

## KEJADIAN INFEKSI ULANG VIRUS DENGUE BERDASAR RESPON IMUN HUMORALNYA PADA PENDERITA DBD DI DUA RUMAH SAKIT DI DKI JAKARTA

Djoko Yuwono, Masri S Maha<sup>1</sup>, Sri Susilowati<sup>1</sup>, Diana S., Syahrial Harun<sup>1</sup>.

### Abstrak

*Demam Berdarah Dengue (DBD) merupakan penyakit endemik di Indonesi. Upaya pencegahan dengan imunisasi Dengue menghdapi beberapa kendala. Dewasa ini telah dilakukan penelitian dan pengembangan propfilaksi DBD di beberapa negara di Asia. Penelitian ini mencoba memberikan masukan mengenai pola infeksi ulang virus Dengue pada penderita DBD di dua RS di Jakarta.*

*Telah diperiksa sebanyak 49 penderita tersangka Demam Berdarah Dengue di RSPI dan RS Pasar Rebo Jakarta. Konfirmasi DBD dilakukan dengan menentukan serokonversi anti Dengue menggunakan Uji Hambatan Hemaglutinasi (HI) terhadap ke empat antigen Dengue, DV-1; DV-2; DV-3 dan DV-4. Selain itu dilakukan uji kualitatif untuk mendeteksi IgM anti Dengue dengan Uji Dengue Strip, Enzyme Immuno Assay (EIA).*

*Hasil pengamatan menunjukkan bahwa dari 49 penderita tersangka DBD ditemukan 19 penderita (38,8%) infeksi primer dan 11 penderita (22,4%) infeksi sekunder DBD; 16,3% presumtif dan sisanya 22,4% seronegatif Dengue.*

*Hasil pemeriksaan kuantitatif dengan Uji Hambatan Hemagalutinasi menunjukkan bahwa telah terjadi infeksi ulang oleh virus Dengue dengan gambaran sebagai berikut, yaitu: 2,0% (1 orang) terinfeksi DV-1 dan DV-3; 4,08% (2 orang) terinfeksi DV-2 ; 10,2% (5 orang) terinfeksi DV-4. Selain itu ditemukan adanya koinfeksi yaitu: terinfeksi DV-1+2 dan DV-1+3 masing-masing sebesar 2,0% (1 org); terinfeksi DV-3+4 sebesar 4,08% (2 orang) dan terinfeksi DV-1+2+3+4 sebesar 30,6% (15 orang).*

*Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa 30,6% penderita DBD dengan komposisi anti DV-1+2+3+4 ternyata masih dapat terkena Demam Berdarah Dengue.*

*Kata kunci: penderita DBD; serologi; infeksi ulang dengue*

### Pendahuluan

Penyakit Demam Berdarah Dengue (DBD) masih merupakan masalah kesehatan masyarakat, angka morbiditas diperkirakan sekitar 9,17/1000 penduduk (1993). Angka kematian di negara Asia Tenggara masih cukup tinggi (1,0%-2,4%). Penyakit ini disebabkan oleh infeksi virus dengue yang ditularkan lewat gigitan nyamuk *Aedes aegypti*. Virus dengue terdiri dari 4 serotipe DV-1; DV-2; DV-3 dan DV-4. Pencegahan dengan imunisasi masih belum mungkin dilakukan, walaupun vaksin untuk Dengue telah diproduksi oleh suatu perusahaan vaksin Perancis.

Adapun propfilaksis dengan imunisasi tersebut menghadapi beberapa masalah, antara lain adanya kendala sebagai berikut (1,2):

1. Hipotesis yang berpendapat bahwa terjadinya DBD disebabkan adanya infeksi sekunder oleh virus yang heterolog.
2. Hipotesis yang lain mengatakan bahwa terjadinya DBD karena tingkat virulensi virus yang berbeda. Virus Dengue dapat bermutasi dan menjadi lebih virulen.
3. Belum ditemukan hewan yang tepat sebagai model penelitian.

Dewasa ini penelitian uji coba vaksinasi Dengue (Demam Berdarah Dengue) sedang dilakukan di beberapa negara, seperti di Thailand dan Malaysia, namun hasilnya sampai saat ini masih belum jelas.

