

DISERTASI

MANIFESTASI KLINIS, PROFIL, SEROLOGIS DAN GENOTIP VIRUS CAMPAK DI JAWA

(Suatu Pendekatan Serologis dan Epidemiologi Molekuler)



HARSONO SALIMO

**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2006**



**MANIFESTASI KLINIS, PROFIL, SEROLOGIS
DAN GENOTIP VIRUS CAMPAK
DI JAWA**

(Suatu Pendekatan Serologis dan Epidemiologi Molekuler)

DISERTASI

**Untuk memperoleh Gelar Doktor
dalam Program Studi Ilmu Kedokteran
Pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga
Telah dipertahankan di hadapan
Panitia Ujian Doktor Terbuka
Pada hari : Kamis
Tanggal : 16 Nopember 2006
Pukul 10.⁰⁰ WIB**

Oleh :

**HARSONO SALIMO
NIM : 090214897 D**

LEMBAR PENGESAHAN

**DISERTASI INI TELAH DISETUJUI
TANGGAL 23 NOVEMBER 2006**

Oleh

Promotor



**Prof Dr H Soegeng Soegijanto, dr, SpA(K), DTM&H
NIP 140047022**

Ko-Promotor I



Prof Soetjipto, dr, MS, PhD

Ko-promotor II



Prof Kuntoro, dr, MPH, DR, PH

**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2006**

PENETAPAN PANITIA PENGUJI

Telah diuji pada

Tanggal : 24 Agustus 2006

PANITIA PENGUJI DISERTASI

Ketua	Prof. Retno Handajani, dr, MS, PhD
Anggota	1 Prof. Dr. Soegeng Soegijanto, dr, SpA(K), DTM&H
	2 Prof. Soetjipto, dr, MS, PhD
	3 Prof. Kuntoro, dr, MPH, Dr. PH
	4 Prof. Dr. Djauhar Ismail, dr, SpA(K)
	5 Dr. F. M. Judajana, dr, SpPK(K)
	6. Dr. Felix Abdul Rantam, drh



**Ditetapkan dengan Surat Keputusan
Rektor Universitas Airlangga
No : 6073/JO3/PP/2006
Tanggal : 28 Agustus 2006.**

UCAPAN TERIMA KASIH

Bismillahirrahmanirrahim

Assalamu'alaikum warohmatullohi wabarokatuh

Perkenankanlah saya dengan menyebut nama Allah yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang, memanjatkan rasa syukur atas segala limpahan taufiq dan hidayah-Nya yang tiada terhingga, karena hanya dengan perkenan-Nya, saya mendapat petunjuk dan kekuatan untuk menyelesaikan penelitian dan penulisan disertasi ini. Banyak tantangan dan hambatan saya alami dalam menyelesaikan disertasi ini, namun berkat bantuan, bimbingan, saran serta dorongan dari berbagai pihak, semuanya alhamdulillah dapat di atasi. Untuk itu, dengan segala kerendahan hati, perkenankanlah saya menghaturkan rasa terima kasih yang tulus dan tiada terhingga kepada yang terhormat :

Prof Dr H Soegeng Soegijanto, dr, SpA(K), DTM&H sebagai guru besar di bidang Ilmu Kesehatan Anak, selaku promotor beliau telah memberikan bimbingannya sehingga saya bisa melewati jenjang pendidikan tertinggi. Beliau senantiasa mendorong saya, memberikan waktu dan memberi bimbingan dengan penuh kesabaran serta meningkatkan rasa percaya diri saya. Dari beliau saya mendapat wawasan keilmuan bagaimana seharusnya seorang ilmuwan bersikap dan mengamalkan ilmunya sesuai dengan tanggung jawabnya kepada Allah SWT , sampai saya menyelesaikan Program Pendidikan Doktor di Program Pascasarjana Universitas Airlangga. Semoga Allah SWT senantiasa melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya serta melipat gandakan pahala-Nya kepada beliau.

