsif terhadap sitokin-sitokin ini. In vivo, TGF- β 1 menghambat produksi molekul adhesi sel T dan netrofil pada sel-sel endothelial, menghambat aktivasi makrofag dan mengatur ekspresi MHC kelas II pada makrofag.^{6,23}

2.2.1. Peran TGF- β 1 pada Patogenesis DBD

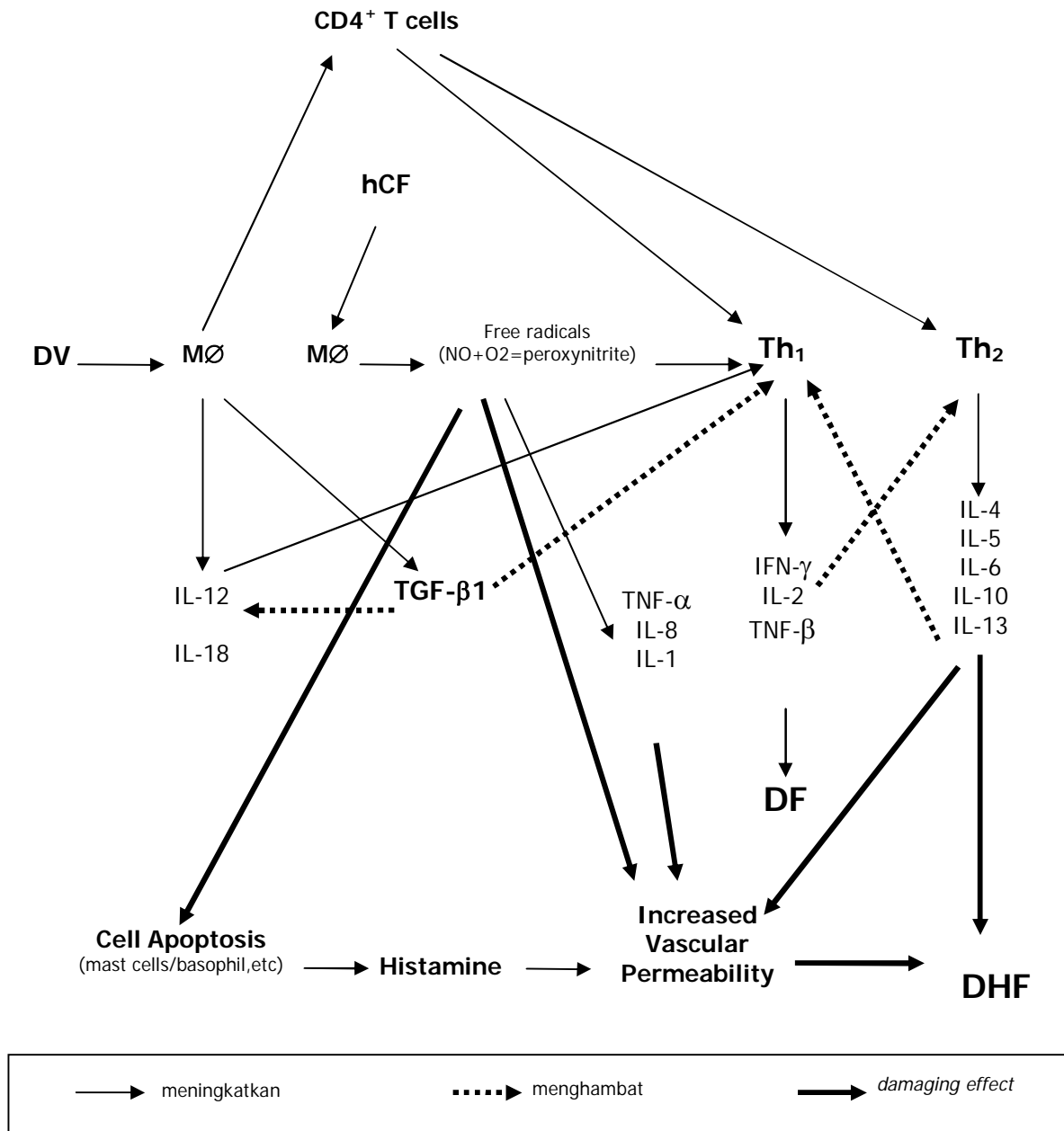
Pada infeksi virus dengue didapatkan gambaran khas yang terjadi pada DBD yaitu terjadinya kebocoran vaskular.¹⁸ Penelitian - penelitian yang telah dilakukan menerangkan patogenesis terjadinya kebocoran plasma pada penderita DBD masih terus diperdebatkan, kebocoran vaskular plasma terutama disebabkan

perubahan permeabilitas dinding pembuluh darah.¹⁰ TGF β -1 adalah salah satu sitokin yang diduga mempunyai peran pada patogenesis DBD. Dalam kaskade sitokin pada DBD yang diajukan Chaturvedi dkk, dikatakan adanya pergeseran respons sel T, dimana respons Th₁ terjadi pada kasus-kasus DBD yang ringan sementara respons Th₂ dianggap bertanggungjawab terhadap kasus-kasus yang DBD berat.¹⁰

Pergeseran respons ini diatur oleh perubahan kadar relatif IFN- γ dan IL-10 dan antara TGF- β 1 dengan IL-12.^{10,16} Hal ini diperkuat oleh kepustakaan lain yang mengatakan bahwa kadar TGF- β 1 (suatu inhibitor sitokin-sitokin tipe Th₁ dan pemicu sitokin-sitokin tipe Th₂) berhubungan dengan keparahan penyakit dan berbanding terbalik dengan kadar IL-12. TGF- β 1 merupakan regulator negatif sel-sel Th₁, dimana ia menghambat aktivasi antigen-spesifik dan sekresi sitokin oleh sel-sel Th₁. Sementara sel-sel Th₂ bukan merupakan subjek supresi dari TGF- β 1. Sekresi sitokin-sitokin sel-sel Th₂ menyebabkan peningkatan permeabilitas vaskuler. Hal ini menjelaskan bahwa respons Th₂ predominan pada DBD atau SSD, sementara respons Th₁ sepertinya mencegah terjadinya kasus infeksi yang berat.^{6,10,23}

TGF β -1 juga mampu mengaktifkan sistem komplemen dan menginduksi ekspresi molekul adhesi seperti ICAM-1 (*intracellular adhesion molecule 1*).^{26,28} Ekspresi ICAM-1 bersama dengan IL-8 dan RANTES (*regulated and activation T cell excretion and secretion*) akan meningkatkan adhesi sel-sel polimorfonuklear dan sel-sel mononuklear yang selanjutnya akan menyebabkan meningkatnya

permeabilitas pembuluh darah dan pelepasan trombomodulin, yang merupakan petanda dari kerusakan sel-sel endotel.^{5,6,15,27}



Gambar 1. Sitokin network pada DBD.

