



## KESESUAIAN HASIL PEMERIKSAAN RT PCR, RDT NS1, DAN RDT IgM PASIEN PENYAKIT DENGUE

Paisal<sup>1\*</sup>, Mukhlis Zuardi<sup>2</sup>, Reni Herman<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Balai Litbang P2B2 Tanah Bumbu, Jl. Lokalitbang Gunung Tinggi, Tanah Bumbu, 72271, Indonesia. <sup>2</sup> Loka Litbang Biomedis Aceh, Jl. Sultan Iskandar Muda Lrg. Tgk. Dilangga No. 9, Aceh Besar, 23371, Indonesia. <sup>3</sup> Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan, Jl. Percetakan Negara No. 23, Jakarta, 10560, Indonesia  
*e-mail*: paisal.zain@gmail.com

**Abstract:** The incidence of dengue disease in the world is estimated at 390 million cases per year. In Indonesia, during 2013 there were 35-40 cases per 100.000 population, with a mortality rate of 0.73%. This study aimed to determine the suitability and the percentage of RT-PCR, RDT NS1, and RDT IgM detection examination. Samples were obtained from hospitals in Aceh province during 2012. The research samples reached 100 collected samples, it was only 82 samples that fulfill the analysis criteria. Cohen's Kappa test result showed there was moderate suitability between RT-PCR and RDT NS1 ( $K=0,404$ ,  $p = 0,000$ ), and weak suitability between RT-PCR began RDT IgM ( $K=0,139$ ,  $p = 0,046$ ). While the percentage of detection for RT-PCR, RDT NS1, dan RDT IgM were 16%, 10%, and 60%. RDT IgM is the best alternative for laboratory examination in the hospital.

**Keywords:** dengue; laboratory examination

**Abstrak:** Insiden penyakit dengue di seluruh dunia diperkirakan sebesar 390 juta kasus per tahun. Di Indonesia, selama 2013 terjadi 35-40 kasus per 100.000 penduduk, dengan angka kematian sebesar 0,73%. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kesesuaian dan prosentase deteksi pemeriksaan RT-PCR, RDT NS1, dan RDT IgM. Sampel diperoleh dari rumah sakit di Provinsi Aceh selama tahun 2012. Sampel penelitian mencapai 100 sampel yang terkumpul, hanya 82 sampel yang memenuhi kriteria untuk dianalisis. Hasil uji Cohen's Kappa, diperoleh kesesuaian sedang antara RT PCR dengan RDT NS1 ( $K=0,404$ ,  $p = 0,000$ ), dan kesesuaian lemah antara RT PCR dengan RDT IgM ( $K=0,139$ ,  $p = 0,046$ ). Sedangkan prosentase deteksi untuk RT-PCR, RDT NS1, dan RDT IgM berturut-turut adalah 16, 10, dan 60 persen. RDT IgM merupakan alternatif pilihan terbaik bagi pemeriksaan laboratorium di rumah sakit.

**Kata kunci:** dengue; pemeriksaan laboratorium

## PENDAHULUAN

Penyakit dengue merupakan penyakit endemis di lebih dari 100 negara tropis dan subtropis. Negara-negara yang banyak yang terkena adalah yang terletak di Asia Tenggara dan Pasifik Barat (Tsai et al., 2009). Insiden penyakit dengue di seluruh dunia diperkirakan 390 juta kasus per tahun, dan yang bermanifestasi secara klinis sekitar 96 juta (Bhatt et al., 2013).

Di Indonesia, kasus infeksi dengue pertama kali dilaporkan terjadi di Jakarta dan Surabaya pada 1968 (Soedarmo, 1994). Insiden dengue semakin meningkat dari tahun ke tahun. Pada tahun 1968, insidennya adalah 0,05/100.000 naik menjadi 35-40/100.000 pada 2013. Walaupun insiden meningkat, angka kematian cenderung menurun, yaitu 41% pada 1968 menjadi 0,73% pada 2013 (Karyanti et al., 2014)

Penyakit dengue disebabkan oleh virus dengue. Virus ini termasuk ke dalam genus *flavivirus*, famili *Flaviviridae*. Virus dengue dikenal memiliki empat jenis serotipe, yaitu DENV1, DENV2, DENV3, dan DENV4.

Virus dengue ditularkan melalui gigitan nyamuk *Aedes aegypti* dan *Aedes albopictus*. Nyamuk ini menggigit di siang hari dan berkembang biak di air bersih.

