

HUBUNGAN ANTARA UJI ANTIGEN NON STRUCTURAL 1 (NS1) DENGAN KEJADIAN TROMBOSITOPENIA PADA KASUS DEMAM DENGUE (DD)/DEMAM BERDARAH DENGUE (DBD) DIRUMAH SAKIT ARI CANTI, GIANYAR, BALI TAHUN 2016

Ni Wayan Ari Anindita Sari¹, I Wayan Putu Sutirta Yasa²

1. Fakultas Kedokteran Universitas Udayana, 2. Departemen Patologi Klinik RSUP Sanglah-Universitas Udayana

Corresponding author : Ni Wayan Ari Anindita Sari

arianindita158@gmail.com

ABSTRAK

Demam dengue (DD)/demam berdarah dengue (DBD) merupakan penyakit yang disebabkan virus dengue dan disebarkan melalui gigitan nyamuk *Aedes aegypti*. Pada DD/DBD terjadi kelainan hematologi seperti penurunan kadar trombosit di bawah normal (trombositopenia) yaitu <150.000 terkait infeksi virus dengue. Pada kondisi ini, apabila pasien tidak segera tertangani dapat jatuh ke kondisi *dengue shock syndrome*. Adanya suatu uji NS1 antigen sebagai *rapid diagnostic test* kasus DD/DBD, maka penurunan trombosit yang terjadi dapat diperkirakan dan ditangani lebih dini. Penelitian bertujuan untuk mengetahui hubungan hasil uji NS1 antigen terhadap kejadian trombositopenia pada DD/DBD. Rancangan penelitian analitik dengan pendekatan *cross-sectional*. Subjek dikelompokkan menjadi 2 yaitu kelompok pasien dengan hasil uji NS1 antigen positif 599 subjek dan hasil uji NS1 antigen negatif 176 subjek. Kemudian dilakukan penghitungan jumlah pasien yang sudah maupun tidak mengalami trombositopenia dari masing-masing kelompok subjek yang didapatkan dari hasil rekam medis pasien. Hasil menunjukkan jumlah pasien dengan hasil uji NS1 antigen positif dan trombositopenia sebanyak 564(94,2%) pasien, tidak trombositopenia sejumlah 35(5,8%) pasien. Pasien hasil uji NS1 antigen negatif dan trombositopenia sebanyak 78(44,3%) pasien, tidak trombositopenia 98(55,7%) pasien. Berdasarkan hasil analisis uji *chi-square* dengan tingkat kemaknaan 5% diperoleh $p=0,001$, tingkat nilai keeratan hubungan 0,554. Disimpulkan, adanya hubungan signifikan ($p<0,05$) antara hasil uji NS1 antigen terhadap kejadian trombositopenia pada subjek yang diteliti dengan tingkat keeratan hubungan sedang (0,40-0,599). Arah hubungan kedua variabel positif artinya apabila terdapat hasil uji NS1 antigen positif maka risiko trombositopenia semakin tinggi.

Kata Kunci : demam dengue, demam berdarah dengue, trombositopenia, *dengue shock syndrome*, *rapid diagnostic test*, NS1 antigen.

ABSTRACT

Dengue fever (DD) / dengue hemorrhagic fever (DHF) is a disease caused by dengue virus and is spread through the bite of *Aedes aegypti* mosquito. In DD / DBD hematologic abnormalities such as decreased platelet levels <150.000 (thrombocytopenia) associated with dengue virus infection. In this condition, if the patient is not handled immediately they can fall into dengue shock syndrome condition. The presence of an NS1 antigen test as a rapid diagnostic test for DD / DHF, can be used to

estimate decrease of platelet level so it can be handle earlier. This study aim to know the correlation between NS1 antigen on the occurrence of thrombocytopenia in DD / DBD. An analytical cross-sectional with data collected from medical records. Subjects were grouped into 2 group with positive result NS1 antigen test, 599 subjects and the negative result of NS1 antigen test 176 subjects. Result calculated as the number of patients who have or do not have thrombocytopenia from each group. The results showed the number of patients with positive antigen NS1 and thrombocytopenia are 564 (94.2%) patients, normal thrombocyte count of 35 (5.8%) patients. Patients of NS1 negative antigen and thrombocytopenia were 78 (44.3%) patients, 98% of patients did not have thrombocytopenia (55.7%). Based on the results of Chi Square test analysis with significance level of 5% obtained $p=0.001$, the level of the closeness value of the relationship 0.554. It was concluded that there was a significant correlation between NS1 antigen on the occurrence of thrombocytopenia.

