

## KAJIAN PUSTAKA: DIAGNOSIS LABORATORIUM INFEKSI VIRUS *DENGUE*

Elitha Sundari Pulungan<sup>1</sup>, Raditya Faradina Pratiwi<sup>2</sup>, Novita Indah Pertamasari<sup>3</sup>, Sissy<sup>4</sup>, Ismalia Husna<sup>5\*</sup>

<sup>1</sup>Departemen Mikrobiologi, Program Studi Kedokteran, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Pertahanan Republik Indonesia

<sup>2</sup>Departemen Fisika, Fakultas MIPA Militer, Universitas Pertahanan Republik Indonesia

<sup>3</sup>Departemen Patologi Klinik, Program Studi Kedokteran, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Pertahanan Republik Indonesia

<sup>4</sup>Departemen Dermatologi dan Venereologi, Program Studi Kedokteran, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Pertahanan Republik Indonesia

<sup>5</sup>Departemen Parasitologi, Program Studi Kedokteran, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Pertahanan Republik Indonesia

\*)Email Korespondensi: husnaismalia@gmail.com

**Abstract:** *Abstract: Laboratory Diagnosis of Dengue Virus Infection. Dengue virus infection is one of the most dangerous infectious diseases in the world. Dengue is a viral disease of the genus Flavivirus which is transmitted by mosquitoes and is the fastest spreading in the world. In the last fifty years, cases of dengue have increased thirty-fold with increasing geographic expansion to new countries. It is estimated that fifty million dengue infections occur each year. Until now, there is no vaccine that is protective and specific therapy for dengue virus infection. The management of patients with this virus infection is only supportive therapy. Therefore, proper and efficient diagnosis of dengue virus infection will very helpful in patient management and important step in preventing the spread of dengue virus infection. This research was conducted using the literature review method. Literature search was carried out, reading and reviewing journals related to the research topic, namely laboratory diagnosis of dengue virus infection. Diagnosis of dengue virus infection can be made by carrying out a clinical examination which must be supported by laboratory diagnosis with virus isolation, detection of viral genomes, detection of viral antigens and serological tests to detect the presence of anti-dengue antibodies.*

**Keywords:** *Dengue Virus, Dengue Virus Infection, Diagnosis of Dengue Virus Infection*

**Abstrak:** *Diagnosis Laboratorium Infeksi Virus Dengue.* Infeksi virus dengue merupakan salah satu penyakit infeksi berbahaya di dunia. *Dengue* adalah penyakit virus genus *Flavivirus* yang ditransmisikan oleh nyamuk dan paling cepat menyebar di dunia. Dalam lima puluh tahun terakhir, kasus penyakit *dengue* telah meningkat tiga puluh kali lipat dengan meningkatnya ekspansi geografis ke negara-negara baru. Diperkirakan pada setiap tahunnya terjadi lima puluh juta infeksi *dengue*. Hingga saat ini vaksin yang protektif serta terapi yang spesifik untuk infeksi virus *dengue* belum tersedia, sehingga pengelolaan pasien infeksi virus ini hanya berupa terapi suportif. Oleh karena itu, diagnosis infeksi virus *dengue* yang tepat dan efisien sangat membantu dalam manajemen pasien dan merupakan langkah penting dalam mencegah penyebaran infeksi virus *dengue*. Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan metode *literature review*. Dilakukan penelusuran secara kepustakaan, membaca dan menelaah jurnal yang berkaitan dengan topik penelitian, yaitu diagnosis laboratorium infeksi virus *dengue*. Diagnosa terhadap infeksi virus *dengue* dapat dilakukan dengan melakukan pemeriksaan klinis yang harus ditunjang dengan diagnosa laboratorium dengan isolasi virus, deteksi genom

virus, deteksi antigen virus serta uji serologis untuk mendeteksi adanya antibodi anti *dengue*.

**Kata Kunci:** Virus *Dengue*, Infeksi Virus *Dengue*, Diagnosis Infeksi Virus *Dengue*

## PENDAHULUAN

Infeksi virus *dengue* merupakan salah satu penyakit infeksi berbahaya di dunia. *Dengue* adalah penyakit virus nyamuk yang paling cepat menyebar di dunia. Dalam lima puluh tahun terakhir, kasus penyakit *dengue* telah meningkat tiga puluh kali lipat dengan meningkatnya ekspansi geografis ke negara-negara baru. Diperkirakan pada setiap tahunnya terjadi lima puluh juta infeksi *dengue*. Infeksi virus *dengue* dilaporkan terjadi di lebih dari 100 negara, dimana 2,5 milyar orang hidup di negara endemis virus *dengue* (WHO, 2011). Negara endemis virus *dengue* adalah negara-negara dengan iklim subtropis dan tropis yang sebagian besar merupakan negara tujuan wisata. Di kawasan Asia Tenggara dan Pasifik Barat, sekarang ini virus *dengue* merupakan urutan ke delapan penyebab kesakitan. Angka kematian akibat virus ini mencapai 0,5%-3,5% di Asia, sedangkan di Indonesia epidemi dari infeksi virus ini menyebabkan demam berdarah *dengue* (DBD) yang terjadi setiap tahun dengan kecenderungan insiden dan luas wilayah yang semakin meningkat (Cucunawangsih, 2017).