Infeksi oleh salah satu serotipe akan mencetuskan kekebalan jangka panjang khusus untuk serotipe tersebut. Tetapi, infeksi berikutnya dari serotipe yang lain dapat menyebabkan penyakit dengan gejala klinis yang parah. Fenomena ini terjadi diduga karena adanya mekanisme *Antibody-dependent Enhancement* (Nielsen, 2009).

Masa inkubasi penyakit dengue sekitar 3 sampai 7 hari. Setelah itu muncul gejala yang terbagi menjadi tiga fase. Fase pertama adalah fase demam. Pada fase ini terjadi peningkatan suhu tubuh lebih dari 38,5°C disertai gejala sakit kepala, muntah, nyeri otot, dan nyeri sendi.

Fase pertama berlangsung 3 sampai 7 hari. Fase kedua adalah fase kritis. Fase ini biasanya terjadi pada hari ke-4 sampai dengan hari ke-7 perjalanan penyakit. Pada fase kritis terjadi kebocoran pembuluh darah yang ditandai dengan hemokonsentrasi, hipoproteinemia, efusi pleura, dan asites. Tidak semua pasien dengue mengalami fase kritis. Fase ketiga adalah fase penyembuhan. Pada fase ini, pembuluh darah yang bocor membaik seperti sebelum sakit dan gejala demam dan gejala penyerta lainnya menghilang. Fase

penyembuhan berlangsung cukup singkat, yaitu 48 – 72 jam (Simmons, Farrar, van Vinh Chau, & Wills, 2012).

Sejak masa inkubasi sampai mulai muncul demam, jumlah virus dengue semakin meningkat. Selain itu, produk virus yaitu protein NS1 (*non structural 1*) juga turut meningkat seiring dengan bertambahnya jumlah virus. Menjelang akhir masa demam sekitar hari ke-6 dan ke-7, jumlah virus dan protein NS1 semakin berkurang sebelum akhirnya menghilang sama sekali (Peeling, Artsob, & Pelegrino, 2010).

Berbeda halnya dengan antibodi IgM yang muncul sebagai reaksi terhadap keberadaan virus dengue. Pada awal perjalanan penyakit, antibodi ini hampir tidak terdeteksi. Baru setelah hari ke-3 sampai hari ke-5, antibodi terdeteksi pada 50% pasien, hari ke-6 terdeteksi pada 80% pasien dan pada hari ke-10 terdeteksi pada 99% pasien (WHO, 2009).

Secara laboratorium, virus dengue dapat dideteksi menggunakan teknik isolasi virus dan deteksi materi genetik dengan *reverse transcriptase polymerase chain reaction* (RT-PCR). Sedangkan protein NS1 dapat dideteksi dengan teknik *lateral flow* menggunakan *rapid diagnostic test* (RDT NS1). Antibodi IgM juga dapat dideteksi dengan teknik *lateral flow* dengan *rapid diagnostic test* (RDT IgM). Penelitian ini bertujuan untuk menentukan tingkat kesesuaian antara pemeriksaan RDT IgM, RDT NS1, dan RT-PCR dan menentukan prosentase deteksi ketiga pemeriksaan tersebut.

## BAHAN DAN METODE

Jenis penelitian survey analitik. Penelitian dilakukan di rumah sakit yang berada di Provinsi Aceh pada 2012.

Populasi penelitian adalah semua responden yang memiliki gejala klinis infeksi dengue yang berobat di rumah sakit (WHO, 2009). Sedangkan jumlah responden adalah sebesar 100 orang. Setelah dilakukan pengecekan data responden, maka ada 18 responden yang tidak lengkap datanya dan dikeluarkan dari analisis. Pemilihan responden dengan cara mengambil semua responden yang memenuhi kriteria gejala klinis infeksi dengue yang berobat di rumah sakit sampai tercapai 100 responden. Bahan yang diambil dari responden adalah darah vena. Sedangkan sampel yang diperiksa adalah serum dari darah vena tersebut.

**Pengambilan Darah**

Darah vena yang diambil adalah bagian dari darah yang digunakan untuk pemeriksaan rutin rumah sakit. Jumlah darah vena untuk penelitian ini adalah 1-2 ml. Darah vena tersebut disentrifuse dengan kecepatan 1500 rpm selama 15 menit pada suhu ruang. Serum yang didapatkan berkisar 500 – 1000 µl. Sebagian serum dilakukan pemeriksaan RDT IgM dan RDT NS1. Sebagian lagi disimpan pada suhu -20°C untuk keperluan pemeriksaan RT PCR.