Keywords: dengue fever, dengue hemorrhagic fever, thrombocytopenia, dengue shock syndrome, rapid diagnostic test, NS1 antigen.

Pendahuluan

Demam dengue (DD) atau demam berdarah dengue (DBD) merupakan penyakit yang disebarkan melalui serangga yang paling umum terjadi di daerah tropis termasuk Indonesia. Kasus DD/DBD dikatakan telah menyebar di hampir keseluruhan provinsi di Indonesia dengan incidence rate yang meningkat dari 0,005 per 100.000 penduduk (1994) menjadi 43,42 per 100.000 penduduk pada akhir tahun 2005 (Bima Valentino, 2012). Provinsi Bali me (DD/DBD) dengan angka insiden menempati urutan keempat setelah DKI Jakarta, Kalimantan Barat dan Kalimantan Timur dengan *Incidence Rate* 0,77/100.000 penduduk dan *Case Fatality Rate* 29,4% per tahunnya (Subagia, 2013).

Virus yang menyebabkan DD/DBD adalah virus dengue, dari famili *Flaviridae* dan genus *Flavivirus*, yang terdiri dari 4 serotipe yaitu DENV1, DENV2, DENV3 dan DENV4. Virus ini ditularkan ke manusia melalui gigitan nyamuk yang terinfeksi, khususnya nyamuk *Aedes aegypti* (Kemenkes 2011). Setelah virus dengue masuk ke dalam tubuh manusia melalui gigitan nyamuk, virus dengue akan menuju organ sasaran yaitu sel kuffer hepar, endotel pembuluh darah, nodus limpaticus, sumsum tulang serta paru-paru untuk menggunakan organel sel di sekitar sana dan berkembang biak. Virus selanjutnya akan dilepaskan dan akan membentuk kompleks dengan infeksi virus yang selanjutnya akan mengaktifasi dan memproduksi IL-1, IL- 6, *tumor necrosis factor-alpha* (TNF-a), *platelet activating factor* (PAF) yang mengakibatkan terjadinya peningkatan infeksi virus dengue (Aryu Candra, 2010; Soegijanto, 2002). TNF-a sendiri akan menyebabkan kebocoran dinding pembuluh darah, merembesnya cairan plasma ke jaringan tubuh yang disebabkan kerusakan endotel pembuluh darah sehingga dapat memicu terjadinya kebocoran plasma dan perdarahan (Gibson, 2010). Setelah

terjadi infeksi, akan terjadi perubahan trombosit pasien akibat adanya penurunan produksi trombosit, pengambilan platelet oleh kompleks imun-virus dengue serta destruksi trombosit yang meningkat (Sutirta Yasa, 2012). Jumlah trombosit pada pasien mulai menurun pada awal fase demam namun masih dalam batas normal. Jumlah trombosit terus menurun hingga mengalami trombositopenia (PLT <150.0000) mulai hari ke 3 demam dan mencapai titik terendah pada hari ke 5/6 onset demam. Pada hari ke 7 jumlah trombosit akan kembali meningkat dan mulai hari ke 9 atau 10 jumlah trombosit mencapai normal kembali (Martina, 2009).