Hingga saat ini vaksin yang protektif serta terapi yang spesifik untuk infeksi virus *dengue* belum tersedia, sehingga pengelolaan pasien infeksi virus ini hanya berupa terapi suportif. Oleh karena itu, diagnosis infeksi virus *dengue* yang tepat dan efisien sangat membantu dalam manajemen pasien dan merupakan langkah penting dalam mencegah penyebaran infeksi virus *dengue*. Adanya penegakan diagnosis yang akurat maka akan memberikan kesempatan penderita untuk memperoleh perawatan dan pengobatan yang adekuat. Selain itu diagnosis tepat sangat penting untuk mengatasi penyakit dari infeksi virus *dengue* yaitu deteksi dini kasus berat, konfirmasi kasus dan diagnosis banding dengan penyakit menular lainnya, kegiatan surveilans, pengendalian wabah, patogenesis, penelitian akademis,

pengembangan vaksin, dan uji klinis (Barthel, 2013; Subedi, 2014).

Diagnosis awal infeksi virus *dengue* menurut pedoman WHO, secara umum ditegakkan berdasarkan kriteria klinis dan laboratoris. Pemeriksaan laboratorium untuk menentukan diagnosis infeksi virus *dengue* dapat dilakukan dengan isolasi virus, deteksi genom virus, deteksi antigen virus serta uji serologis untuk mendeteksi adanya antibodi anti *dengue*. Berbagai metode diagnostik laboratorium telah dikembangkan untuk mendukung pengelolaan pasien dan pengendalian penyakit. Pemilihan metode diagnostik bergantung pada tujuan pengujian yang dilakukan (misalnya diagnosis klinis, survei epidemiologi, pengembangan vaksin), jenis fasilitas laboratorium dan keahlian teknis yang tersedia, biaya, dan waktu pengumpulan sampel (Subedi, 2014).

## METODE

Penelitian ini menggunakan metode *literature review* dengan melakukan penelusuran secara kepustakaan, membaca dan menelaah jurnal yang berkaitan dengan topik penelitian, yaitu diagnosis laboratorium infeksi virus *dengue*. Jurnal yang digunakan berusia maksimal sepuluh tahun yang dipublikasi melalui kanal terbuka seperti *Pubmed*. Kata kunci yang digunakan adalah diagnosis infeksi virus *dengue*.

## PEMBAHASAN

Diagnosis laboratorium untuk pemeriksaan infeksi virus *dengue* dapat dibedakan menjadi dua kelompok yaitu metode diagnosis secara langsung (*direct method*) dan metode diagnosis secara tidak langsung (*indirect method*). Diagnosis secara langsung berarti mengidentifikasi keberadaan virus secara langsung dengan melakukan isolasi virus, deteksi genom virus, dan antigen virus. Diagnosis tidak langsung berarti dilakukan deteksi virus dengan mengidentifikasi respon imun tubuh

terhadap keberadaan virus dengan uji serologi IgG dan IgM (WHO, 2011).

#### **A. Identifikasi dan Isolasi Virus Dengue**

Dalam isolasi virus *dengue* umumnya digunakan beberapa galur sel yang berasal dari sel serangga dan sel mamalia. Sel tersebut antara lain *baby hamster kidney* (BHK21), *Vero*, dan C6/36 (Subedi, 2014).

##### **1. Sel Baby Hamster Kidney (BHK21)**

Sel BHK21 berasal dari ginjal bayi hamster (*Mesocricetus auratus*). Karakteristik lipid yang terkandung dalam sel tersebut telah diketahui dan terbukti dapat diinfeksi banyak kelompok virus, termasuk *arbovirus*. Sel BHK21 juga sering digunakan untuk memproduksi vaksin (Subedi, 2014; Nugraheni, 2016).

##### **2. Sel Vero**

Sel vero berasal dari ginjal normal *African green monkey* (*Cercopithecus aethiops*) dewasa. Sel vero merupakan sel yang dikembangkan untuk tumbuh secara terus-menerus. Sel vero dapat digunakan untuk menghasilkan vaksin, mempelajari replikasi virus, proses tranfeksi, dan *plaque assay*. Sel vero merupakan sel yang sensitif terhadap infeksi beberapa virus, antara lain *arbovirus*, *rubella*, *Simian adenovirus*, poliovirus, dan virus influenza (Nugraheni, 2016).