**Pemeriksaan IgM**

Pemeriksaan IgM dilakukan menggunakan *Rapid Diagnostic Test* IgM. Sebanyak 3 tetes serum diteteskan ke sumur sampel, lalu ditambahkan 2 tetes larutan buffer. Dibiarkan sekitar 15 menit lalu hasil pemeriksaan dibaca. Jika muncul dua garis merah pada lajur periksa IgM, maka hasil pemeriksaan dianggap positif. Tetapi jika hanya satu garis merah pada kedua lajur periksa maka hasil dianggap negatif.

**Pemeriksaan RDT NS1**

Prosedur pemeriksaan protein NS1 menggunakan RDT NS1 (*Rapid Diagnostic Non Structural* 1). Caranya yaitu dengan pipet *disposable*, sebanyak 3 tetes serum dimasukkan ke dalam sumur sampel yang bertanda S. Dibiarkan selama 15-30 menit, lalu hasil pemeriksaan dibaca. Jika muncul dua garis merah, maka hasil pemeriksaan positif, tetapi jika hanya satu garis merah, hasil pemeriksaan dianggap negatif.

**Pemeriksaan RT-PCR**

Pemeriksaan RT-PCR (*Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction*) dilakukan dalam 3 tahap (Paisal et al., 2015). Tahap pertama adalah isolasi RNA virus dengue dari serum menggunakan kit isolasi RNA. Tahap kedua adalah amplifikasi RNA virus dengue (Lanciotti, Calisher, Gubler, Chang, & Vorndam, 1992). Secara singkat, salinan cDNA dari kapsid dan prM diperoleh dengan cara amplifikasi menggunakan dua primer konsensus (D1 dan D2) yang akan menempel pada keempat jenis serotipe dengue. Setelah itu, dilakukan amplifikasi kedua dengan empat primer spesifik (TS1, TS2, TS3, TS4) untuk masing-masing serotipe. Tahap ketiga adalah elektroforesis. Bahan yang dilektroforesis adalah hasil amplifikasi kedua. Elektroforesis menggunakan gel agarose 1% yang diwarnai dengan ethidium bromide. Interpretasi hasil elektroforesis adalah DENV1 jika panjang pita DNA 482 bp, DENV2 119 bp, DENV3 290 bp dan DENV4 392 bp.

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

Penelitian ini diikuti oleh 82 orang responden. Jumlah responden menurut jenis kelamin, baik laki-laki dan perempuan cukup berimbang. Sedangkan menurut umur, lebih dari setengah responden berusia di bawah 30 tahun (Tabel 1).

Tabel 1. Karakteristik Responden

Karakteristik Responden	Total	
	n	%
1. Jenis Kelamin (n=82)		
1 Laki-laki	37	45
2 Perempuan	45	55
2. Umur (n=82)		
1 ≤ 20 tahun	30	37
2 21 - 30 tahun	19	23
3 31 - 40 tahun	17	21
4 41 - 50 tahun	8	10
5 51 - 60 tahun	7	8
6 > 60 tahun	1	1

Dari 82 sampel yang memenuhi kriteria penyakit dengue secara klinis, pemeriksaan RDT IgM mendeteksi paling banyak, dan sebaliknya pemeriksaan RDT NS1 yang mendeteksi paling sedikit (Tabel 2).

Tabel 2. Hasil Pemeriksaan Sampel

Pemeriksaan	Sampel Positif (n=82)	%
RT PCR*	13	16
RDT NS1**	8	10
RDT IgM	49	60

\* Dari 13 sampel yang positif RT PCR, 11 sampel juga positif RDT IgM

\*\* Dari 8 sampel yang positif RDT NS1, semuanya juga positif RDT IgM

Untuk mengetahui kesesuaian (*agreement*) antara pemeriksaan RT PCR dengan RDT NS1, dan RT PCR dengan RDT IgM dalam menegakkan diagnosis penyakit dengue, dilakukan uji Cohen's Kappa. Untuk pemeriksaan RT PCR dengan RDT NS1 ditemukan kesesuaian dengan tingkat sedang (K=0,404, p = 0,000). Sedangkan untuk pemeriksaan RT PCR dengan RDT IgM hanya memiliki kesesuaian yang sangat kecil (K=0,139, p = 0,046).