Prof Soetjipto, dr, MS, PhD sebagai guru besar di bidang Ilmu Biokimia. Selaku ko-promotor beliau senantiasa memberikan ilmu dan menyediakan waktu serta membimbing saya dengan penuh kesabaran untuk senantiasa berpandangan kedepan

mengikuti ilmu yang saya tekuni. Selain itu, beliau sebagai Ketua Kelompok Studi Hepatitis telah mengizinkan saya untuk memanfaatkan semua fasilitas di *Laboratorium Tropical Disease Center* untuk pemeriksaan laboratorium penelitian saya. Semoga Allah SWT membalasnya dengan pahala yang berlipat ganda.

Prof Kuntoro, dr, MPH, DR PH sebagai guru besar di bidang Ilmu Kesehatan Masyarakat. Selaku ko-promotor beliau menyediakan waktu untuk berkonsultasi dan selalu mendorong saya untuk bersikap sebagai ilmuwan dan mengamalkan ilmunya. Semoga pula Allah SWT memberikan pahala yang berlipat ganda.

Pada kesempatan ini pula perkenankan saya menyampaikan rasa terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

Rektor Universitas Airlangga, Prof Dr H Fasich, Apt, dan mantan rektor Universitas Airlangga, Prof Dr Med H Puruhito, SpB TKV, yang telah menerima dan memberi kesempatan kepada saya untuk mengikuti Program Pendidikan Doktor di Program Pascasarjana Universitas Airlangga sampai selesai.

Direktur Program Pascasarjana Universitas Airlangga, Prof Dr H M Amin, dr, SpP(K) beserta seluruh staf dan pimpinan Program Pascasarjana atas diberikannya kesempatan dan diterimanya saya menjadi mahasiswa Program Pendidikan Doktor, serta selalu mendorong saya untuk menyelesaikan pendidikan di Program Pascasarjana Universitas Airlangga.

Ketua Program Studi Kedokteran Program Pascasarjana Universitas Airlangga, Prof Dr H Mandoyo Rukno, drg, MSc, SpKG, dan mantan Ketua Program Studi Kedokteran, Prof Dr Juliati Hood Alsagaff, dr, MS, SpPA, FIAC, yang telah mengarahkan, membimbing dan membantu kelancaran proses pendidikan sehingga saya dapat menyelesaikan studi Pendidikan Program Doktor Universitas Airlangga

Prof Retno Handajani, dr, MS, PhD sebagai guru besar di bidang Ilmu Biokimia. Selaku konsultan di bidang pemeriksaan laboratorium beliau dengan tiada henti-hentinya dan dengan penuh kesabaran dan perhatian selalu memberi petunjuk dan bimbingan kepada saya pada waktu pemeriksaan laboratorium dan dengan tekun mengajari kepada saya mengatasi setiap kesulitan dan masalah di Laboratorium Hepatitis *Tropical Disease Center*. Beliau juga memberikan rasa percaya diri bahwa dengan perjuangan dan usaha yang tiada hentinya akhirnya akan memberikan hasil juga. Semoga pula Allah SWT membalas dengan pahala yang berlipat ganda. Juga kepada Ibu Koe Pudjiati dan Saudara Muhammad Amin, S.Si., yang telah mengerjakan semua kegiatan pemeriksaan laboratorium mulai dari pemeriksaan RT-PCR, elektroforesis sampai sekuensing DNA.

Rektor Universitas Sebelas Maret, Prof Dr H.M Syamsulhadi, dr, SpKJ dan mantan Rektor Universitas Sebelas Maret, Prof Haris Mudjiman, Drs, MA, PhD yang telah memberi ijin dan kesempatan kepada saya untuk mengikuti Program Pendidikan Doktor pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga.