Sumber: Chaturverdi, Elbishbishi, Agarwal et al.¹⁰

Eksresi ICAM-1 pada endotel akibat induksi IL-6 ternyata dihambat oleh TGF- β 1. IL-6 yang dihasilkan oleh makrofag dan sel-sel endotel tersebut kadarnya secara bermakna ditemukan lebih tinggi pada penderita SSD (DBD derajat 3 dan 4) dan berperan dalam meningkatkan permeabilitas sel endotel.^{16,25,27} Selain ICAM-1 molekul adhesi lain yaitu kadar sVCAM-1 (*soluble vascular cell adhesion molecule-1*) plasma, secara bermakna ditemukan lebih tinggi pada DBD terutama pada DBD derajat berat, terutama saat fase akut dibanding pada fase penyembuhan. Diduga bahwa peningkatan kadar sVCAM-1 ini merefleksikan adanya aktivasi sel-sel endotel yang terjadi selama infeksi virus dengue, yang diperkirakan melalui mekanisme yang secara tidak langsung sebagian diperantarai oleh peningkatan produksi TGF- β 1.^{26,27} Dugaan ini diperkuat dengan sebuah penelitian *in vitro* dimana pemberian TGF- β 1 dapat meningkatkan baik ekspresi ICAM-1 maupun sVCAM-1 yang diinduksi oleh lipopolisakarida (LPS), namun bila TGF- β 1 dan LPS diberikan bersamaan, ia akan meningkatkan ekspresi ICAM-1 dan menurunkan ekspresi sVCAM-1.²⁸

Infeksi virus dengue membentuk kompleks antigen-antibodi yang mengaktifasi C3 dan C5 dan melepaskan C3a dan C5a yang merupakan anafilatoksin yang meningkatkan permeabilitas vaskular. Aktivasi komplemen, induksi kemokin dan apoptosis mungkin merupakan sebab utama kebocoran vaskular yang terjadi dalam waktu yang singkat pada DBD dan SSD.²⁹

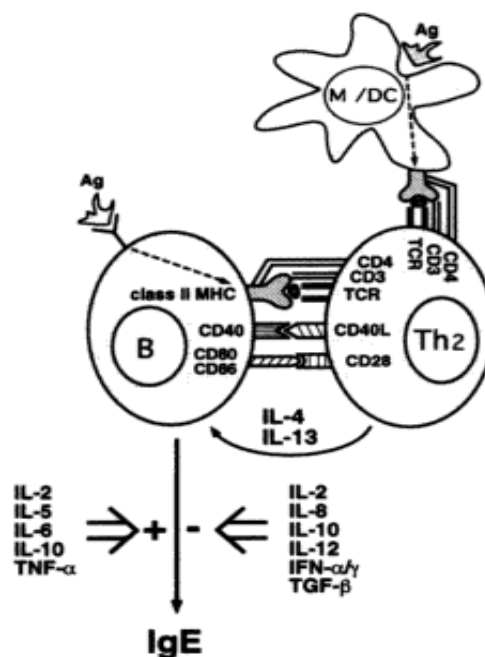
2.3. Immunoglobulin E (Ig E)

Ig E adalah suatu jenis antibodi yang ditemukan pada serum dengan kadar rendah, biasanya ditemukan pada penyakit alergi dan penyakit atopi, disebut juga antibodi reagenik dan merupakan imunoglobulin dengan jumlah paling sedikit pada serum normal (sekitar 0.004%) tapi pada reaksi alergi dapat terjadi peningkatan yang sangat tinggi. Produksi dari Ig E tergantung dari sel Th₂, sel Th₂ memproduksi IL-4 yang menginduksi sel limfosit B untuk pengalihan ke produksi IgE. Kadar IgE total normal kurang dari 75 ng/ml.¹¹

Peningkatan IgE dikenal pada reaksi-reaksi alergi atau infeksi parasit dan diklasifikasikan sebagai respons Th₂, pada individu yang cenderung untuk alergi, paparan terhadap beberapa antigen menyebabkan aktivasi sel Th₂ dan produksi Ig E. peningkatan aktivasi Th₂ dan peningkatan produksi IgE dan respons spesifik IgE terhadap infeksi virus telah dilaporkan secara meningkat tahun-tahun sebelumnya. Interleukin (IL)-4 dan IL-13 yaitu sebagian dari sitokin yang disekresi oleh sel Th₂, akan menstimulasi limfosit B yang spesifik terhadap antigen asing untuk berdiferensiasi menjadi sel plasma yang memproduksi Ig E.
11,43

IL-4 menginduksi Ig M *switching* ke Ig E, konsentrasi Ig E serum pada pasien tergantung pada reaksi alergi dan jumlah dari berbagai alergen pemicu. Individu normal yang tidak mengalami alergi mempunyai konsentrasi Ig E yang meningkat selama masa anak-anak dan mencapai level tertinggi pada usia 15-20 th sampai usia 60 th kemudian menurun.^{11,23,37}

Makrofag atau sel dendrit akan berespons terhadap adanya antigen atau alergen dengan cara menangkap antigen atau alergen tersebut, respons makrofag atau sel dendrit akan terjadi kompleks antibodi yang diekspresikan oleh MHC II yang kemudian dikenali oleh Th₂ yang akan memodulasi Th₂ untuk memproduksi IL-4 dan IL-13 yang secara langsung mempengaruhi sel B limfosit untuk memproduksi Ig E, proses ini dipengaruhi oleh sitokin-sitokin salah satunya



Gambar 2. Regulasi Ig E. Sumber: Wu CY, Wahl SM et al.³⁰

adalah TGF β dimana TGF β mempunyai peran menekan produksi Ig E, dari gambar TGF-β merupakan salah satu yang menghambat proliferasi sel B yang distimulasi IL-4 dan IL-13, walaupun demikian pengaruh TGF-β tergantung pada signal kostimulator sel B yang diperlukan bersama IL-4 untuk menginduksi sintesis IgE.^{30,37,38}

2.4. IgE pada Infeksi Virus Dengue

Koraka dkk menunjukkan bahwa terjadi peningkatan kadar antibodi serum IgE total dan IgE spesifik-virus dengue dalam fase akut dari penyakit dengue, sehingga pengukuran antibodi serum IgE total dan IgE spesifik virus dengue dapat digunakan sebagai pertanda prognostik dalam perkembangan dari komplikasi yang berat dalam infeksi virus dengue.^{13,37} Adanya peningkatan antibodi serum IgE spesifik-virus dengue pada pasien-pasien dengan infeksi virus dengue diduga merupakan peran pada patogenesis dengue, dimana IgE berperan dalam gangguan hemostasis pada demam berdarah dengue dan sindroma syok dengue. Kadar IgE total pada pasien-pasien dengan riwayat infeksi virus dengue juga meningkat dibandingkan dengan mereka yang tidak mempunyai riwayat infeksi virus dengue.³⁷

Penelitian di Kolumbia menunjukkan kadar Ig E total penderita infeksi virus dengue baik primer maupun sekunder terjadi peningkatan secara bermakna kadar IgE total serum penderita dibanding yang belum pernah terpapar virus dengue.⁹ Kadar serum IgE total secara bermakna lebih tinggi pada DBD dan atau SSD dibanding DD atau penderita bukan dengue. Kadar serum IgE total penderita infeksi dengue sekunder tidak berbeda secara bermakna dibanding infeksi primer^{9,16}. Pengamatan pada fase *defervescence* penderita infeksi dengue dari berbagai derajat berat manifestasi klinis menunjukkan bahwa kadar IgE plasma secara bermakna lebih tinggi dibanding kontrol sehat.⁷

2.5. Hubungan TGF- β 1 dan Ig E pada Demam Berdarah Dengue

Penelitian membuktikan bahwa respons imun berpengaruh pada derajat berat manifestasi klinis infeksi virus dengue pada penderita DBD terutama pada *fase defervescence* yang merupakan fase terjadinya kebocoran vaskuler pada DBD menunjukkan bahwa kadar IgE plasma secara bermakna lebih tinggi dibanding kontrol sehat, anak dengan DBD mempunyai IgE yang lebih tinggi dibanding dengan anak sehat.^{7,15}