##### **3. Sel C6/36**

Sel C6/36 merupakan sel nyamuk yang paling sering digunakan dalam metodologi isolasi virus *dengue*. Sel C6/36 merupakan sel larva nyamuk *Aedes albopictus*. *Cell line* tersebut mampu tumbuh secara cepat, sensitif, dan ekonomis untuk digunakan dalam isolasi virus *dengue*. Sel C6/36 banyak digunakan dalam isolasi virus karena sensitivitasnya tinggi serta pemeliharaannya yang cenderung mudah. *Cell line* tersebut stabil dan memiliki pertumbuhan yang optimal pada suhu yang lebih rendah dibandingkan sel mamalia (WHO, 2011).

Isolasi virus merupakan teknik *gold standard* yang digunakan dalam deteksi infeksi virus *dengue*. Isolasi virus akan sangat berhasil apabila spesimen diambil pada periode viremia, yaitu dimulai dua sampai tiga hari sebelum onset demam dan dua sampai tiga hari setelah demam. Secara umum serum merupakan sampel pilihan utama dalam isolasi virus, namun terdapat beberapa sampel lain yang juga dapat digunakan antara lain, yaitu plasma, darah tepi, atau dapat juga diambil dari jaringan saat autopsi (hati, paru-paru, limfonodus, dan timus). Sensitivitas dalam teknik diagnostik melalui isolasi virus sangat bergantung pada waktu pengambilan spesimen, transportasi, serta penyimpanan spesimen. Dikarenakan virus *dengue* merupakan virus yang sangat sensitif terhadap panas, maka penyimpanan dan transportasi yang tepat sangat dibutuhkan. Standar penyimpanan spesimen dalam waktu yang sebentar dapat dilakukan pada suhu  $-4^{\circ}\text{C}$ , sedangkan untuk penyimpanan dalam waktu yang lama dilakukan penyimpanan pada suhu  $-20^{\circ}\text{C}$  sampai  $-70^{\circ}\text{C}$ . Setelah penyimpanan tersebut spesimen dapat digunakan melalui proses *thawing* terlebih dahulu (WHO, 2011; Girsang: 2015; Gyawali, 2017).

Setelah periode inkubasi, replikasi virus memungkinkan terjadi di dalam kultur sel nyamuk. Identifikasi virus dilakukan menggunakan antibodi monoklonal spesifik *dengue* dalam tes imunofluorosensi. Tingkat isolasi virus dari *whole blood* jauh lebih tinggi dibandingkan tingkat isolasi dari serum, plasma, leukosit, atau jaringan yang diperoleh saat otopsi. Identifikasi virus adalah hasil tes yang paling spesifik dan memberi bukti infeksi yang terkuat, namun teknik ini mahal dan memerlukan instalansi khusus dan personil yang terlatih, dan hasilnya membutuhkan waktu yang lama yaitu sekitar dua minggu. Identifikasi virus ini tidak dapat digunakan secara rutin sebagai metode diagnosa dikarenakan kelemahannya tersebut (Castellanos, 2014; Shamala, 2015).

## B. Deteksi Genom Virus

### 1. RT-PCR (Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction)

Dasar dari deteksi genom virus adalah *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Pengembangan dari PCR untuk melakukan deteksi genom virus *dengue* adalah *Reverse Transcriptase-PCR* (RT-PCR). Adapun langkah pertama dari teknik ini yaitu akan dihasilkan *single strand* DNA dari untai RNA virus, selanjutnya untai tersebut akan dibuat menjadi *double strand* DNA dan diamplifikasi menggunakan PCR biasa. Banyak bagian dari genom virus *dengue* yang digunakan dalam RT-PCR, seperti urutan nukleotida yang mengkode region *capsid* (C), *envelope protein* (E), ataupun protein-protein non-struktural seperti NS1, NS2A, NS2B, NA, dan NS5. Namun, saat ini UTR 3' yang memiliki ukuran kurang lebih 400 bp lebih sering digunakan. Bagian ini memiliki daerah *conserved* untuk deteksi sampai ke tingkat serotipe (WHO, 2011; Castellanos, 2014).

Virus *dengue* yang telah diamplifikasi kemudian divisualisasikan menggunakan elektroforesis. Elektroforesis merupakan teknik memisahkan makromolekul (asam nukleat atau protein) dalam suatu medan listrik. Prinsip kerja dari elektroforesis adalah pergerakan partikel-partikel yang bermuatan berdasarkan kecepatan migrasi partikel tersebut dalam suatu medan listrik. Partikel tersebut akan bergerak dari muatan negatif ke kutub positif. Metode elektroforesis dilakukan dengan menggunakan gel agarosa, poliakrilamid, atau agarosa-poliakrilamid (Castellanos, 2014; Shamala, 2015).