Ucapan terima kasih yang tiada terhingga juga saya haturkan kepada Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Dr H AA Subijanto, dr, MS, serta mantan Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret H Admadi Soeroso, dr, SpM, MARS, yang telah memberikan ijin dan kesempatan kepada saya untuk mengikuti Program Pendidikan Doktor di Universitas Airlangga.

Ucapan terima kasih juga saya sampaikan kepada seluruh staf pengajar Program Studi Doktor Ilmu Kedokteran Program Pascasarjana Universitas Airlangga Prof Dr Lasiyo; Widodo J Pudji Rahardjo, dr, MS, MPH, DrPH; Fuad Amsyari, dr, MPH, PhD; Prof Dr Suhartono Taat Putra dr, MS; Prof Soegeng Sockamto Martoprawiro, dr, MS, SpPA PhD (alm.); Siti Pariani, dr, MS, MSc, PhD; Prof H Ari

Gunawan dr, MS, PhD; Aucky Hinting dr, SpAnd, PhD ; Dr FM Judajana, dr, SpPK(K); Dr I Ketut Sodian, Drs, MS; Prof Purnomo Suryohudoyo, dr, SpBK ; Prof Dr Josep Glinka, SVD; Prof Dr L Dyson P, MA; Prof Eddy Pranowo, dr, MPH (alm); Dr F Sustini, MD, MS; Prof Dr HA Zainuddin, Drs, Apt ; Dr Fedik Abdul Rantam, drh, yang telah memberi kuliah, diskusi dan berbagai tugas dalam rangka pendidikan Program Pascasarjana Universitas Airlangga.

Kepada seluruh Tim Penguji pada Program Studi Doktor Ilmu Kedokteran Program Pascasarjana Universitas Airlangga sejak dari ujian kualifikasi, ujian proposal pada tanggal 8 Desember 2004, dan ujian seminar penilaian naskah disertasi pada tanggal 25 Juli 2006: Prof Dr H Soegeng Soegijanto dr, SpA(K), DTM&H; Prof Soetjipto dr, MS, PhD; Prof Kuntoro, dr, MPH, Dr.PH; Prof Retno Handajani, dr, MS, PhD; Prof Dr Djauhar Ismail, dr, SpA(K); Dr FM Judajana, dr, SpPK(K); Prof Moersintowarti BN, dr, MSc, SpA(K); Dr Fedik Abdul Rantam, drh.

Kepada Kepala Bagian/SMF Ilmu Kesehatan Anak FK UNS/RSUD Dr Moewardi Surakarta, Iskandar Zulkarnain, dr, SpA(K) beserta seluruh teman-teman sejawat di Bagian/SMF Ilmu Kesehatan Anak : Dr B Subagyo, dr, SpA(K), Mustarsid, dr, SpA (Ketua Ikatan Dokter Anak Indonesia Komisariat Surakarta). Yulidar H, dr, SpA, Syahrir D, dr, SpA, Soenjataningkamto, dr, SpA, Puji Astuti, dr, SpA, Endang Dewi Lestari, dr, SpA(K), Ganung Harsono, dr, SpA, Rustam Siregar, dr, SpA, Suci Murti Karini, Dra, MSi, Lilianti, dr, SpA, atas dorongan dan pengertiannya dalam berbagai tugas dan memahami kesibukan selama saya mengikuti pendidikan Program Pascasarjana. Juga rasa terimakasih kepada semua peserta program studi PPDS-1 Ilmu Kesehatan Anak FK UNS yang telah banyak membantu saya selama saya mengikuti pendidikan Program Pascasarjana, sekaligus kepada saudara Muhammad, saudari Kus dan saudari Dyah Kusumastuti SH selaku tenaga

administrasi di Bagian/SMF Ilmu Kesehatan Anak FK UNS/RSUD Dr Moewardi Surakarta.

Ucapan terima kasih juga saya sampaikan kepada Kepala Laboratorium GRAMIK Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Prof Dr Doddy Moesbadianto Soebadi, dr., SpB., SpU(K) atas ijin yang diberikan kepada saya untuk menggunakan fasilitas laboratorium yang beliau pimpin.