Tabel 3. Kesesuaian Antara Pemeriksaan RT PCR dengan RDT NS1 dan RDT IgM

Pemeriksaan	RT PCR		Total	Kappa	p
	Positif	Negatif			
<b>RDT NS1</b>				0,404	0,000
Positif	5	3	8		
Negatif	8	66	74		
Total	13	69	82		
<b>RDT IgM</b>				0,139	0,046
Positif	11	38	55		
Negatif	2	31	27		
Total	13	69	82		

Penelitian memperoleh hasil kesesuaian yang sedang antara pemeriksaan RT PCR dan RDT NS1 dan kesesuaian yang lemah antara RT PCR dan RDT IgM (Tabel 3).

Kesesuaian sedang antara RT PCR dan RDT NS1 disebabkan karena dua pemeriksaan ini mendeteksi dua hal yang meningkat secara paralel, yaitu virus dengue dan protein NS1. Pemeriksaan RT PCR dapat mendeteksi sampel positif virus dengue yang diambil sejak hari pertama sakit sampai hari ketujuh. Setelah hari ketujuh, pemeriksaan RT PCR cenderung memberikan hasil negatif (Grobusch, Niedrig, Göbels, Klipstein-Grobusch, & Teichmann, 2006). Sedangkan RDT NS1 dapat mendeteksi protein NS1 sejak hari pertama dan kemampuan deteksi mencapai puncak pada hari kedua sampai keempat dan kemudian terus menurun (Pal et al., 2014).

Ditinjau dari prosentase pendeteksian, kemampuan RT PCR lebih tinggi dibandingkan RDT NS1 (Tabel 2). Beberapa penelitian sebelumnya juga menyebutkan bahwa sensitivitas RT PCR lebih tinggi dibandingkan dengan RDT NS1 (Tricou et al., 2010). Deteksi pemeriksaan terhadap NS1 diketahui menurun pada infeksi sekunder akibat adanya antibodi yang terbentuk pada infeksi sebelumnya.

Sedangkan kesesuaian lemah antara RT PCR dan RDT IgM terjadi akibat kedua pemeriksaan ini mendeteksi bahan yang peningkatannya berbeda menurut waktu. RDT PCR mendeteksi virus dengue yang meningkat pada awal penyakit dan kemudian menghilang setelah beberapa hari. Sebaliknya, antibodi IgM baru terbentuk dan terdeteksi pada hari keempat atau kelima sejak munculnya demam dan kadarnya terus meningkat sampai beberapa minggu berikutnya (Sa-NGasang et al., 2006).

Ditinjau dari prosentase deteksi, kemampuan RDT IgM mendeteksi infeksi dengue jauh lebih tinggi dibandingkan dengan RT

PCR maupun RDT NS1 (Tabel 2). Hal ini terjadi kemungkinan karena responden baru berobat setelah beberapa hari dihitung dari hari pertama munculnya demam. Gejala yang tidak jelas pada awal penyakit sering menyebabkan responden menunda waktu untuk mencari pengobatan di rumah sakit.

Diantara ketiga pemeriksaan, yang paling praktis digunakan di lapangan adalah RDT NS1 dan RDT IgM. RT PCR membutuhkan biaya yang mahal, alat yang canggih, dan pemeriksa yang terlatih. Oleh karena itu, RT PCR lebih cocok digunakan di laboratorium yang besar.

Dari penelitian ini, semua hasil RDT NS1 juga positif pemeriksaan RDT IgM. Oleh karena itu, pemeriksaan RDT IgM saja sudah cukup untuk membantu diagnosis infeksi dengue. Tetapi beberapa literatur menyebutkan bahwa kombinasi RDT IgM dengan RDT NS1 dapat meningkatkan kemampuan deteksi dibandingkan jika digunakan masing-masing (Blacksell et al., 2011). Tetapi jika kedua pemeriksaan tersebut dilakukan, biaya akan bertambah.

## KESIMPULAN

Kesesuaian pemeriksaan RT PCR dengan RDT NS1 berada pada tingkat sedang ( $K=0,404$ ,  $p = 0,000$ ). Kesesuaian pemeriksaan RT PCR dengan RDT IgM berada pada tingkat lemah ( $K=0,139$ ,  $p = 0,046$ ). Prosentase deteksi pemeriksaan RT PCR 16%, RDT NS1 10%, RDT IgM 60%

## SARAN

RDT IgM merupakan alternatif pilihan terbaik bagi pemeriksaan di rumah sakit.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Kami mengucapkan terima kasih kepada Dinas Kesehatan dan Rumah Sakit Daerah di Kota Banda Aceh, Kota Lhokseumawe, Kabupaten Aceh Barat, dan Kabupaten Simeulue atas bantuannya dalam pelaksanaan penelitian.