Kaskade sitokin pada DBD yang diajukan Chaturvedi dkk mengatakan ada pergeseran respons sel T, dimana respons Th₁ terjadi pada kasus-kasus DBD yang ringan sementara respons Th₂ dianggap bertanggungjawab terhadap kasus-kasus yang DBD berat.¹⁰

Infeksi virus dengue menginduksi produksi interleukin 4 (IL-4) yang terlibat dalam proses sintesis IgE pada manusia.^{8,9,13} Hambatan produksi IgE oleh TGF- β terjadi secara tidak langsung melalui tekanan produksi IL-4 oleh TGF- β . IL-4 merupakan sitokin yang dihasilkan oleh Th₂ yang bekerja pada *class switching* dari IgM menjadi IgE.^{30,32} Koraka dkk mengatakan bahwa peningkatan kadar antibodi serum IgE mungkin berhubungan dengan beratnya penyakit virus dengue.¹³ Implikasi dari IgE pada kenaikan permeabilitas vaskuler yang sering terjadi pada infeksi virus dengue, akan meningkatkan sitokin-sitokin pro inflamasi, seperti IL-1 β dan TNF yang dipicu oleh IgE. Kedua sitokin tersebut diproduksi selama infeksi virus dengue.^{10,16}

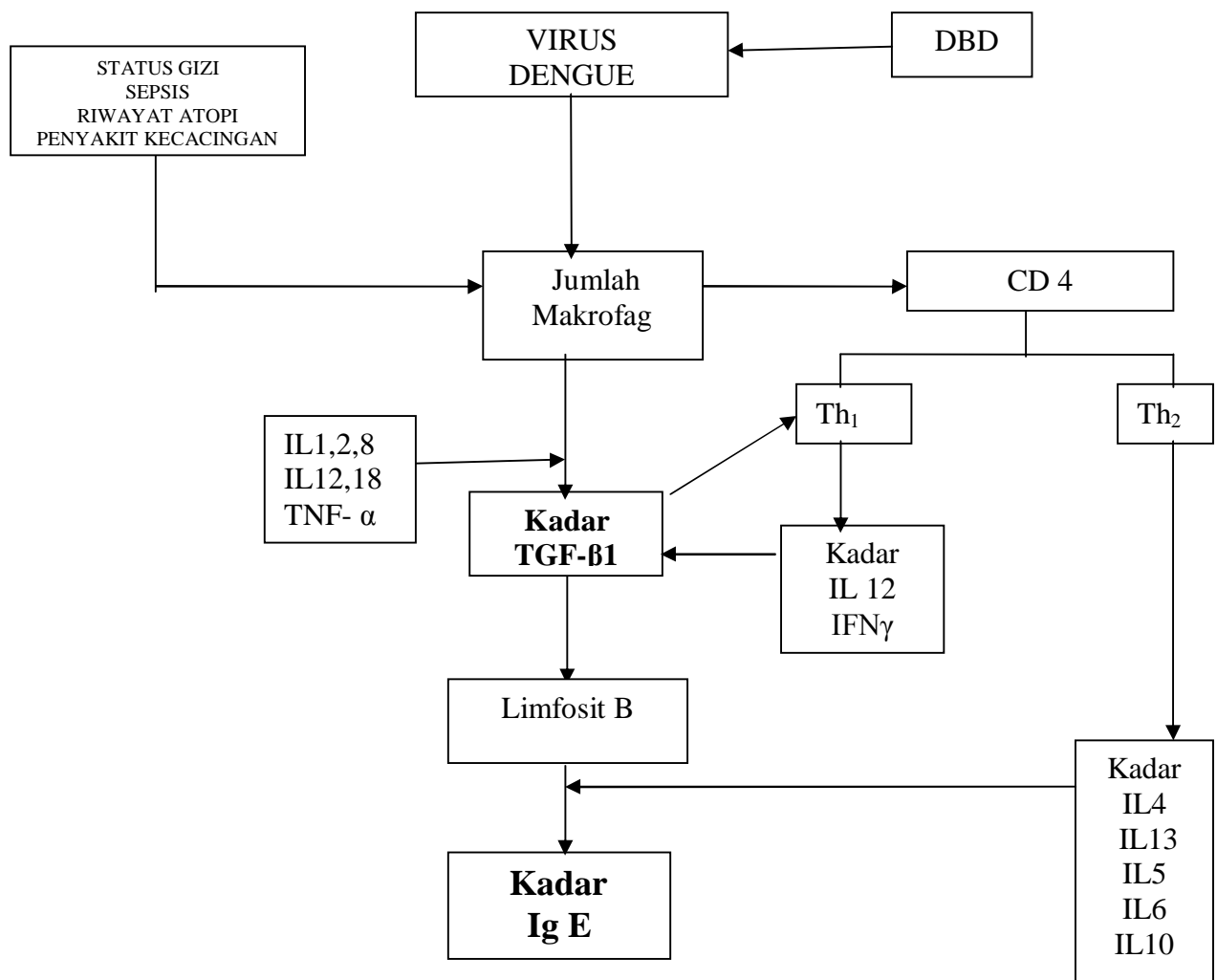
Penelitian di luar dengue menunjukkan bahwa IgE produksinya dapat dihambat oleh TGF- β dosis tinggi karena TGF- β mempunyai peran sebagai

regulator produksi IgE. Beberapa penelitian di luar infeksi dengue menunjukkan dugaan pengaruh negatif TGF- β terhadap produksi IgE. Penelitian lain menunjukkan bahwa disamping TGF- β , pengaruh negatif juga dipunyai oleh sitokin lain seperti IL-10, IFN- α dan IFN- γ .^{31,33,40} Ada beberapa mekanisme yang digunakan TGF- β dalam menekan produksi IgE. Secara *in vitro* TGF- β menghambat dengan kuat proliferasi sel B dan sekresi Ig dari sel B manusia.^{34,40} TGF- β menghambat sel B untuk memproduksi IgE. Penelitian menunjukkan bahwa hambatan proliferasi sel B produsen IgE ini tidak terjadi secara langsung akibat paparan TGF- β , melainkan diduga akibat terjadinya penurunan IL-4.^{32,46}

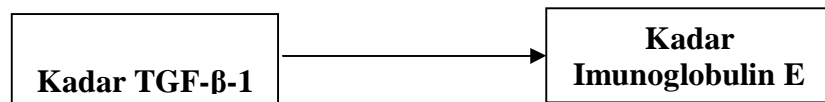
BAB 3

KERANGKA TEORI KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS

3.1. Kerangka Teori



3.2. Kerangka Konsep



3.3 Hipotesis

Terdapat korelasi antara kadar TGF- β1 plasma dengan kadar Ig E plasma pada penderita DBD pada hari pengamatan ke-0 dan ke-2

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1. Ruang Lingkup Penelitian :

Ruang lingkup penelitian ini adalah Bagian Ilmu Kesehatan Anak RSUP Dr.Karyadi / FK UNDIP Semarang khususnya sub bagian penyakit infeksi.

4.2. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di PICU, HND dan Ruang Perawatan IRNA C (Infeksi) RSUP. Dr. Kariadi, Semarang, Jawa Tengah. Pengumpulan data sudah dilakukan pada bulan Juli 2005 – Juli 2006. Pengukuran kadar TGF- β 1 plasma dan Ig E dilakukan di laboratorium CEBIOR FK UNDIP.