Rasa terima kasih yang tiada terhingga dan setulus-tulusnya saya sampaikan juga kepada para teman sejawat M Wildan, dr, SpA di RS Dr Oen I Surakarta, Suwito, dr, SpA di Boyolali, Ning Djarwati, dr, SpA di Boyolali, Bambang Sugeng, dr, SpA di Karanganyar, Kusnandi Rusmil, dr, SpA(K), MM (Ketua Unit Kelompok Kerja Tumbuh Kembang Pediatri Sosial Ikatan Dokter Anak Indonesia) di Bandung, Ari Yunanto, dr, SpA(K) di Banjarmasin, Djihad Widodo, dr, SpA di Pasuruan, Prof Sutjningsih, dr, SpA(K) di Denpasar, yang telah memberikan pasiennya kesempatan berpartisipasi dalam penelitian saya. Juga kepada saudari Wulan dan saudari Dessy di Prodia Surakarta yang telah membantu pengelolaan sampel serum penderita, dan ibu Enay beserta stafnya di Prodia Jakarta untuk pemeriksaan laboratorium IgG dan IgM.

Kepada guru saya sejak di Sekolah Rakyat Pawiyatan Daha Kediri, Sekolah Menengah Pertama Negeri II Kediri, Sekolah Menengah Atas Negeri I Kediri, para dosen saya di Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, para dosen saya di Bagian Ilmu Kesehatan Anak Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga saya ucapkan terima kasih dan penghargaan setinggi-tingginya atas didikan dan bimbingannya. Semoga Allah SWT melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya serta menerima sebagai amal solih.

Kepada para alumnus dan teman sekelas saya peserta Program Pendidikan Doktor di Universitas Airlangga saya mengucapkan terima kasih atas kebersamaan berbagi rasa suka dan duka selama pendidikan, meningkatkan motivasi dan berbagi pengalaman dalam keilmuan yang luhur.

Ungkapan rasa terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya saya haturkan kepada almarhum ayah saya Bapak H Salimo dan ibu saya Hj Siti Romlah yang dengan penuh kasih sayang telah membesarkan, mengayomi, mendidik, menempe, mendoakan dan membentuk kepribadian saya sehingga saya mampu menjadi manusia terpelajar dan mampu menyelesaikan Program Pendidikan Doktor. Juga kepada mertua saya almarhum Bapak dr H Abdul Murad Husin dan Ibu Hj Umi Isnaeni yang dengan penuh kasih sayang dan kesabaran telah ikut mendidik dan membentuk pribadi saya. Semoga Allah SWT menjadikan mereka calon penghuni surga-Nya.

Kepada semua saudara kandung dan saudara iparku tercinta : Hj Hartini, drs H Hardio Salimo, Apt. H Sefaham Salimo, Hj Siti Rahayu, Hj Siti Yuhana, Hj Siti Juhani, Ir H Saptowo Salimo, Hj Ismuradiastuti, Ir H. M Husni Murad, Ir M Arifin Murad (alm), Effendi Murad SH, Syamsul Bahri SH, dr Syaiful Murad , Drs H Rusjdan Murad, Dra Hj Ismurida, Ismuradiana, M Syahril Murad SH beserta seluruh keluarga, saya sampaikan hormat saya atas segala dorongan dan doa restunya sehingga saya dapat menyelesaikan pendidikan saya ini. Perkenankanlah juga saya mohon maaf karena kesibukan saya dalam menyelesaikan pendidikan ini terasa mengurangi kesempatan silaturahmi persaudaraan kita.