Indonesia sebagai negara endemik Demam Berdarah Dengue sudah sepantasnya ikut mem-

<sup>1</sup>Puslitbang Pemberantasan Penyakit, Badan Litbangkes

---

---

berikan sumbangan pemikiran demi keberhasilan rencana imunisasi DBD tersebut. Penelitian ini mencoba untuk mengetahui bagaimana gambaran terjadinya infeksi ulang virus Dengue pada penderita DBD berdasarkan respon humoral anti Dengue yang terbentuk pada penderita DBD. Adanya sekuen anti Dengue pada penderita DBD dapat dipakai sebagai pedoman apakah orang yang telah memiliki anti Dengue tidak akan menderita DBD. Kemungkinan lain adalah untuk mengetahui berapakah besar titer anti Dengue yang dimiliki penderita DBD sehingga orang tersebut masih dapat menderita DBD untuk yang ke sekian kalinya.

## **Bahan dan Cara Kerja**

### **1. Rancangan Penelitian:**

Penelitian ini merupakan suatu studi kasus penderita rawat inap tersangka Demam Dengue (DF) dan Demam Berdarah Dengue (DHF).

### **2. Penderita yang Diteliti:**

Penderita rawat inap tersangka DBD umur : anak-anak (5-14 th) dan dewasa (25-40 th). Penelitian dilakukan di RS. Pasar Rebo di Jakarta Timur dan di Bagian Anak, RSPI. Prof. Sulianti Saroso di Jakarta Utara. Penelitian dilakukan selama Januari-Desember 2001.

Jumlah sample yang diteliti: Berdasarkan penghitungan ditentukan untuk masing-masing kriteria penyakit DF dan DHF masing-masing diperlukan sebanyak 20 sampel (dibulatkan), sehingga total sample yang diperlukan sebesar  $2 \times 15 = 30$  sampel.

### **3. Sample dan Cara Koleksi Spesimen:**

Spesimen berupa darah vena sebanyak 5 ml. ditampung dalam tabung steril. Spesimen disimpan dalam termos es, segera dibawa ke Laboratorium Virologi, Puslitbang Pemberantasan Penyakit, Badan Litbang Kesehatan, Jl. Percetakan Negara No 29, Jakarta Pusat. Pemisahan serum dilakukan untuk uji serologi terhadap ke-4 antigen Dengue dengan uji HI test atau deteksi IgM dan IgG anti Dengue strip kit diagnosis (Rapid Dengue Strip, Pacific Biotekindo). Serum disimpan pada suhu  $-70^{\circ}\text{C}$  sampai dilakukan pemeriksaan laboratorium lebih lanjut.

## **4. Pemeriksaan Imunoserologi:**

### **Pemeriksaan Antibody Dengue:**

Menggunakan uji Hambatan Hemaglutinasi, mikro assay terhadap antigen DV-1; DV-2; DV-3 dan DV-4. Pencampuran antigen dan antibody selama 1 jam pada suhu kamar. Sebagai indikator dipakai eritrosit angsa 0,25%. Pembacaan dilakukan setelah inkubasi 60 menit pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$ . Pembacaan hasil dilakukan dengan mata telanjang dilihat terbentuknya hambatan aglutinasi eritrosit angsa. Pemeriksaan ini merupakan uji kuantitatif, dilakukan untuk mengetahui adanya infeksi primer atau sekunder pada penderita tersangka DBD.

Cara penentuan jenis infeksi virus Dengue dilakukan berdasarkan kriteria WHO. Adanya titer anti Dengue  $< 10$  dinyatakan sebagai seronegatif, titer anti Dengue  $> 10$  dinyatakan sebagai seropositif. Serokonversi = 4 atau  $> 4$  kali dinyatakan sebagai terkena infeksi virus Dengue. Titer anti Dengue  $< 640$  dinyatakan sebagai infeksi primer; sedangkan titer anti Dengue  $> 640$  dinyatakan sebagai infeksi sekunder<sup>(5)</sup>.

### **Pemeriksaan IgM dan IgG Anti Dengue**

Menggunakan teknik EIA dengan Dengue strip kit diagnosis (*Rapid Dengue IgM Strip test, Pacific Biotekindo*). Pemeriksaan ini merupakan uji kualitatif untuk mengetahui adanya *recent infection* virus Dengue pada penderita tersangka DBD,

## **Hasil**

### **1. Profil Penderita Tersangka DBD**

Berdasarkan hasil analisis kuesioner, pemeriksaan hitung trombosit, uji serologi dapat dibuat suatu gambaran profil penderita tersangka DBD, yang dapat dilihat pada Tabel 1.

### **2. Hasil Serologi Dengue**

Dari 49 sampel yang diperiksa antibodi Dengue dengan uji Hambatan Hemaglutinasi ditemukan komposisi anti dengue yang dapat dilihat pada Tabel 2.

Infeksi primer virus Dengue biasanya disebut sebagai Demam Dengue (Dengue Fever) dan biasanya ditandai dengan *mild infection* (infeksi ringan). Pada infeksi sekunder biasanya disebut sebagai DHF (*Dengue Hemorrhagic Fever*) biasanya ditandai dengan *rash, petechiae* sampai perdarahan<sup>(3)</sup>.