RT-PCR merupakan metode uji yang cepat dan sensitif. Hambatan utama dari penggunaan teknik ini adalah tes ini harus dilakukan pada pasien dengan fase akut. Viremia virus *dengue* akan berhenti pada kurang lebih hari ke-3 sampai hari ke-6 infeksi. Jika pengecekan dilakukan pada fase kronik (lebih dari hari ke-6) tidak ada lagi virus yang berada dalam darah. Hambatan lainnya adalah tes ini memerlukan

peralatan dan perlengkapan laboratorium yang mahal. Meskipun memiliki beberapa hambatan, RT-PCR tetap merupakan alat diagnosa virus *dengue* yang berguna terutama pada fase viremia (Nugraheni, 2016).

### 2. NASBA (Nucleic Acid Sequence-Based Amplification)

Selain RT-PCR, dikembangkan juga metode NASBA (*Nucleic Acid Sequence-Based Amplification*) yang merupakan metode amplifikasi RNA secara isothermal dengan menggunakan *electrochemiluminescence* untuk mendeteksi RNA yang telah dilabel. Tidak seperti RT-PCR yang bergantung pada konversi RNA menjadi DNA dan kemudian diamplifikasi, NASBA langsung mengamplifikasi RNA menggunakan primer spesifik. Hasil amplifikasi ini akan diidentifikasi dengan penempelan *probe* yang telah di labeli. Metode ini sudah digunakan untuk mendeteksi penyakit malaria, *cytomegalovirus*, dan HIV. Namun untuk deteksi virus *Dengue* masih dalam pengembangan (Subedi, 2014; Girsang, 2015).

Penggunaan metode NASBA yang dilanjutkan dengan LFIA (*Lateral Flow Immuno Assay*) dapat digunakan untuk mendeteksi keempat serotipe virus *dengue*. Metode LFIA menggunakan sebuah membran yang ditempel sekuens nukleotida yang berkomplemen dengan RNA virus hasil NASBA. Jika sampel yang bergerak melalui membran yang mengandung RNA virus, maka RNA tersebut akan berkomplemen pada sekuens pada membran dan tidak ikut terbawa aliran sampel. Hasil pengikatan protein ini selanjutnya dapat divisualisasi dengan berbagai macam cara (Castellanos, 2014).

### 3. TaqMan PCR (5' Fluorogenic Probe Exonuclease Assay)

TaqMan PCR merupakan metode dengan berdasarkan penggunaan *probe* dengan label *fluorescent* yang akan berhibridisasi dengan sekuens cDNA target (hasil dari RT-PCR). Sekuens *probe* dibuat lebih umum, sehingga dapat menempel pada lebih dari satu tempat pada cDNA target. Akan tetapi, primer dirancang spesifik agar

menempel pada satu tempat saja. *Taq polymerase* akan menempel pada primer dan memperpanjang untai DNA. Ketika elongasi berlangsung, DNA *polymerase* akan bertemu dengan *probe* yang sudah lebih dulu menempel pada DNA. Dengan aktivitas eksonuklease, DNA *Taq polymerase* dapat memotong sekuens *probe*. *Probe* yang sudah terpotong ini akan menghasilkan signal *fluorescent*. Keberadaan signal *fluorescent* selama TaqMan PCR berlangsung dapat dideteksi. Sehingga dapat dilakukan monitoring *real-time* terhadap amplifikasi DNA *template*. TaqMan PCR telah terbukti dapat digunakan untuk mendeteksi dan mengkuantifikasi virus *dengue*. Dengan adanya data tersebut, tingkat keparahan penyakit dapat ditentukan (Girsang, 2015; Castellanos, 2014).

### C. Deteksi Antigen Virus

Uji yang digunakan dalam deteksi antigen virus *dengue* yang telah dikembangkan saat ini adalah deteksi menggunakan metode ELISA, uji *dot blot* untuk mendeteksi antigen E atau M, dan antigen NSI virus *dengue*. Deteksi antigen tersebut dilakukan dengan antibodi monoklonal yang dikembangkan secara khusus dan spesifik untuk antigen E, M dan atau NS1. Antigen NS1 berpotensi untuk digunakan sebagai target penentu seseorang terinfeksi oleh virus *dengue*. NS1 disekresi oleh sel yang terinfeksi virus *dengue* dan bersirkulasi dalam darah penderita demam berdarah fase akut, umumnya dapat dideteksi pada hari ke-1 sampai hari ke-9 pada saat onset demam baik pada infeksi primer maupun sekunder. Oleh karena itu, deteksi NS1 merupakan pendekatan terbaru dalam pengembangan diagnosa infeksi virus *dengue*. Kelemahan pada deteksi antigen yaitu hadirnya IgG anti virus *dengue* pada penderita demam berdarah sekunder sehingga dapat mempengaruhi hasil akhir. Sebagian dari antigen target yang berada dalam bentuk ikatan dengan IgG spesifik terhadap antigen target virus *dengue* menyebabkan berkurangnya jumlah antigen bebas, hal ini dapat

menurunkan sensitivitas uji tersebut (Castellanos, 2014; Shamala, 2015).