Kepada ketiga anak tersayang saya, Erlina Damayanti SE, dr Muhammad Riza, Anisa Hapsari SE serta menantu saya, dr Ronny Adhi Nurcahyo, dr Suci Widhiati dan dr. Mujaddid Idulhaq dan cucu saya, Muhammad Naufal Aliefislami, Mahira Khansa

Aishanceqa, Jasmine Amalya Chairunissa, Kaylyn Alzena Rainanisa, dan Muhammad Aqhsal Althafislami, yang telah ikut mendorong, menjadi inspirasi dan membesarkan semangat ayah dan eyangnya untuk menggapai jenjang pendidikan tertingginya, saya sampaikan rasa terima kasih yang tiada terhingga atas segala pengertian kalian, yang selama ini selalu memahami kesibukan ayah serta tidak pernah meminta atau menuntut apapun. Semoga kalian menjadi anak dan cucu yang sholeh dan sholehah, bisa melebihi amal kebaikkan orangtua dan eyangnya, berbakti kepada kedua orangtua, berguna bagi agama, nusa dan masa depan bangsa, selalu ber-amal ma'ruf nahi munkar, serta senantiasa dalam lindungan dan bimbingan Allah SWT.

Kepada isteriku tercinta, Hj Ismuraduliani, saya sampaikan rasa hormat dan terima kasih yang tak ternilai atas segala pengertian, pengorbanan, kesetiaan dan kesabarannya mendorong dan memberi semangat kepada saya sampai keberhasilan saya menyelesaikan Program Pendidikan Doktor

Akhirnya kepada semua pihak, teman sejawat yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu yang telah membantu sampai selesainya Program Pendidikan Doktor saya, saya sampaikan rasa terima kasih yang setulus-tulusnya. Semoga Allah SWT memberikan balasan kebaikan dengan hidayah dan ampunan-Nya.

Wassalamu'alaikum Warohmatullohi Wabarokatuh

RINGKASAN

Manifestasi klinis, profil serologis dan genotip virus campak di Jawa

Penyakit campak sampai saat ini masih merupakan masalah kesehatan di banyak negara, baik di negara yang sudah maju maupun di negara yang sedang berkembang, dan juga merupakan penyakit yang sangat menular diantara penyakit menular lainnya. Sebelum era imunisasi campak, didapatkan sekitar 5,7 juta anak meninggal dunia setiap tahunnya. Dengan dilaksanakannya program imunisasi campak sejak tahun 1963 di Amerika Serikat, angka kesakitan dan angka kematian karena campak menurun dengan drastis sampai 86%. Tetapi sejak 1989 – 2001, angka kesakitan dan angka kematian ini meningkat lagi. Laporan dari WHO tahun 2000 menunjukkan terdapat 1,7 juta kematian yang disebabkan oleh karena penyakit yang dapat dicegah dengan imunisasi (*vaccine-preventable diseases*), 777.000 diantaranya disebabkan oleh campak. Dengan pemberian imunisasi diharapkan akan memberi kekebalan seumur hidup (*life-long immunity*).

Di Indonesia, program imunisasi campak telah dilaksanakan secara nasional sejak 1981. Pada 1997, angka cakupan imunisasi campak tingkat nasional telah mencapai 94%. Akan tetapi sampai saat ini masih sering dijumpai kasus penyakit campak dan masih sering dilaporkan terjadinya letupan wabah maupun Kejadian Luar Biasa (KLB). Banyak anak yang sudah mendapat imunisasi campak tetapi masih bisa terkena penyakit campak, sehingga telah terjadi ketidakberhasilan imunisasi campak. Banyak faktor-faktor yang mempengaruhi terjadinya kegagalan imunisasi campak, yaitu faktor hospes, lingkungan dan *agent*. Dari faktor *agent*, penyebabnya bisa karena pengaruh virus vaksin campak yang dipakai, perlakuan/pendistribusian vaksin (*cold-chain*), dan kemungkinan adanya perbedaan genotip virus campak. Dibeberapa

negara dengan tingkat cakupan imunisasi campak yang tinggi dan sudah tidak didapatkan infeksi campak *indigenus*, masih timbul wabah penyakit campak karena adanya kasus impor.