4.3. Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian observasional analitik yang bersifat longitudinal prospektif.

4.4. Populasi dan Sampel Penelitian

4.4.1. Populasi Target

Populasi target adalah anak dengan demam berdarah dengue (DBD)

4.4.2 Populasi Terjangkau

Populasi terjangkau adalah anak dengan demam berdarah dengue yang pada periode penelitian dirawat di bangsal IRNA C, bangsal HND/C1L1 dan PICU RSUP Dr. Kariadi.

4.4.3 Sampel Penelitian

Sampel adalah anak dengan demam berdarah dengue (DBD) yang dirawat di bangsal IRNA C, bangsal HND/C1L1 dan PICU RS Dr. Kariadi yang memenuhi kriteria sebagai berikut:

4.4.3.1. Kriteria Inklusi

- a. Umur 3 – 14 tahun.
- b. Diagnosis ditegakkan atas dasar kriteria WHO (tahun 1999)
- c. Orang tua atau wali yang bersedia diikutsertakan dalam penelitian.

4.4.3.2. Kriteria Eksklusi

- a. Status gizi buruk.
- b. Mengalami sepsis
- c. Penderita dengan riwayat atopi dan penyakit kecacangan
- d. Pasien yang tidak mengikuti penelitian sampai selesai.

4.5. Besar Sampel

Sesuai dengan tujuan penelitian besar sampel minimal dihitung dengan menggunakan rumus besar sampel untuk koefisien korelasi. Korelasi antara TGF β 1 dengan IgE belum pernah diteliti sebelumnya, oleh karena itu besar koefisien korelasi antara TGF β 1 dengan IgE plasma ditetapkan sebesar 0,5. Besarnya kesalahan tipe I ditetapkan sebesar 5% ($\alpha=0,05$). Kesalahan tipe II

ditetapkan sebesar 10% ($\beta=0,1$) untuk memperoleh kekuatan penelitian sebesar 90%. Berdasarkan tabel statistik diperoleh nilai $Z\alpha$ untuk $\alpha=0,05$ adalah 1,96, sedangkan $Z\beta$ untuk $\beta=0,2$ adalah 1,282. Perhitungan besar sampel adalah sebagai berikut:

$$n = \left[\frac{Z\alpha + Z\beta}{0,5 \ln \left(\frac{1+r}{1-r} \right)} \right]^2 + 3 = \left[\frac{1,96 + 0,842}{0,5 \ln \left(\frac{1+0,5}{1-0,5} \right)} \right]^2 + 3 = 38$$

Berdasarkan perhitungan tersebut, maka jumlah sampel minimal yang diperlukan adalah 38 orang.

4.6. Variabel Penelitian

4.6.1. Variabel bebas

Kadar TGF $\beta 1$ plasma. Skala rasio

4.6.2. Variabel tergantung:

Kadar Ig E plasma. Skala rasio

4.7. Definisi Operasional

No.	Variabel	Definisi operasional	Skala
1.	Kadar TGF β -1	Kadar TGF β -1 plasma adalah kadar TGF β -1 yang diperiksa dari plasma darah vena penderita DBD yang diambil pada hari ke- 0 dan 2, diperiksa dengan metode ELISA. Satuan : pg/ml	rasio
2.	Kadar Ig E	Kadar Ig E plasma adalah kadar Ig E yang diperiksa dari plasma darah vena penderita DBD yang diambil pada hari ke 0 dan 2, diperiksa dengan metode ELISA Satuan: IU/ml	rasio

4.8. Bahan dan Cara Kerja Penelitian

- a. Data penderita seperti nama, umur, jenis kelamin, riwayat penyakit serta pemeriksaan fisik serta pemeriksaan laboratorium dilakukan saat pasien masuk. Hasil pemeriksaan digunakan untuk menentukan derajat klinis dengue. Pemeriksaan serologi dengan MRL ELISA (*product code EL 1500 M*) indirex untuk deteksi antibody IgG dan IgM. Hasil pemeriksaan serologi dinyatakan positif dengue, bila titer IgM > 1,0 atau IgG > 1,0. Infeksi primer bila rasio IgM terhadap IgG > 1 dan Infeksi sekunder bila rasio IgM terhadap IgG < 1. Data pasien akan dicatat pada data yang disediakan untuk penelitian.

- b. Sampel darah vena diambil pada hari ke 0 dan 2 (saat masuk atau tegak diagnosa) untuk mengukur kadar TGF β 1 dan IgE plasma. Pemeriksaan dilakukan di laboratorium CEBIOR Fakultas Kedokteran UNDIP.
- c. TGF- β 1 diperiksa dengan metode ELISA, dibaca dengan alat *micro plate reader* kemudian didapatkan hasil *optical density* (OD). Nilai OD selanjutnya digunakan untuk menghitung kadar TGF β 1 berdasarkan kurva standar.
- d. Ig E diperiksa dengan metode ELISA, dibaca dengan alat *micro plate reader* kemudian didapatkan hasil OD. Nilai OD selanjutnya digunakan untuk menghitung kadar IgE berdasarkan kurva standar.