Sensitivitas pemeriksaan antigen NS1 berkisar 63%-93,4% dengan spesifisitas 100%, sama tingginya dengan spesifistas *gold standard* kultur virus. Namun, hasil negatif antigen NS1 tidak menyingkirkan adanya infeksi virus *dengue*. Selain digunakan sebagai alat diagnostik, hasil pemeriksaan antigen NS1 juga dapat menjadi prediktor derajat keparahan. Berdasarkan beberapa hasil penelitian, jumlah NS1 yang terdapat pada pasien dengan infeksi virus *dengue* memiliki korelasi dengan derajat keparahan penyakit *dengue*. Hal ini ditandai dengan adanya hubungan bermakna antara hasil positif pemeriksaan antigen NS1 dengan trombositopenia (Shamala, 2015).

### D. Uji Serologi

Metode uji serologi merupakan teknik untuk menemukan atau identifikasi virus penyebab atau jejak yang ditinggalkan virus *dengue* di dalam serum atau plasma penderita. Metode yang dikembangkan untuk uji serologi pada umumnya adalah dengan memanfaatkan reaksi antigen antibodi dan hasil akhir dari uji serologi tergantung apa yang akan diidentifikasi (WHO, 2011).

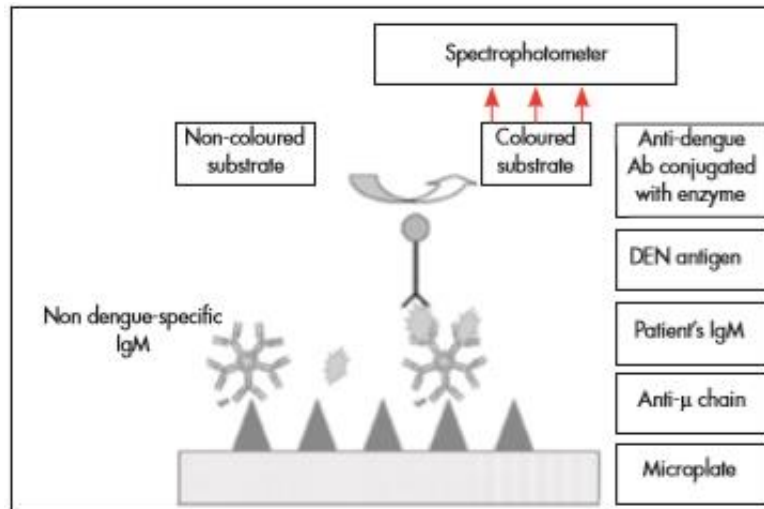
#### 1. Serologi IgM

Pengambilan antibodi IgM dan MAC ELISA adalah teknik diagnosis yang paling sering digunakan. Antibodi anti IgM dilapis ke dalam pelat ELISA dan diinkubasi dengan serum pasien yang mengandung semua IgM. Campuran antigen dari empat serotipe virus *dengue* ditambahkan pada pelat. Kemudian antigen ini berpotensi untuk mengikat IgM *dengue* pada pelat. Setelah penambahan antibodi anti *dengue* biotinylated monoklonal dilanjutkan dengan penambahan substrat yang menghasilkan sinyal pada pembentukan kompleks tersebut (WHO, 2011; Castellanos, 2014).

Sensitivitas tes ini adalah sekitar 98% ketika menggunakan sampel yang sudah dikonfirmasi sebelumnya. Namun dapat menjadi sekitar 60% dalam

kondisi lapangan (presentase ini dapat berkurang apabila tes dilakukan pada hari pertama demam). Spesitivitas tes ini adalah sekitar 90% pada sample yang dikonfirmasi, tetapi secara

dramatis menurun di lapangan, karena adanya reaksi silang dengan *Flavivirus* atau pada orang yang sebelumnya diimunisasi dengan vaksin *Flavivirus* (Shamala, 2015).



**Gambar 1. Metode Serologi IgM (WHO, 2011)**

## 2. Serologi IgG

IgG spesifik *dengue* dapat dideteksi dengan dua cara, yaitu IgG *indirect* ELISA dan IgG *capture* ELISA. Hasil positif menunjukkan paparan primer atau sekunder terhadap virus *dengue*. Untuk konfirmasi infeksi *dengue* IgG ELISA, perlu dilakukan pada serum berpasangan untuk mendeteksi serokonversi antara fase akut dan fase konvalensan. Gambaran serologis IgM (+) dan IgG (-) dapat menunjukkan adanya infeksi primer atau IgG yang belum terbentuk dapat mengalami serokonversi menjadi positif kemudian menunjukkan adanya infeksi sekunder. Munculnya gambaran serologis ini pada DBD dapat terjadi akibat IgG yang belum terbentuk pada fase akut hari ke 3-5 demam. Antibodi IgG (-) dapat mengalami serokonversi menjadi IgG (+) pada fase konvalensan penyakit hari ke tujuh demam atau lebih. Gambaran serologis IgM (-) dan IgG (-) dapat menunjukkan pasien tidak mengalami infeksi virus *dengue* atau belum terbentuk antibodi dan diperlukan pemeriksaan serum kedua pada fase konvalensan untuk melihat adanya serokonversi IgM dan IgG yang (-) menjadi hasil (+). Gambaran serologis IgM (-) dan IgG (+) dapat menunjukkan