NS1 adalah suatu glikoprotein *non structural* yang sangat *conserved* dengan berat molekul 46-50 kD. NS1 diperlukan untuk kelangsungan hidup dan replikasi virus namun belum diketahui dengan pasti aktivitas biologisnya. NS1 dihasilkan dalam 2 bentuk yaitu *membrane associated* (mNS1) dan *secreted form* (sNS1). NS1 ditemukan berikatan dengan organel-organel intrasel atau ditransfer melalui jalur sekresi ke permukaan sel selama proses infeksi terjadi (Santosh, 2013). Reaksi silang antara antibodi virus dengue, terutama antibodi anti NS1 dengan sel dari endotel dan PLT (platelet/trombosit) dapat dijadikan dasar dari hipotesis terjadinya trombositopenia. Hal ini umumnya terjadi pada fase akut pasien DD/DBD. Dikatakan bahwa PLT akan mengekspresikan suatu molekul permukaan spesifik yang dikenal sebagai auto antibodi oleh anti NSI, khususnya pada regio C terminal dari NS1 (Chen, 2011). Antibodi anti NS1 yang bereaksi silang dengan sel endotel akan memicu aktivasi NO (*nitric oxide*) dan apoptosis. NO yang diproduksi dalam jumlah berlebihan akan menyebabkan kerusakan sel endotel yang memicu terjadinya kebocoran vaskular (Martina, 2009).

Uji Antigen NS1 merupakan salah satu uji laboratorium spesifik yang dapat digunakan dalam

diagnosis DD/DBD. Jenis sampel yang dapat digunakan untuk pemeriksaan dengue NS1 antigen adalah serum atau plasma (Novriani, 2009). Menurut penelitian sebelumnya, hasil validasi deteksi NS1 menunjukkan *sensitivitas* dan *spesifisitas* yang tinggi (89,4% dan 91,4%). NS1 disekresi oleh semua serotipe virus dengue, baik serotipe virus 1,2,3 dan 4. Dengan Uji NS1 antigen maka diagnosis dapat ditegakkan pada fase akut infeksi primer maupun sekunder onset demam hari 1 hingga hari ke 3. Sehingga diharapkan dengan deteksi NS1 antigen diagnosis DBD dapat ditegakkan lebih dini (Chen, 2011; Aryati, 2009). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui hubungan hasil uji NS1 antigen terhadap kejadian trombositopenia pada DD/DBD.

Bahan dan Metode

Penelitian ini dilakukan pada bulan Januari- Juni 2016 dengan menggunakan rancangan penelitian analitik dengan pendekatan *cross-sectional* yang dilakukan dengan melihat data pasien yang tercatat pada rekam medis RS Ari Canti Gianyar, Bali. Data rekam medis pasien yang tidak lengkap, pasien dengan penyakit penyerta seperti penyakit jantung, penyakit gagal ginjal kronis, penyakit paru kronis dan penyakit hati kronis, pasien yang dalam riwayat pengobatan mengonsumsi obat – obat yang dapat mendeprasi sumsum tulang atau mengencerkan darah, pasien yang memiliki riwayat penyakit kelainan darah dan pasien dengan penyakit koinsiden lain seperti *Japanese encephalitis* dan malaria di eksklusi dari penelitian ini. Sampel diambil menggunakan teknik *consecutive sampling* dimana seluruh subjek selama periode penelitian yang memenuhi kriteria diambil secara berurutan sebagai sampel sampai memenuhi jumlah sampel yang diperlukan. Jumlah sampel minimal yang penelitian ini perlukan adalah 97 sampel. Data kemudian di analisis dengan *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS) secara *univariat* untuk menggambarkan karakteristik subjek penelitian, serta memaparkan jumlah hasil uji NS1 antigen positif maupun negatif dan jumlah pasien yang mengalami trombositopenia ataupun tidak saat uji NS1 antigen tersebut dilaksanakan. Analisis *bivariat* dilakukan dengan uji hipotesis yang ditampilkan dalam tabel *chi-square*. Korelasi antar variabel diuji dengan *pearson correlation* jika distribusi data normal. Namun jika didapatkan distribusi yang tidak normal maka uji korelasi menggunakan uji *spearman correlation*. Uji korelasi akan menghasilkan nilai r. Penelitian ini sudah memiliki kelaikan etik dengan no surat yaitu, 514/UN.14.2/Litbang/2016 dengan nomor protocol 292.01.1.2016 dari Unit Penelitian dan

Pengembangan Fakultas Kedokteran Universitas Udayana/Rumah Sakit Umum Pusat Sanglah.