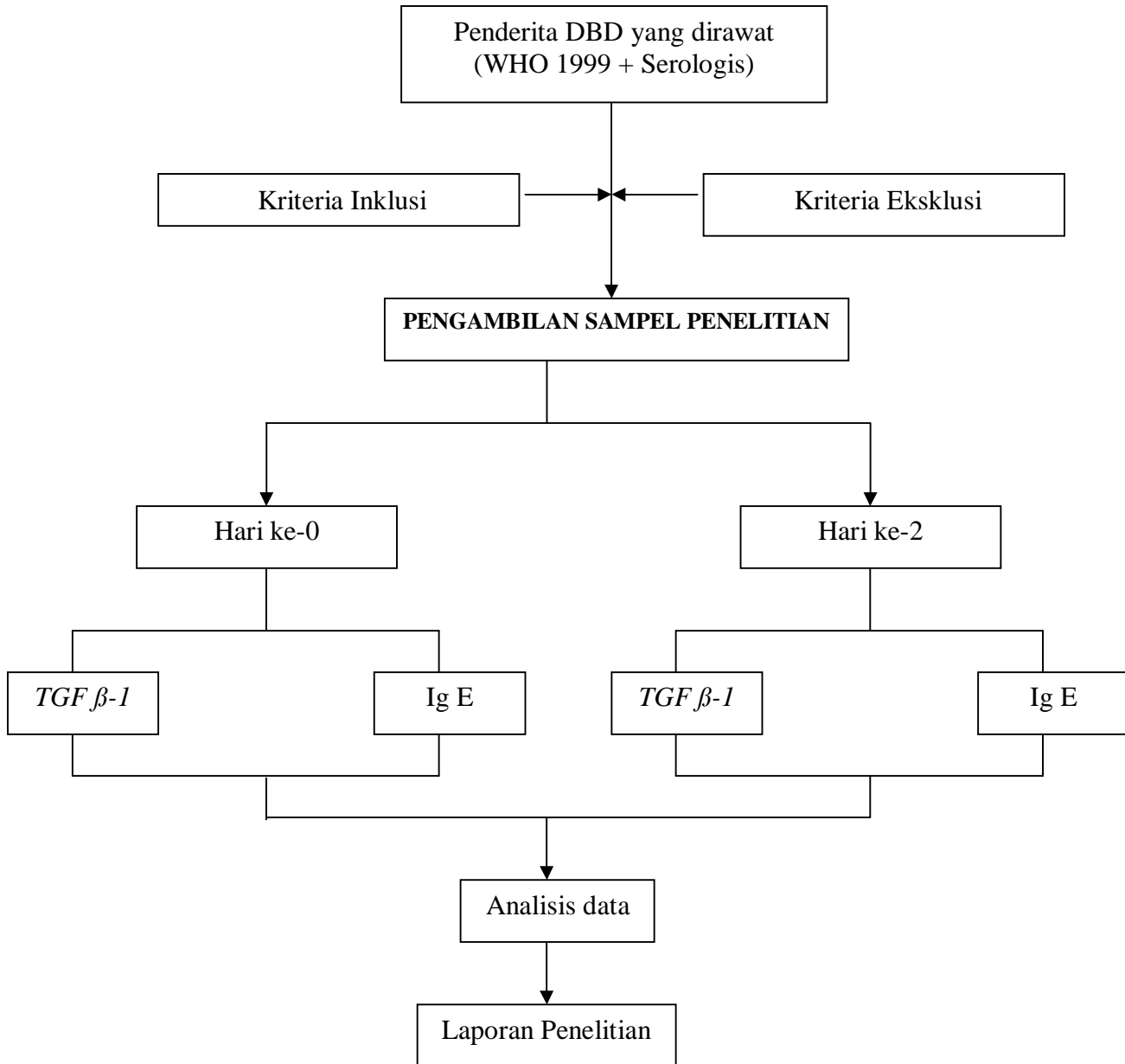
4.9. Analisis Data

Pada data yang terkumpul telah dilakukan pemeriksaan kelengkapan dan keakuratan data. Data selanjutnya diberi kode dan ditabulasi dan dimasukkan kedalam komputer.

Pada analisis univariat data yang berskala kategorial seperti jenis kelamin penderita, derajat klinis dengue dan sebagainya dinyatakan sebagai distribusi frekuensi dan persentase. Data yang berskala rasio seperti umur penderita, kadar TGF- β 1, kadar IgE plasma dan sebagainya dinyatakan sebagai rerata dan simpang baku (SB). Normalitas data TGF- β 1 dan IgE diuji dengan uji Kolmogorov-Smirnov. Hasil analisis merupakan data yang berdistribusi tidak normal.

Pada analisis bivariat oleh karena data berdistribusi tidak normal maka analisis menggunakan uji korelasi Spearman. Korelasi dikatakan bermakna apabila $p < 0,05$.

4.10. Alur Kerja Penelitian



4.11. Etika penelitian

Penelitian ini adalah bagian penelitian payung yang berjudul: "Hubungan disfungsi endotel dengan gangguan hemostasis pada SSD" yang telah mendapatkan persetujuan dari Komite Etik Penelitian Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro/RS. Dr. Kariadi Semarang dengan nomer kode etik 06/EC/FK/RSDK/2001. Penelitian ini dilakukan setelah dikeluarkannya *ethical clearance* yang dikeluarkan oleh Komite Etika Medik Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro dan RSUP. Dr. Kariadi Semarang untuk penelitian diatas, persetujuan untuk diikutsertakan dalam penelitian dimintakan dari orangtua penderita secara tertulis dengan menggunakan *informed consent*.

BAB 5

HASIL PENELITIAN

5.1. Karakteristik Subyek Penelitian

Penelitian ini menggunakan data penderita DBD yang menjadi bagian penelitian Kohort demam berdarah dengue Indonesia Belanda di RSUP dr. Kariadi yang dilaksanakan bulan Juli 2005 sampai dengan Juni 2006. Selama bulan Juli 2005 sampai dengan Juni 2006 didapat sebanyak 84 pasien suspek DBD, dimana 17 pasien kemudian dieksklusi karena mengalami sepsis dan adanya riwayat atopi, 5 pasien tidak terbukti menderita DBD melainkan hanya demam dengue. Hanya 62 sampel dengan hasil pemeriksaan laboratorium TGF β 1 lengkap yang dapat dianalisis. Jumlah tersebut sudah melebihi jumlah sampel minimal yang diperlukan yaitu 38 sampel.

Karakteristik subyek penelitian ditampilkan pada tabel 2.

Tabel . 2. Karakteristik subyek penelitian (n=62)

Karakteristik	Rerata \pm SB	n (%)
Umur	7,35 \pm 2,47	-
Jenis kelamin	-	-
- Laki-laki	-	16 (25,8%)
- Perempuan	-	46 (74,2%)
Berat badan (kg)	23,92 \pm 15,62	-
Tinggi badan (cm)	118,68 \pm 15,44	-

Semua subyek penelitian adalah suku bangsa Jawa, rata-rata berusia 7,35 tahun (3,0–13,5 tahun), sebagian besar subyek penelitian adalah perempuan

(74,2%) dibandingkan laki-laki (25,8%). Seluruh subyek penelitian tergolong status gizi baik, tidak ada penderita DBD dengan gizi buruk.

Jenis infeksi virus dengue ditampilkan pada tabel 3.

Tabel 3. Jenis infeksi virus dengue

Jenis infeksi	n	(%)
Infeksi primer	4	(6,5%)
Infeksi sekunder	58	(93,5%)

Tabel 3 menunjukkan perbandingan penderita infeksi DBD berdasarkan pemeriksaan serologi IgG dan IgM sebagian besar kasus termasuk infeksi sekunder (93,5%).

Sebagian besar (76,6%) sudah pernah mendapat obat turun panas (parasetamol) sebelum masuk dirawat, bahkan 17,4% sudah pernah mendapatkan terapi antibiotik sebelumnya seperti dicantumkan pada tabel 4.

Tabel 4. Obat-obat yang sudah diminum saat masuk dirawat

Antibiotik, n (%)	10 (17,4)
Steroid, n (%)	2 (3,4)
Parasetamol, n (%)	45 (76,8)
Antasida, n (%)	4 (6,8)
H2 Blocker, n (%)	1 (1,7)

5.2. Kadar TGF- β 1 Plasma

Hasil pengukuran produksi TGF- β 1 yang diambil pada hari pengamatan ke-0 dijumpai rerata 45062,9 (simpang baku = 9451,27) pg/ml. Sedangkan

produksi TGF- β 1 yang diambil pada pengamatan hari ke-2 rerata adalah 49364,7 (simpang baku = 39054,20) pg/ml. Delta penurunan TGF- β adalah -3960,00 (-27524,95 - 12552,25). Hasil uji statistik menunjukkan penurunan kadar TGF- β 1 tersebut tersebut adalah tidak bermakna ($p=0,5$).