pasien sedang mengalami infeksi sekunder dengan IgM yang tidak terdeteksi atau hanya menunjukkan sebelumnya pasien pernah terkena infeksi sekunder dan saat ini telah sembuh (WHO, 2011; Indrawan, 2018).

### a. IgG Indirect ELISA

Virus *dengue* dilapisi pada pelat ELISA kemudian diinkubasi dengan serum pasien. Antibodi IgG manusia terkait enzim ditambahkan, kemudian terjadi ikatan kompleks antigen-antibodi DENV dan dideteksi dalam spektrofotometer oleh perubahan kolorimetri. Peningkatan antibodi IgG empat kali lipat atau lebih besar pada serum sepaasang akut dan konvalensan menunjukkan adanya infeksi baru (Shamala, 2015).

### b. IgG Capture ELISA (GAC ELISA)

IgG *capture* ELISA menggunakan antibodi anti IgG yang dilapisi pada pelat ELISA dan diinkubasi dengan serum pasien yang mengandung semua IgG. IgG spesifik *dengue* mengikat campuran dari empat serotipe antigen DENV, yang kemudian berikatan dengan antibodi anti-DENV monoklonal yang terkait dengan peroksidase. Uji ini menggunakan antigen yang sama dengan MAC-ELISA (khusus E atau M). Setelah kontak dengan substrat dan

*chromogen*, kehadiran kompleks diukur dengan menggunakan spektrofotometer. GAC ELISA memungkinkan deteksi antibodi IgG selama periode sepuluh bulan setelah infeksi. IgG *capture* ELISA memungkinkan menilai peningkatan titer atau untuk membedakan antara *dengue* primer dan sekunder (Gyawali, 2017).

Antibodi IgG memiliki afinitas yang lebih besar daripada IgM, sehingga titik *cut-off* dalam sistem lebih tinggi, memungkinkan diagnosis yang lebih spesifik. Tes ELISA berbasis IgG memiliki sensitivitas yang sedikit lebih tinggi daripada uji penghambatan hemaglutinasi. Tes ELISA berbasis IgG tidak dapat digunakan untuk mengidentifikasi serotipe infeksi virus *dengue*. Jika diduga terdapat reaktivitas silang dengan *Flavivirus* yang bersirkulasi atau tingginya cakupan vaksinasi *Japanese Encephalitis Virus*, *Yellow Fever Virus*, alternatif untuk menggunakan IgG ELISA harus dipertimbangkan (Subedi, 2014; Castellanos, 2014).

### **3. IgM/IgG Ratio (Rasio IgG/IgM)**

Pemeriksaan ini digunakan untuk membedakan infeksi primer dan sekunder pada kasus demam berdarah *dengue* (DBD). Infeksi virus *dengue* ditetapkan sebagai primer jika rasio IgM/IgG lebih besar dari 1,2 atau sekunder jika rasio kurang dari 1,2. Kemudian merevisi rasio tersebut dengan mempertimbangkan empat sub kelompok klasik dengan infeksi *dengue*. Rasio yang disesuaikan adalah jika  $> 2,6$  secara pasti dikategorikan 100% infeksi demam berdarah serologik klasik, sedangkan jika  $< 2,6$  menunjukkan 90% infeksi serologik non klasik (WHO, 2011; Shamala, 2015).

Keterbatasan yang sama seperti untuk metode deteksi IgG dan IgM terjadi mengenai reaktivitas silang dan rasio IgM:IgG bervariasi tergantung pada apakah pasien memiliki infeksi *dengue* non-klasik atau klasik. Oleh karena itu, *cut-off* untuk IgM:IgG rasio tidak didefinisikan dengan baik (Shamala, 2015).

### **4. Plaque Reduction and Neutralization Test (PRNT) dan Microneutralization Assay**

PRNT merupakan alat uji serologik yang paling spesifik untuk penentuan antibodi *dengue* dan digunakan untuk menentukan infeksi serotipe pada serum penderita yang sudah sembuh. Uji ini mengukur titer antibodi penetralisir dalam serum individu terinfeksi dan menentukan tingkat perlindungan individu itu terhadap virus yang menginfeksi. Uji ini didasarkan pada prinsip interaksi virus dan antibodi, yang mengakibatkan inaktivasi virus sedemikian rupa sehingga tidak lagi dapat menginfeksi dan bereplikasi dalam kultur sel. Beberapa variabilitas yang ditemukan dalam pengujian ini disebabkan perbedaan interpretasi hasil (Shamala, 2015).