Hasil

Ditemukan bahwa golongan usia pasien terbanyak adalah >9 tahun (kategori dewasa; 95,1%). Jenis kelamin laki-laki mendominasi dibandingkan perempuan (56,5% vs 43,5%). Hasil uji NS1 antigen positif ditemukan pada 77,3% pasien dan NS1 negatif 22,7%. Sebanyak 82,8% pasien memiliki kadar trombosit <150.000/mm³ dengan rata-rata kadar trombosit pasien 87.00/mm³.

Tabel 1. Analisis Univariat Pasien DD/DBD di RS Ari Canti, Gianyar pada Periode Januari- Juni 2016

Variabel		F	(%)
Jenis	Laki-Laki	438	56,5
Kelamin	Perempuan	337	43,5
Usia	0 hr – 9 th	38	56,5
	> 9 th	737	4,9
Status	Positif	599	77,3
Antigen	Negatif	176	22,7
NS1			
Status	Trombositopenia	642	82,8
Trombosit	Non-Trombositopenia	133	17,2

Keterangan: Trombositopenia <150.000/mm³

Berdasarkan analisis *bivariate* ditemukan bahwa 599 pasien infeksi virus dengue dengan status NS1 positif, sebagian besar mengalami trombositopenia (94,2%). Sedangkan pada hasil uji NS1 negatif 55,7%-nya tidak mengalami trombositopenia. Hasil analisis *chi-square* menunjukkan adanya hubungan yang signifikan antara hasil uji NS1 antigen terhadap kejadian trombositopenia pasien DD/DBD di Rumah Sakit Ari Canti Gianyar, Bali periode Januari-Juni 2016 (p=0,001). Hasil uji antigen NS1 dan trombositopenia memiliki korelasi sedang dengan nilai r=0,554. Adapun arah hubungan dari kedua variabel ini adalah positif artinya apabila terdapat hasil uji NS1 antigen positif maka risiko untuk terjadinya trombositopenia pada pasien tersebut semakin tinggi.

Tabel 2. Hubungan Hasil Uji NS1 Antigen Terhadap Kadar Trombosit Pasien DD/DBD di Rumah Sakit Ari Canti Gianyar, Bali periode Januari-Juni 2016

	Trombositopenia (+) (%)	Trombositopenia (-) (%)	Total	P	r ²
NS1	N	N	N	0,001	0,554

NS1 (+)	564 (94,2)	35 (5,8)	599 (100)
NS1 (-)	78 (44,3)	98 (55,7)	176 (100)
Total	642 (82,8)	133 (17,2)	775 (100)

Keterangan: Trombositopenia <150.000/mm³

Pembahasan

Sebagian besar pasien infeksi virus dengue di Rumah Sakit Ari Canti Gianyar, Bali periode Januari-Juni 2016 termasuk dalam kategori dewasa. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian oleh Rosmila di Kelurahan Tamamaung Kecamatan Panakukang yang menunjukkan bahwa 30,2% penderita DD/DBD tergolong dewasa dan 8,3% yang tergolong balita dan anak. Penyakit demam berdarah memiliki kecenderungan kenaikan proporsi kelompok dewasa. Hal ini dikaitkan dengan tingkat aktivitas pada kelompok usia dewasa cukup tinggi, sehingga hal ini di asumsikan dapat menurunkan kekebalan tubuh dan menyebabkan tingkat keterpaparan dengan penyakit demam berdarah dengue juga cukup tinggi jika dibandingkan dengan anak-anak (Wahyuni & Sabir, 2011).