**Tabel 1**  
**Profil Penderita Tersangka DBD di Dua RS di Jakarta. Th. 2001**

Parameter yang diamati	Jumlah	Persentase
Umur		
Anak-anak (< 15 th)	8	16,3
Dewasa (>16 th)	41	83,7
Jenis kelamin		
Lelaki	31	63,3
Perempuan	18	36,7
Suhu badan		
37,5 – 38,4 <sup>0</sup> C	41	83,7
38,5 – 39,4 <sup>0</sup> C	8	16,3
Perdarahan		
Tidak ada	31	63,3
Ada di kulit	8	16,3
Ada di hidung	8	16,3
Ada di gusi	2	4,1
Hitung trombosit		
< 50.000/mL	23	46,2
50.000 – 100.000/mL	19	38,5
> 100.000/mL	7	15,4
Diagnosis klinis		
DF	0	0
DHF	49	100
DSS	0	0
Hasil serologi:		
Infeksi primer	19	38,8
Sekunder	11	22,4
Presumptif	0	0,0
Negatif	19	38,8
Serotip dengue		
DV-1	1	2,0
DV-2	2	4,08
DV-3	1	2,0
DV-4	5	10,2
DV - campuran	29	59,2
Seronegatif	11	22,4

Pada Tabel 2 dapat dilihat, bahwa dengan berpedoman pada kriteria serologi WHO maka dapat ditemukan 38,8% penderita tersangka DBD yang merupakan infeksi primer, sedangkan 22,4% adalah infeksi sekunder dan 16,3% merupakan presumtif; yaitu penderita DBD dengan titer anti Dengue >1280 tanpa serokonversi, dan sisanya 22,4% adalah penderita negatif serologi. Hasil ini tidak sesuai dengan keterangan Dinas Kesehatan DKI, bahwa DKI Jakarta yang merupakan daerah endemik DBD seharusnya prevalensi infeksi sekunder DBD mencapai 75%.

### Pembahasan

Dari hasil pemeriksaan serologi tersebut (pada Tabel 2), ada beberapa indikasi yang bisa disimpulkan dan hal ini penting untuk masukan bagi rencana apabila akan dilakukan profilaksis DBD dengan vaksinasi Dengue.

Pertama: adalah adanya infeksi primer (titer antibody Dengue <640 ) yang disebabkan oleh infeksi dua serotipe virus yaitu kombinasi antara serotipe DV-1+2 (2,0%) dan DV-1+3 (2,0%). Hal ini memberikan indikasi adanya reaksi silang antar serotipe virus Dengue yang sesuai dengan sifat kelompok *Flavivirus* (1,2,3).

**Tabel 2**  
**Hasil Pemeriksaan Serologi Infeksi Dengue pada Penderita Rawat Inap**  
**Tersangka DBD Di Dua RS Di Jakarta**

Infeksi Dengue	Primer	Sekunder	Presumtif	Negatif	Jumlah (%)
DV-1	1	0	0	0	1 (2,0)
DV-2	1	1	0	0	2 (4,08)
DV-3	1	0	0	0	1 (2,0)
DV-4	1	4	0	0	5 (10,2)
DV1+2	0	0	0	0	0 (2,0)
DV1+3	1	0	0	0	1 (2,0)
DV2+4	1	0	0	0	1 (2,0)
DV3+4	0	2	0	0	2 (4,08)
DV1+2+3	2	0	0	0	2 (4,08)
DV1+2+3+4	11	4	0	0	15 (30,6)
Presumtif	0	0	8	0	8(16,3)
Negatif Dengue	0	0	0	11	11(22,4)
Jumlah	19 (38,8%)	11 (22,4%)	8 (16,3%)	11 (22,4%)	49 (100,0%)

Kedua: adanya infeksi sekunder (titer antibody Dengue >640) yang disebabkan oleh satu serotipe virus yaitu DV2 (8,2%) dan DV3 (4,8%) merupakan indikasi bahwa DBD yang berupa infeksi sekunder juga dapat disebabkan oleh infeksi serotipe homolog<sup>(2)</sup>.

Ketiga: adanya infeksi sekunder yang disebabkan oleh koinfeksi kombinasi serotipe yang heterolog, yaitu kombinasi antara DV1+2; DV1+3; DV2+3; DV3+4; DV1+2+3 dan DV1+2+3+4<sup>(1,3)</sup>.