PRNT dapat mendeteksi "riwayat infeksi" spesifik dari seorang individu, yaitu serotipe yang telah menginfeksi individu tersebut. Meskipun sangat kuat sebagai metode diagnostik, PRNT sulit dikembangkan, memerlukan biaya tinggi dan membutuhkan keahlian dan elemen seperti virus dan sel yang semuanya penting untuk mendapatkan hasil yang benar dan sebanding. Dengan demikian, tes PRNT terutama untuk penelitian dan studi vaksin (Castellanos, 2014).

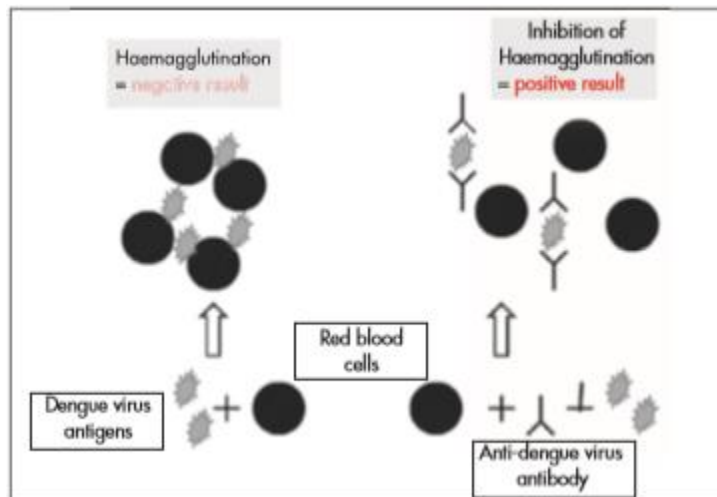
### **5. Haemagglutination-Inhibition (HI)**

Metode ini telah digunakan untuk waktu yang lama dan memungkinkan hasil yang sensitif dan spesifik. Tes ini menggunakan kemampuan antigen *dengue* untuk mengikat dan mengaglutinasi sel darah merah (RBC). *Hemagglutination Inhibition Assay* (HI) terdiri dari campuran pengenceran serum pasien dengan antigen DENV dan ditempatkan dalam kontak dengan eritrosit. Serum pasien yang mengandung antibodi DENV akan menghambat aglutinasi, sebagaimana diukur dalam tes HI. Hasilnya dilaporkan sebagai pengenceran terakhir yang menghambat aglutinasi. Respons terhadap infeksi primer ditandai dengan elevasi rendah dan lambat pada titer antibodi HI,

sementara selama infeksi *dengue* sekunder, titer antibodi HI meningkat dengan cepat, biasanya melebihi 1:1280. Sebuah titer  $\geq$  1:1280 sangat sugestif terhadap infeksi *dengue*. Sebuah titer  $\geq$  1:1280 merupakan indikasi infeksi saat ini atau yang sangat baru. Tiga bulan setelah infeksi, titer antibodi HI turun dan assay HI akan memberikan hasil di bawah 1:640. Secara optimal, tes HI membutuhkan

sepasang serum untuk mengkonfirmasi infeksi baru (WHO, 2011; Girsang, 2015; Shamala, 2015).

Pemeriksaan HI memakan waktu yang cukup lama dan mahal untuk dilakukan karena memerlukan manipulasi sebelumnya pada serum, beberapa pengenceran serum, dan antigen DENV murni harus diproduksi dengan konsentrasi dan kualitas yang berbeda (WHO, 2011).



**Gambar 2. Metode Haemagglutination-inhibition (HI) (WHO, 2011)**

### E. RDT (*Rapid Test Diagnosis*)

Metode RDT dikembangkan untuk memenuhi kebutuhan akan metode diagnosis cepat infeksi virus *dengue*. Format hasil dari metode RDT adalah pencapaian hasil yang cepat berdasarkan perubahan warna yang terlihat dengan mata telanjang dalam waktu 10-15 menit. RDT untuk deteksi infeksi virus *dengue* merupakan salah satu cara yang praktis untuk deteksi antibodi (IgM dan IgG) anti *dengue*, pada serum akut dan tidak memerlukan pasangan sera fase akut dan konvalesen. Alat ini merupakan pengembangan uji ELISA, namun bedanya dengan ELISA adalah ikatan *sandwich* (antigen-antibodi 1-antibodi 2-*peroxidase*) terjadi *in situ* di atas kertas strip nitroselulose, dan perubahan warna yang terjadi dapat dilihat dengan mata biasa, tidak memerlukan alat bantu baca khusus. Metode ini lebih mudah, lebih cepat bila dibandingkan dengan uji ELISA, serta dapat dilakukan pada semua situasi dan

tempat. Dengan dideteksinya IgM dan IgG secara simultan, atau secara sendiri-sendiri, dapat diperkirakan sebagai kejadian infeksi sekunder atau primer, sehingga alat ini lebih tepat digunakan untuk para klinisi (Shamala, 2015).