Tabel 5. Perbedaan kadar TGF- β 1 serum subyek penelitian pada hari ke-0 dan ke-2 (n=62)

Parameter	Hari ke-	
	0	2
TGF- β 1 (pg/ml)		
Rerata	45062,92	49364,72
Simpang Baku	9451,2	39054,20

5.3 Kadar IgE Plasma

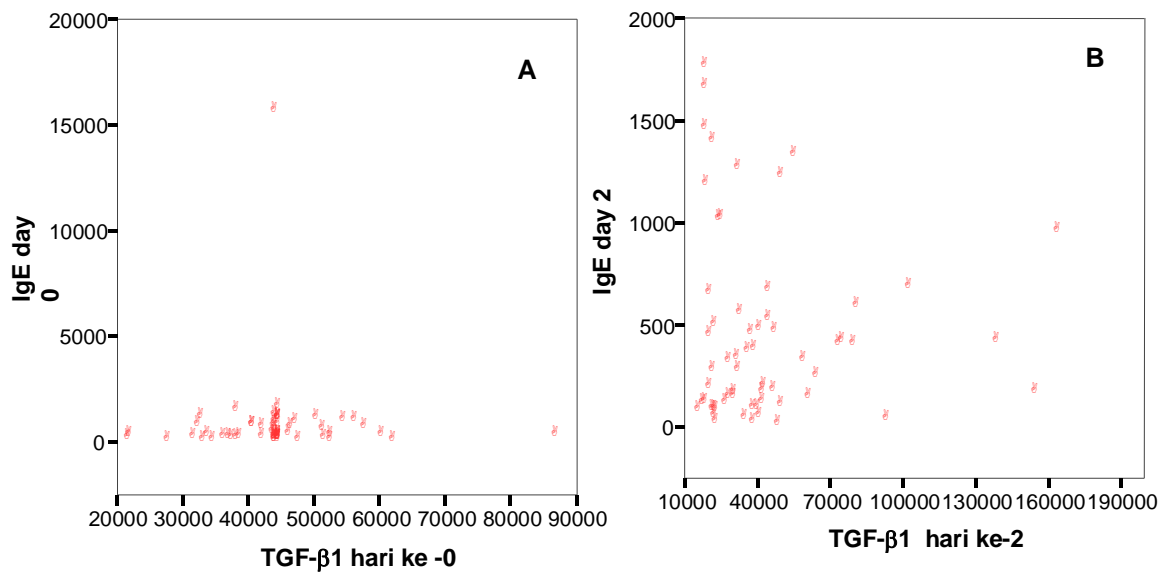
Hasil pengukuran IgE yang diambil pada hari pengamatan ke-0, rerata adalah 686,1 (simpang baku = 1962,66) pg/ml. Sedangkan pengukuran IgE yang diambil pada pengamatan hari ke-2, rerata adalah 452,1 (simpang baku = 454,92) pg/ml ditunjukkan pada tabel 6. Delta peningkatan IgE 0,06 (-103,30-74,49). Hasil uji statistik menunjukkan peningkatan kadar IgE tersebut tersebut adalah tidak bermakna ($p=0,5$).

Tabel 6. Perbedaan kadar Ig E serum subyek penelitian pada hari ke-0 dan ke-2 (n=62)

Parameter	Hari ke-	
	0	2
Ig E (UI/ml)		
Rerata	686,18	452,087
Simpang Baku	1962,66	454,92

5.4. Korelasi antara Kadar TGF- β 1 Plasma dengan Kadar IgE Plasma

Korelasi kadar TGF β 1 dengan IgE plasma pada hari ke-0 dan hari ke-2 ditampilkan pada gambar 5.



Gambar 3. Hubungan antara kadar TGF- β 1 dan IgE pada pengamatan hari ke-0 Dan pengamatan hari ke-2

Hasil uji korelasi antara kadar TGF- β 1 dengan Plasma EDTA IgE pada hari perawatan ke-0 menunjukkan tidak ada korelasi antara kadar TGF β 1 plasma dengan kadar IgE plasma (koefisiensi korelasi = 0,12; p = 0,3).

Hasil uji korelasi kadar TGF- β 1 dengan Plasma EDTA IgE pada hari perawatan ke-2 menunjukkan tidak ada korelasi antara kadar TGF β 1 dengan kadar IgE plasma (koefisiensi korelasi = 0,04; p = 0,8).

BAB 6

PEMBAHASAN

Respons imun yang terjadi selama infeksi virus dengue melibatkan berbagai sitokin *transforming growth factor beta 1* (TGF- β 1) adalah salah satu sitokin yang diduga mempunyai peran pada patogenesis DBD.^{6,10}

Penelitian yang pernah dilakukan tentang peran TGF- β 1 pada patogenesis DBD, didapatkan bahwa kadar TGF- β 1 yang meningkat sesuai durasi sakit dan tingkat keparahan penderita infeksi dengue serta diduga adanya peran TGF- β 1 terhadap mekanisme kebocoran vaskular pada DBD.¹⁰

Penelitian di Polinesia terhadap 52 anak yang positif terinfeksi dengue, pada fase awal perawatan (hari ke 1-3 demam) didapatkan kadar TGF- β 1 pada plasma secara bermakna lebih tinggi pada kelompok DBD daripada kelompok demam dengue (DD).⁷

Penelitian pada 79 anak dengan berbagai derajat manifestasi klinis infeksi dengue, didapatkan bahwa TGF- β 1 plasma dan mRNA TGF- β 1 terdeteksi pada hampir semua penderita infeksi dengue (96%) dan kadar TGF- β 1 plasma ditemukan paling tinggi pada DBD derajat IV. Kadar TGF- β 1 plasma mulai terdeteksi pada awal perjalanan penyakit, secara bertahap meningkat dan mencapai kadar puncak setelah hari ke-9.⁸

Infeksi primer dan sekunder ditentukan dengan pemeriksaan serologi dengan menghitung rasio IgM / IgG, infeksi primer bila rasio IgM terhadap IgG > 1,0 dan infeksi sekunder bila rasio IgM terhadap IgG < 1,0. Pada pasien infeksi

virus dengue ditandai dengan timbulnya antibodi IgM terhadap dengue 3-5 hari setelah timbul demam, meningkat dalam satu sampai tiga minggu serta dapat bertahan dua sampai 3 bulan.^{15,24} Antibodi IgG terhadap virus dengue diproduksi sekitar dua minggu sesudah infeksi dan meningkat lalu menurun secara lambat dalam waktu yang lama dan biasanya bertahan seumur hidup.⁵ Pada penelitian ini didapatkan sebagian besar kasus termasuk infeksi sekunder (93,5%) dibanding infeksi primer yang hanya 6,5%. Penelitian ini sesuai dengan penelitian Koraka yang didapatkan sebagian besar infeksi sekunder.²⁹ Secara teori *infection enhancing antibody*, Ig G mempunyai kemampuan untuk mengaktivasi jalur klasik, sel yang terinfeksi akan mengadakan interaksi dengan sistem humoral dan mengaktifkan komplemen yang kemudian memacu inflamasi sehingga terjadi peningkatan permeabilitas vaskular seperti yang terjadi pada patogenesis DBD.¹⁸

6.1 Kadar TGF- β 1

Kadar TGF- β 1 pada penelitian mengalami peningkatan pada pengamatan hari ke-2 bila dibandingkan dengan pengamatan hari ke-0 tapi tidak bermakna. Pada penelitian ini didapatkan rata-rata kadar TGF- β 1 penderita DBD yang lebih tinggi dari nilai normal (27300 pg/dl), dimana kadarnya tinggi pada hari pengamatan ke-0 (45062,92 pg/ml) dan pada hari pengamatan ke-2 (49364,72 pg/ml). Penelitian Agarwal dkk kadar TGF- β 1 plasma mulai terdeteksi pada awal perjalanan penyakit (sejak hari 1-4 panas) dan kadarnya secara bertahap meningkat dan mencapai kadar puncak pada hari ke 5-8.⁴ Penelitian kami hanya membatasi pengukuran kadar TGF- β 1 pada 2 hari pengamatan saja (hari ke-0

dan ke-2), sehingga belum dapat menggambarkan secara keseluruhan kinetika TGF- β 1 selama perjalanan penyakit DBD.⁴