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pasien sebagian besar berjenis kelamin laki – laki yaitu. Hasil penelitian ini sedikit berbeda dengan penelitian Sari bahwa responden yang berjenis kelamin perempuan lebih banyak yaitu 50,9% dan yang berjenis kelamin laki-laki sebanyak 40,4% (Sari dkk, 2015). Sebuah studi yang menganalisa perbedaan karakteristik jenis kelamin pada penderita DD/DBD menunjukkan bahwa dari 700 sampel, juga menunjukkan jumlah sampel perempuan yang mendominasi yaitu sebesar 62,3%, dan dikatakan lebih banyak memiliki hasil antigen NS1 yang positif ($p < 0,0001$) terkait dengan lebih parahnya manifestasi klinik infeksi dengue pada perempuan, sedangkan penderita pria justru cenderung memiliki hasil antibodi IgM yang positif ($P < 0,0001$) (Chakarvati dkk, 2016). Sebenarnya kedua jenis kelamin memiliki kesempatan yang sama untuk terpapar infeksi dengue, namun secara teori sebenarnya perempuan memiliki risiko lebih tinggi karena perempuan lebih banyak beraktivitas di dalam rumah yang merupakan habitat umum *Aedes aegypti* (Wahyuni & Sabir, 2011). Pada penelitian ini, sesungguhnya jumlah laki-laki dan perempuan tidak berbeda terlalu jauh (438 vs 337), lebih tingginya jumlah laki-laki dibandingkan perempuan pada penelitian harus diteliti lebih lanjut

untuk mencari penyebabnya.

Penelitian ini menunjukkan bahwa pasien dengan status antigen NS1 positif lebih banyak dibandingkan dengan yang memiliki status negatif. Hal ini menunjukkan bahwa NS1 dapat digunakan sebagai salah satu indikator diagnosis infeksi virus dengue yang bahkan dapat dideteksi pada awal onset demam yaitu hari 1-3 onset demam karena protein NS1 bersirkulasi dalam konsentrasi tinggi dalam darah pasien selama awal fase akut, baik pada infeksi primer maupun sekunder (Chen, 2011). Meskipun demikian, hasil penelitian ini terlihat bertolak belakang dengan penelitian Rosiani, dkk pada tahun 2013 mengenai karakteristik hasil uji NS1 pada pasien yang diduga demam berdarah dengue di laboratorium RSU Surya Husada periode Mei sampai Oktober tahun 2013. Hasil NS1 positif lebih sedikit (18,18%) dibandingkan dengan hasil NS1 negatif (81,81%). Hal ini terkait dengan belum banyaknya pasien yang mengetahui mengenai uji NS1 antigen dan yang bersedia untuk melakukan pemeriksaan NS1 sehingga pasien-pasien hanya melakukan uji NS1 pada saat demam di fase lanjut (demam diatas hari ke 3) dan justru menunjukkan hasil positif pada pemeriksaan IgM dan IgG (Rosiani dkk, 2013). Hasil pemeriksaan trombosit pada penelitian ini menunjukkan bahwa lebih dari setengah sampel memiliki status trombositopenia. Dengan melakukan analisis *chi-square*, ditemukan bahwa kejadian trombositopenia memiliki korelasi yang signifikan secara statistik dengan status positif pada uji antigen NS1. Hasil ini sesuai dengan penelitian RD Kulkani pada tahun 2011 mengenai hubungan antara kejadian trombositopenia dengan beberapa marker serologi infeksi virus dengue seperti NS1 antigen, IgM dan IgG. Dimana dari 130 kasus dengan NS1 positif didapatkan 103 sampel (79,2%) mengalami trombositopenia dengan kadar trombosit dibawah normal yaitu <150.000/mm³ ($P < 0,001$) (Kulkani dkk, 2011). Studi dari Sivajrao dkk juga mendukung hasil ini dengan mengungkapkan bahwa pada pasien dengan hasil positif pada pemeriksaan NS1, cenderung terdapat trombositopenia ($p < 0,001$). Pada pasien dengan NS1 positif, 89,28%nya memiliki nilai platelet <100.000/ml sedangkan pada pasien dengan nilai NS1 negatif, hanya 36,6% yang memiliki status trombositopenia (Sivajrao dkk, 2013). Hasil negatif uji NS1 pada pasien dengan trombositopenia mungkin dapat disebabkan karena NS1 bergantung kepada jumlah virus yang menginfeksi, durasi infeksi. Apabila jumlah virus yang menginfeksi tidak banyak, dan durasi infeksi cukup lama, maka antibodi akan mengikat antigen NS1, membentuk imun kompleks dan kemudian dimusnahkan (Jyothi dkk, 2015).