Selain *rapid test* dengan metode *chromatography*, sejumlah penelitian telah mengevaluasi beberapa *dengue rapid diagnostic test* (RDTs). RDT yang umum digunakan adalah Duo IgM dan IgG Rapid Test Strip (Panbio), Boline *Dengue* IgG/IgM (Diagnostik standar), VScan (Minerava), Smartcheck (GlobaleMed), *Denguecheck*-WB (Tulip), and *Dengue* IgG/IgM (Core). Umumnya RDT menggunakan sampel fase akut dalam pengujiannya. Akurasi diagnostik dari tes tersebut belum dapat dipastikan, namun hasil akurasi sensitivitas yang diklaim produsen berkisar antara 76-100% dan spesifisitas sekitar 99%. Sebaliknya hasil yang berbeda diklaim secara independent bahwa sebagian besar



RDT tidak sesuai untuk diagnosis infeksi virus *dengue* karena memiliki sensitivitas dan spesifisitas yang buruk (WHO, 2011; Girsang, 2015; Gyawali, 2017; Castellanos, 2014).

## KESIMPULAN

Infeksi virus *dengue* merupakan salah satu penyakit infeksi berbahaya di dunia. Luasnya distribusi geografis dari infeksi virus *dengue* membuat *The World Health Organization* (WHO) mengklasifikasikan infeksi virus ini sebagai masalah kesehatan internasional. Infeksi virus *dengue* disebabkan oleh virus *dengue* yang merupakan *arbovirus*, genus *Flavivirus* dalam family *Flaviviridae*.

Hingga saat ini vaksin yang protektif serta terapi yang spesifik untuk infeksi virus *dengue* belum tersedia, sehingga pengelolaan pasien infeksi virus ini hanya berupa terapi suportif. Oleh karena itu, diagnosis infeksi virus *dengue* yang tepat dan efisien sangat membantu dalam manajemen pasien dan merupakan langkah penting dalam mencegah penyebaran infeksi virus *dengue*. Diagnosa terhadap infeksi virus *dengue* dapat dilakukan dengan melakukan pemeriksaan klinis yang harus ditunjang dengan diagnosa laboratorium dengan isolasi virus, deteksi genom virus, deteksi antigen virus serta uji serologis untuk mendeteksi adanya antibodi anti *dengue*.

## DAFTAR PUSTAKA

- Barthel, A., Gourinat, A.C., Cazorla, C., Joubert, C., Dupont-Rouzeyrol, M., Descloux, E. (2013). Breast milk as a possible route of vertical transmission of *dengue* virus?. *Clin Infect Dis*, 57(3): 415-17.
- Castellanos, J.E. (2014). *Dengue* disease diagnosis : a puzzle to be solved. *Rev. Fac. Med*, 62(4): 617-29.
- Cucunawangsih, Lugito, N.P.H. (2017). Trends of *dengue* disease epidemiology. *Research Gate*, 8: 1-6.
- Girsang, D.K., Kusumawati, A. (2015). Perkembangan teknik diagnosa virus *dengue*. *Universitas Gajah Mada. Yogyakarta*, 54-62.
- Gyawali, N., Robinson, A.W.T. (2017). Diagnosis of *dengue*: strengths and limitations of current techniques and prospects for future improvements. *Intech. Dengue - Immunopathology and Control Strategie*, 56-73.
- Indrawan, M.A., Muhyi, A., Leatemia, L.D. (2018). Gambaran hasil pemeriksaan serologis IgM dan IgG *dengue* pada anak penderita demam berdarah *dengue* berdasarkan lama hari demam di RSUD Abdul Wahab Sjahranie Samarinda. *Jurnal Kedokteran Mulawarman*, 5(2): 23-31.
- Nugraheni, E., Sulistyowati, I. (2016). Diagnosis molekular virus *dengue*. *JK Unila*, 1(2): 385-92.
- Shamala, D.S. (2015). Laboratory diagnosis of *dengue*: A review. *The International Medical Journal Malaysia*, 1(14):17-28.
- Subedi, D., Robinson, A.W.T. (2014). Laboratory diagnosis of *dengue* infection: Current techniques and future strategies. *Scientific Reasearch*, (4); 63-70.
- World Health Organization. (2011). *Dengue Guidelines for Diagnosis, Treatment, Prevention and Control*. New Edition, World Health Organization: Geneva, Switzerland.