Laur dkk menemukan kadar TGF- β 1 yang lebih tinggi pada kelompok anak dengan DBD dibanding DD.¹⁷ Penelitian ini hanya mendiskripsikan sampel yang didiagnosis DBD saja, sehingga tidak diketahui apakah ada perbedaannya dengan anak yang hanya menderita DD. Keputusan untuk mengeksklusi DD adalah karena kami ingin memfokuskan mengenai kemungkinan pengaruh TGF- β 1 terhadap DBD saja, karena terjadinya kebocoran vaskular. Sementara pada DD tidak terjadi kebocoran vaskular, hal pokok yang membedakannya dengan DBD, kami tidak membedakan DBD dan DSS karena pada prinsipnya sama patofisiologinya hanya derajat klinis yang diperlihatkan berbeda.¹⁰

6.2 Kadar IgE

Penelitian di Kolumbia kadar Ig E total menunjukkan penderita infeksi dengue primer maupun sekunder ditemukan peningkatan secara bermakna kadar IgE total serum penderita dibanding yang belum pernah terpapar virus dengue.²³ Pada rerata penelitian ini didapatkan terjadinya penurunan pada pengamatan hari ke-2 dibandingkan pengamatan hari ke-0, tapi tidak bermakna. Penelitian ini terjadi peningkatan yang nyata kadar IgE plasma pada pengamatan hari ke-0, adalah 686,18 pg/ml dan pada pengamatan hari ke-2, adalah 452,08 pg/ml.

6.3 Korelasi TGF- β 1 dengan Ig E

Pengamatan hari ke-0 maupun hari ke-2, tidak didapatkan korelasi antara TGF- β 1 dengan Ig E ($p= 0,323$, $p <0,05$), meskipun sebenarnya diperlihatkan adanya penurunan Ig E pada hari ke-2 dibanding pengamatan hari ke-0, dimana dapat dianggap mengindikasikan kemungkinan adanya efek penekanan TGF- β 1 pada produksi Ig E pada kasus DBD. Berdasarkan teori yang mengatakan hambatan produksi IgE oleh TGF- β terjadi secara tidak langsung melalui tekanan produksi IL-4 oleh TGF- β . IL-4 merupakan sitokin yang dihasilkan oleh Th₂, yang bekerja pada *class switching* dari IgM menjadi IgE.^{32,45}

Keterbatasan dalam penelitian ini adalah kami tidak dapat mengendalikan faktor-faktor yang mengaktifkan TGF- β 1 karena banyak sitokin yang mempengaruhinya,¹⁰ sedangkan untuk melihat kinetik dari TGF- β 1 serta korelasinya, tidak dilakukan pemeriksaan pada hari ke-7 (hari ke-9 sakit), dimana pada hari ke-9 sakit merupakan puncak kadar TGF- β 1.¹ Disamping itu faktor - faktor yang mempengaruhi produksi Ig E ataupun sitokin - sitokin yang mempengaruhi produksi Ig E selama proses terjadi perjalanan penyakit, yaitu kadar IL-4, IL-13, TNF α dan sitokin-sitokin lain yang merupakan faktor yang mempengaruhi produksi Ig E tidak dilakukan pemeriksaan karena keterbatasan biaya.

BAB 7

SIMPULAN DAN SARAN

7.1 Simpulan

1. Didapatkan peningkatan kadar TGF- β 1 dan Ig E plasma pada pengamatan hari ke-0 dan hari ke-2
2. Tidak terdapat korelasi yang bermakna antara kadar TGF- β 1 plasma dengan kadar Ig E plasma pada pengamatan hari ke-0 dan hari ke-2.

7.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang sitokin – sitokin yang lain yang berhubungan dengan patogenesis penyakit infeksi virus dengue dengan IgE yaitu IL-4, IL-13, TNF- α dan IFN- γ .

DAFTAR PUSTAKA

1. WHO. Dengue Fever Risk Assesment: Indonesia, February 2005. In: Responding to communicable diseases following the tsunami in South East Asia. Jakarta. WHO 2005.
2. Guzman MG, Kouri G. Dengue: An up date. *The Lancet Infectious Disease* 2002; 2:33-42.
3. Perez JGR, Clark GG, Gubler DJ, Sanders EJ, Vondam AV. Dengue and Dengue Hemorrhagic Fever. *Lancet* 1998;325: 971-7
4. Setiati TE. Faktor hemostasis dan faktor kebocoran vaskular sebagai faktor diskriminan untuk memprediksi syok pada DBD. Disertasi, UNDIP 2004
5. Data PICU. (Unpublished). Semarang. RSUP Dr Karyadi 2007
6. Agarwal R, Elbishbishi EA, Chaturvedi UC, Nagar R, Mustafa AS. Profile of transforming growth factor-beta 1 in patients with dengue haemorrhagic fever. *Int J Exp Pathol* 1999; 80:143-9.
7. Laur F, Murgue B, Deparis X, Roche C, Cassar O, Chungue E. Plasma levels of tumor necrosis factor alpha and transforming growth factor beta-1 in children with dengue-2 virus infection in French Polynesia. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1998; 92:654-6.
8. Mabalirajan U, Kadiravan F, Sharma SK, Banga A, Ghosh B. Th(2) immune response in patients with dengue during defervescence: preliminary evidence. *Am J Trop Med Hyg.* 2005;72:783-5.
9. Miguez-Burbano Mi, Jaramillo CA, Palmer CJ, Shor-Posner G, Velasquez LS, Lai H, Baum MK. Total immunoglobulin E levels and dengue infection on San Andres Island, Colombia. *Clin Diagn Lab Immunol.* 1999;6(4):624-6.
10. Chaturvedi UC, Elbishbishi EA, Agarwal R. et all. Sequential production of cytokines by dengue virus infected human peripheral blood leukocyte cultures. *J Med Virol.* 1999;59(3):335-40.
11. Roitt IM. *Essential immunology*; edisi ke-10. Oxford: Blackwell Scientific, 2005; 233-67
12. Okamoto A, Kawamura T, Kanbe K, Kanamaru Y, Ogawa H, Okumura K, Nakao A. Suppression of serum IgE response and systemic anaphylaxis in a food allergy model by orally administered high-dose TGF- β ,*Int Immunol*,2005;17(6):705-12.
13. Koraka P, Margue B, Deparis X, Setiati TE, Suharti C, van Gorp EC, Hack CE, Osterhaus AD. Groen J. Elevated levels of total and dengue virus-specific immunoglobulin E in patients with varying disease severity. *J Med Virol.* 2003;70(1):91-8.
14. WHO Regional Office for South East Asia. *Prevention and Control of Dengue and Dengue Hemorrhagic Fever, Comprehensive Guidelines.* Singapore. WHO Regional Peublication 1999, SEARO No.29
15. Sutaryo. Perkembangan patogenesis demam berdarah dengue. Dalam: *Demam Berdarah Dengue, Naskah lengkap.* Jakarta.BP FKUI 2004;32-43.
16. Hadinegoro SRH. Imunopatogenesis demam berdarah dengue. Dalam: *Akib AAP, Tumbelaka AR, Matondang CS. Naskah lengkap PKB IKA XLIV FK UI.Pendekatan Immunologis berbagai Penyakit Alergi dan Infeksi.* Jakarta. BP FK UI, 2001:41-59