Pemeriksaan serologi dengan uji hambatan hemaglutinasi masih dianjurkan oleh WHO untuk dipakai uji kuantitatif untuk menentukan jenis infeksi virus Dengue (adanya infeksi primer dan sekunder). Kelemahan uji serologi untuk serodiagnosis infeksi virus Dengue adalah adanya reaksi silang antar grup *Flavivirus*, virus Dengue serotipe 1 sampai 4; virus *Yellow fever* dan virus *ensefalitis* Jepang. Hal ini juga terjadi pada keluarga *Togaviridae* lain, misalnya pada *Alphavirus*: seperti *chikungunya*; *O nyong nyong*; *Semliki forest*, Getah virus, dll. Adanya fenomena reaksi silang antar grup ini menyebabkan pemeriksaan serologi dalam diagnosis laboratorium DBD harus dikonfirmasi dengan isolasi virus<sup>(5)</sup>. Oleh karena itu dalam penelitian ini digunakan 4 jenis antigen Dengue dengan tujuan untuk mengetahui respon imun humoral terhadap ma-

sing-masing antigen Dengue. Hal tersebut dilakukan dalam kit diagnosis kualitatif (*rapid test*) untuk mendeteksi IgM dan IgG anti Dengue, dengan teknik *Enzyme Immuno Assay* (EIA) yang menggunakan ke empat jenis antigen Dengue<sup>(6)</sup>.

Pada Tabel 3 dapat dilihat adanya penderita tersangka DBD yang telah terkena infeksi sekunder yang telah memiliki titer antibody terhadap ke empat antigen Dengue yang cukup tinggi, misalnya pada penderita Zhr/L/8; Ady/P/5; Sr/P/10. Hal ini yang meragukan apakah antibody terhadap virus Dengue akan dapat menetralsasi infeksi sekunder virus Dengue. Diduga bahwa *plasma leakage* pada DBD adalah salah satunya disebabkan sebagai akibat reaksi imun kompleks, sedangkan viremiannya tampaknya sudah tidak ditemukan lagi<sup>(1)</sup>.

Pada Tabel 4 dapat dilihat bahwa titer antibody rata-rata (GMT) yang terbentuk pada infeksi primer virus Dengue ternyata cukup tinggi, mencapai 10,7 sampai 11,4 (log<sub>2</sub>). Masalahnya adalah apakah titer antiDengue yang cukup tinggi itu tidak memiliki daya proteksi terhadap infeksi sekunder virus Dengue? Berbeda dengan penderita Sprt/P/6 yang tampaknya merupakan infeksi primer Dengue, karena titer anti Denguenya pada serum akut adalah <10 atau seronegatif, sedangkan pada serum konvalsennya cukup tinggi mencapai 320 sampai 2560 (Tabel 3).

**Tabel 3**  
**Gambaran Serologi Infeksi Sekunder pada Penderita Tersangka DBD**  
**di Dua RS Di Jakarta.**

Penderita	Dugaan infeksi virus	Infeksi primer				Infeksi sekunder			
		Titer antibodi				Titer antibodi			
		AntiD1	AntiD2	AntiD3	AntiD4	AntiD1	AntiD2	AntiD3	AntiD4
And/L/10	DV-2	2560	40	5120	10240	2560	5120	5120	>10240
Zhr/L/8	DV1+3+4	320	640	1280	160	1280	640	>10240	5120
Ddw/P/3	DV-4	160	320	320	640	320	640	640	2560
Ady/P/5	DV-3	640	640	80	2560	640	640	1280	5120
Sr/P/10	DV-2+4	320	320	320	1280	640	1280	640	5120
Sprt/P/6	DV1+2+3+4	<10	<10	<10	<10	320	640	1280	2560

**Tabel 4**  
**Serokonversi Titer Rata-Rata Geometric (GMT) Anti Dengue**  
**pada Penderita Tersangka DBD.**

Jenis infeksi Dengue	Serokonversi GMT ( <i>Geometric Mean Titer</i> ) (log 2)			
	Anti DV-1	Anti DV-2	Anti DV-3	Anti DV-4
Primer	9,3 – 10,7 (630,3 -1663,5)	9,3 – 11,2 (630,3 – 2352,5)	9,2 – 11,2 (588,1 – 2352,5)	8,9 – 11,4 (477,7 – 2702,4)
Sekunder	9,7 – 9,8 (831,7 – 891,4)	9,8 – 10,5 (891,4 – 1448,2)	10,7 – 11,0 (1663,5 – 2048,0)	12,3 – 12,6 (5042,8 – 6208,4)