## DAFTAR PUSTAKA

Bhatt, S., Gething, P. W., Brady, O. J., Messina, J. P., Farlow, A. W., Moyes, C. L., & William, G. R. (2013). The global distribution and burden of dengue. *Nature*, *496*, 504–507.

- Blacksell, S. D., Jarman, R. G., Bailey, M. S., Tanganuchitcharnchai, A., Jenjaroen, K., Gibbons, R. V., & ... Day, N. P. J. (2011). Evaluation of six commercial point-of-care tests for diagnosis of acute dengue infections: The need for combining NS1 antigen and IgM/IgG antibody detection to achieve acceptable levels of accuracy. *Clinical and Vaccine Immunology*, 18(12), 2095–2101.
- Grobusch, M. P., Niedrig, M., Göbels, K., Klipstein-Grobusch, K., & Teichmann, D. (2006). Evaluation of the use of RT-PCR for the early diagnosis of dengue fever. *Clinical Microbiology and Infection*, 12(4), 395–397.
- Karyanti, M. R., Uiterwaal, C. S., Kusriastuti, R., Hadinegoro, S. R., Rovers, M. M., & Heesterbeek, H., ... Bruijning-Verhagen, P. (2014). The changing incidence of Dengue Haemorrhagic Fever in Indonesia: a 45-year registry-based analysis. *BMC Infectious Diseases*, 14(1), 412.
- Lanciotti, R. S., Calisher, C. H., Gubler, D. J., Chang, G. J., & Vorndam, A. V. (1992). Rapid detection and typing of dengue viruses from clinical samples by using reverse transcriptase-polymerase chain reaction. *Journal of Clinical Microbiology*, 30(3), 545–551.
- Nielsen, D. G. (2009). The relationship of interacting immunological components in dengue pathogenesis. *Virology Journal*, 6(211).
- Paisal, Herman, R., Arifin, A.Y., Ardiansyah, A., Hanum, S., Khairiah, & Zuardi, M. (2015). Serotipe virus dengue di Provinsi Aceh. *Aspirator*, 7(1), 7-12.
- Pal, S., Dauner, A. L., Mitra, I., Forshey, B. M., Garcia, P., & Morrison, A. C., ... Wu, S. J. L. (2014). Evaluation of dengue ns1 antigen rapid tests and elisa kits using clinical samples. *PLoS ONE*, 9(11).
- Peeling, R., Artsob, H., & Pelegrino, J. (2010). Evaluation of diagnostic tests: dengue. *Nature Reviews*, 8(12), S30–S37.
- Sa-Ngasang, A., Anantapreecha, S., A-Nuegoonpipat, A., Chanama, S., Wibulwattanakij, S., & Pattanakul, K., ... Kurane, I. (2006). Specific IgM and IgG responses in primary and secondary dengue virus infections determined by enzyme-linked immunosorbent assay. *Epidemiology and Infection*, 134(4), 820–825.
- Simmons, C. P., Farrar, J. J., van Vinh Chau, N., & Wills, B. (2012). Dengue. *New England Journal of Medicine*, 366(15), 1423–1432.
- Soedarmo, S. P. (1994). The epidemiology, prevention and control of dengue hemorrhagic fever in Indonesia. *Gaoxiang Yi Xue Ke Xue Za Zhi = The Kaohsiung Journal of Medical Sciences*, 10, S109–S112.
- Tricou, V., Vu, H. T. T., Quynh, N. V. N., Nguyen, C. V. V, Tran, H. T., & Farrar, J., ... Simmons, C. P. (2010). Comparison of two dengue NS1 rapid tests for sensitivity, specificity and relationship to viraemia and antibody responses. *BMC Infectious Diseases*, 10(142).
- Tsai, J. J., Chan, K. S., Chang, J. S., Chang, K., Lin, C. C., & Huang, J. H., ... Lin, C. Y. (2009). Tsai, J. J., Chan, K. S., Chang, J. S., Chang, K., Lin, C. C., Huang, J. H., ... Lin, C. Y. (2009). Effect of serotypes on clinical manifestations of dengue fever in adults. *Journal of Microbiology, Immunology, and Infection = Wei Mian Yu Gan Ran Za Zhi*, 42(6), 471–478.
- WHO. (2009). *Laboratory Diagnosis and Diagnostic Tests. In Dengue: Guidelines for Diagnosis, Treatment, Prevention and Control*. Geneva.