17. Halstead SB. Pathophysiology and Pathogenesis of Dengue Hemorrhagic Fever. In: Thongcharoen P. Monograph on dengue/dengue hemorrhagic fever. New Delhi; WHO, 1993:80-103
18. Kurane I, Antibody dependent enhancement of infection. Dengue virus immunology and immunopathology. Diunduh 19 Januari 2009 dari <http://www.science.mcmaster.ca/Biology/Virology/23/scott.html>
19. Dengue hemorrhagic fever: diagnosis, treatment and control. Geneva; WHO, 1997 :hal 17-27
20. Soegijanto S. Aspek Immunologi DBD. Dalam: Naskah Lengkap PKB IKA Penatalaksanaan Gawat Darurat di Bidang Infeksi. Banjarmasin. SMF/Bagian IKA FK Unlam- RSUD Ulin, 2002
21. Novriani H. Tinjauan Kepustakaan Respons Imun dan Derajat Kesakitan DBD dan SSD. Jakarta. Cermin Dunia Kedokteran No 134, 2002:46-8
22. Account of TGF β (transforming growth beta). Diunduh (22 Januari 2009) dari www.grt.kyushuu.ac.jp/spad/account/ligand/tgf-beta.html.
23. Letterio JJ and Roberts AB. Regulation of immune responses by TGF- β 1. *Ann Rev of Immunology* 1998, Vol. 16:137-161
24. Promega Corporation. TGF- β 1 Emax ImmunoAssay system. Technical Bulletin Promega Corporation. 2001; 196:4.
25. Juffrie M, VD Meer GM, Havk CE, Hasnoot K, Sutaryo, Veerman AJP dan Thijs LG. Inflammatory mediators in dengue virus infection in children interleukin-6 and its relation to C- reactive protein and secretory phospholipid A2. *Am. J. Trop Med. Hyg.* 2001;65(1):70-75
26. Koraka P, Murge B, Deparis X, van Gorp ECM, Setiati TE et al. Elevation of soluble VCAM-1 plasma levels in children with acute dengue virus infection of varying severity. *J of Med Virol* 2004;72:445-50
27. Berdadete Murge, Olivier Cassar and Xavier Deparis. Plasma concentrations of sVCAM-1 and severity of dengue infections. *J of Med Virol* 2001;65:97-104.
28. Kang YH, Brummel SE, Lee CH. Differential effects of transforming growth factor beta-1 on lipopolysaccharide induction of endothelial adhesion molecules. *Shock* 1999;6:118-25.
29. Solovyan VT, Keski-Oja J. Apoptosis of human endothelial cells is accompanied by proteolytic processing of latent TGF beta binding protein and activation of TGF beta. *Cell Death Differ.* 2005;12(7):815-26.
30. Wu CY, Brinkmann V, Cox D, Heusser C, Delespesse G. Modulation of human IgE synthesis by transforming growth factor-beta. *Clin Immunol Immunopathol.* 1992;62(3):277,84.
31. Sato MN, Fusaro AF, Victor JR, Oliveirai CR, Futata ET, Maciel M, Carvalho AF, Duarte AJ. Oral tolerance induction in dermatophagoides pteronyssinus-sensitized mice induces inhibition of IgE response and upregulation of TGF-beta secretion. *J Interferon Cytokine Res.* 2001;21(10):827-33.
32. Ashwood P, Harvey R, Verjee T, Wolstencroft R, Thompson RP, Powell JJ. Competition between IL-1, IL-1ra and TGF-beta 1 modulates the response of the ELA4.NOB-1/CTLL bioassay: implications for clinical investigations. *Inflamm Res.* 2004;53(2):60-5.

33. Ashwood P, Harvey R, Verjee T, Wolstencroft R, Thompson AP, Powell JJ. Functional interactions between mucosal IL-1, IL-1ra and TGF β 1 in ulcerative colitis. *Inflamm Res*. 2004;53(2):53-9.
34. Gubler DJ. Dengue and hemorrhagic fever. *Clin Microbiol Rev* 1998;11: 480-96.
35. Gagnon SJ, Mori M, Kurane I, Green S, Vaughn DW, Kalayanarooj S, Suntayakorn S, Ennis FA, Rothman AL. Cytokine gene expression and protein production in peripheral blood mononuclear cells of children with acute dengue virus infections. *J Med Virol*. 2002;67(1):41-6.
36. Halstead SB. Dengue. In: *Tropical and Geographical Medicine*. Warren KS, Mahmoud AAF. 2nd Edition. New York: McGraw-Hill, 1990; p. 675-85.
37. Koraka P, Suharti TE, Mairuhu AT, Van Gorp E, Hack CE, Juffri M, Sutarjo J, Van Der Meer GM, Groen J, Osterhaus AD. Kinetics of dengue virus-specific immunoglobulin classes correlated with clinical outcome of infection. *J Clin Microbiol*. 2001;39:4332-8
38. Lei HY, Yeh TM, Liu HS, Lin YS, Chen SH, Lin CC. Immunopathogenesis of Dengue Virus Infection. *J Biomed Science* 2001; 8: 371 - 88.
39. Malavige GN, Fernando S, Fernando DJ, dan Seneviratne SL. Dengue Viral Infection. *Postgrad. Med. J*. 2004;80:588-601
40. Perrier S, Kherratia B, Deschaumes C, Ughetto S, Kemeny JL, Baudet-Pommel M, Sauvezie B. IL-1 ra and IL-1 production in human oral mucosal epithelial cells in culture: differential modulation by TGF-beta 1 and IL-4. *Clin Immunol*. 2002;127(1):53-9.
41. Sato MN, Fusaro AF, Victor JR, Oliveirai CR, Futata ET, Maciel M, Carvalho AF, Duarte AJ. Oral tolerance induction in dermatophagoides pteronyssinus-sensitized mice induces inhibition of IgE response and upregulation of TGF-beta secretion. *J Interferon Cytokine Res*. 2001;21(10):827-33.
42. Setiati TE, Soemantri AG, Anggoro DBS, Bukit P. Severe Dengue Haemorrhagic Fever in Dr. Kariadi - Semarang, Central Java. Diajukan di KONIKA X, Bukit tinggi 1996.
43. Sugai M, Gonda H, Kusunoki T, Katakai T, Yokota Y, Shimizu A. Essential role of Id2 in negative regulation of IgE class switching. *Nat Immunol*. 2003;4(1):25-30.
44. Suharti C, van Gorp EC, Dolmans WM, Setiati TE, Hack CE, Djokomoeljanto R, van der Meer JW. Cytokine patterns during dengue shock syndrome. *Eur Cytokine Netw*. 2003;14(3):172-7.
45. Suroso T, Umar. AI. Epidemiologi dan Penanggulangan Penyakit Demam Berdarah Dengue (DBD) di Indonesia saat ini. Dalam: Sri Rezeki H, Hendra Irawan S, Penyunting. *Demam Berdarah Dengue*, Jakarta: Balai Penerbit FKUI 1998: 14 - 31.
46. van Ginkel FW, Wahl SM, Kearney JF, Kweon MN, Fujihashi K, Burrows PD, Kiyono H, McGhee JR. Partial IgA-deficiency with increased Th2-type cytokines in TGF-beta 1 knockout mice. *J Immunol*. 1999;163(4):1951-7.