Dari hasil penelitian ini dapat dikemukakan bahwa hasil pemeriksaan serologi menggunakan ke empat jenis antigen Dengue ternyata sesuai dengan teori infeksi sekunder, yang sampai sekarang banyak dianut oleh sebagian besar ahli DBD, tapi yang menarik adalah ditemukannya 30,6% penderita DBD yang masih dapat terjadi pada penderita yang telah memiliki kekebalan terhadap keempat serotipe virus Dengue. Kenyataan ini menimbulkan praduga apakah antibody yang terbentuk karena infeksi terdahulu tidak dapat menetralkan infeksi sekunder virus Dengue? Apakah variabilitas genotipe virus Dengue mempunyai peranan penting dalam terjadinya DBD? Bila hal ini memang benar maka rencana vaksinasi Dengue untuk pencegahan DBD masih tetap menjadi kontroversi. Untuk menjawabnya perlu dilakukan penelitian respon imun seluler yang komprehensif pada kasus-kasus DBD dan peran variabilitas genotip virus Dengue pada saat terjadi KLB DBD.

### Kesimpulan dan Saran

Beberapa kesimpulan dapat kami kemukakan sebagai berikut:

1. Dari 49 sampel penderita DBD ditemukan 19 (38,8%) infeksi primer; 11 (22,4%) infeksi sekunder, 8 (16,3%) presumptive dan sisanya 11(22,4%) adalah seronegatif Dengue.
2. Ditemukan 9 (23,7%) penderita DBD dengan infeksi tunggal virus Dengue dan 29 (76,3%) penderita dengan infeksi Dengue campuran.
3. Pada infeksi tunggal ternyata 4,08% disebabkan oleh infeksi DV-2 dan 2,0% disebabkan oleh infeksi DV-1 dan DV-3, sedangkan 10,2% disebabkan oleh DV-4. Pada infeksi campuran 30,6% disebabkan oleh infeksi DV1+2+3+4.
4. Adanya kekebalan terhadap DV1+2+3+4 yang masih terkena DBD meragukan adanya kekebalan terhadap infeksi virus dengue pada penderita DBD.

---

## Saran

1. Perlu dilakukan penelitian aktif surveilans untuk prediksi KLB DBD dan mengetahui transmisi virus (variabilitas peranan genotipe) yang dominan.
2. Pemeriksaan serologi sebaiknya menggunakan uji netralisasi, untuk mengetahui lebih akurat adanya kekebalan yang menetralkan infeksi virus Dengue.
3. Penelitian ini perlu dilanjutkan dengan pemeriksaan serupa terhadap penderita DSS.

## Ucapan Terima kasih

Penulis dan seluruh tim peneliti mengucapkan terimakasih kepada:

1. Dr. Ingerani S, SKM, selaku Kepala Puslitbang Pemberantasan Penyakit yang telah memberikan ijin sehingga penelitian ini dapat terlaksana dengan baik.
2. Dr. Sutoto, MARS, selaku Direktur RSPI, Prof. Sulianti S. yang telah memberikan ijin untuk melakukan pengambilan sample penderita DBD di RSPI. Prof Sulianti, Jakarta Utara.
3. Dr. Bambang Siswitono, SpA. selaku Kepala Bag. Anak RS. Pasar Rebo di Jakarta Timur yang telah memberikan ijin untuk dilaksanakan penelitian ini di RS Pasar Rebo.
4. Semua pihak baik instansi ataupun perorangan yang tidak mungkin kami sebutkan satu persatu, kami ucapkan terimakasih atas segala bantuan baik tenaga ataupun pikiran sehingga penelitian ini dapat terlaksana dengan baik.

## Daftar Pustaka

1. SB. Halstead, et al. *Dengue virus enhancement replication in PBMC from immune human being*. The Society for Experimental Biology and Medicine. 1976; 151: 136-9.
2. L. Rosen, Dengue Hemorrhagic Fever: A critical appraisal of current hypothesis. *Japan Journ.Trop. Med. and Hyg.* 1986; 14(2): 117-22.
3. Patrick RM, et al. *Togaviruses and Flaviviruses in Clinical Microbiology*. 1990. CV Mosby Co. St. Louis, Missouri. USA.
4. sVcam-1 and Dengue infection. Kumpulan abstrak dlm. Kongres Assoc. Am. Trop. Med. And Hyg. Des. 1999.
5. NN. Prevention and Control of Dengue and Dengue Haemorrhagic Fever, Comprehensive Guidelines. *WHO Regional Publication SEARO No. 29, 1999*. Regional Office for South East Asia, New Delhi. India.
6. NN. *Brosur Pan Bio Dengue rapid Strip IgG & IgM*. PT. PACIFIC BIOTEKINDO INTRALAB. Jakarta.