Batasan Studi

Penggunaan data sekunder berupa rekam medis sangat tergantung oleh ketersediaan dan kelengkapan pencatatan rekam medis. Onset demam sulit diketahui dengan pasti pada rekam medis sehingga memungkinkan adanya data hasil uji NS1 antigen *false negative*.

Simpulan

Terdapat hubungan signifikan antara status hasil uji antigen NS1 positif dengan kejadian trombositopenia. Uji antigen NS1 akan memainkan peran penting pada diagnosis awal DD/DBD, serta membantu memperkirakan penurunan trombosit sehingga perencanaan tatalaksana dapat dibuat dengan lebih baik.

Daftar Pustaka

- Chakravati A, Roy P, Malik S, dkk. *A Study on Gender Related Differences in Laboratory Characteristics of Dengue Fever*. Brief Comm, 2016;34(1):82-84
- Chen MC, Lin FC, Lei HY, Lin SC, Liu HS, Yeh TM, dkk. *Deletion of the CTerminal Region of Dengue Virus Nonstructural Protein 1 (NS1) Abolishes Anti-NS1-Mediated Platelet Dysfunction and Bleeding Tendency*. ExpBiolMed, 2011;236:515-23
- Gibson RV. *Dengue Conundrums*. International Journal of Antimicrobial Agents, 2010;Vol 36(26-39)
- Jyothi P, Metri B. *Correlation of Serological markers and platelet count in the diagnosis of dengue virus infection*. Adv Biomed Res, 2015;4:26
- Kenyem Subagia, dkk. *Lingkungan dalam ramah, mobilitas dan riwayat kontak sebagai determinan kejadian demam berdarah dengue di Denpasar tahun*. PublicHealth and Preventive Medicine Archive, 2013
- RD Kulkarni, SS Patil, GS Ajantha, AK Upadhya, AS Kalabhavi, RM Shubhada, PC Shetty, PA Jain. *Association of platelet count and serological markers of dengue infection-importance of NS1 antigen*. Ind J of Med Microb, 2011;29(4): 359-362
- Santosh Shivajirao Tathe, dkk. *A study of NS1 antigen and platelet count for early diagnosis of dengue infection*. Int J Curr Microbiol App Sci, 2013;2(12):40-44
- Subdirektorat Pengendalian Arbovirolosis-Dit PPBB-Ditjen PP dan PL, Kementerian Kesehatan RI. *Penggunaan Rapid Diagnostic Test (RDT) untuk Penunjang Diagnosis dini DBD*. Kemenkes RI, 2011
- Sutirta Yasa, Gede Agus Eka Tirta Putra, Ana Rahmawati. *Trombositopenia Pada Demam Berdarah Dengue*. MEDICINA, 2012;43:114-21

Tricou Vianney, Vu Hang, Nguyen Chau, dkk. *Comparison of two dengue NS1 rapid test for sensitivity, specificity, and relationship to viraemia and antibody responses*. BMC Infect Dis, 2010;10:142

Wahyuni R.D, Sabir M. *Karakteristik Penderita Demam Berdarah Dengue (DBD) di Rumah Sakit Wahidin Sudirohusodo Makassar Periode Januari-Desember 2010*. Inspirasi, 2011;16(2):13-19

WHO. *Dengue: Guidelines for Diagnosis, Treatment, Prevention and Control*. New Edition. Geneva: World Health Organization, 2009