Telah banyak usaha-usaha yang dilakukan untuk mengurangi angka ketidakberhasilan imunisasi campak ini. Salah satu usaha untuk memberantas penyakit campak ini adalah dengan melakukan penelitian di bidang surveilans laboratorium, dimana salah satu komponennya adalah melakukan kegiatan epidemiologi molekuler. Epidemiologi molekuler mendukung epidemiologi klasik dalam hal mencari sumber impor virus dengan mendapatkan genotip virus campak penderita dibandingkan dengan genotip yang telah beredar dalam suatu negara/wilayah.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui jenis-jenis gejala klinik penderita campak di Jawa, dalam hal ini diwakili penderita campak dari provinsi Jawa Barat, Jawa Tengah dan Jawa Timur. Kemudian dilakukan pemeriksaan serologis dengan metode *ELISA* untuk melihat kadar IgM dan IgG, dan selanjutnya dilakukan pemeriksaan sekuensing DNA dan analisis filogenetik untuk menentukan genotip virus campak.

Penentuan jenis gejala klinik penderita campak dilakukan sesuai dengan kriteria gejala klinik oleh *WHO* tahun 1993, dan dilakukan oleh satu atau dua orang dokter spesialis anak senior/konsultan (SpA[K]). Selanjutnya dilakukan pemeriksaan serologis untuk menentukan IgG dan IgM dengan metode *Anti-Measles viruses ELISA IgG dan IgM (EUROIMMUN- Medizinisch Labordiagnostika AG)*. Pemeriksaan genotip virus campak dilakukan dengan memeriksa serum penderita campak yang diambil dari penderita campak pada hari kedua atau ketiga timbulnya ruam. Kemudian dilakukan ekstraksi RNA, amplifikasi DNA dengan melakukan pemeriksaan RT-PCR dengan primer sesuai yang dianjurkan *WHO* 2005. Selanjutnya dilakukan pemurnian

produk PCR, sekuensing DNA, kemudian analisis filogenetik dan didapatkan genotip virus campak dari penderita tersebut. Ternyata pada waktu mengadakan pemeriksaan untuk mendapatkan genotip virus campak mengalami kesukaran dan hambatan yang cukup memakan banyak waktu. Walaupun pemeriksaan telah dilaksanakan sesuai dengan *Standard Protocols for RT-PCR for Molecular Epidemiology, Measles Virus section, CDC*, tetapi belum bisa memberi hasil. Dengan berbagai usaha dan penggantian primer yang lebih murni dari primer pertama, bisa didapatkan hasil pemeriksaan genotip.

Hasil pemeriksaan jenis gejala klinis menunjukkan adanya jenis campak modifikasi pada 2 bayi golongan umur 5-<9 bulan, pada golongan umur 9 bulan – <6 tahun didapatkan 6 penderita campak klasik dan satu penderita campak modifikasi, dan pada golongan umur 6-13 tahun didapatkan 11 penderita campak klasik dan 3 penderita campak modifikasi. Tidak didapatkan jenis penderita campak atipikal, hemoragis maupun campak pada penderita *immunocompromised*. Hasil pemeriksaan IgG dan IgM terhadap virus campak sangat bervariasi tergantung pada umur penderita, status imunisasi : belum mendapat imunisasi, sudah mendapat imunisasi satu kali (pada umur 9 bulan) atau dua kali pada waktu dilakukan BIAS untuk anak Sekolah Dasar. Pada golongan umur 5-<9 bulan didapatkan 2 bayi dengan IgG(-)/IgM(-) dan satu bayi IgG(+)/IgM(+). Pada golongan umur 9 bulan – <6 tahun didapatkan 1 anak IgG(-)/ IgM(-), 1 anak IgG(+)/IgM(+) dan 5 anak IgG(-)/IgM(+). Sedang pada golongan umur 6-13 tahun didapatkan 2 anak IgG(+)/IgM(+), 5 anak IgG(-)/IgM(+), 7 anak IgG(+)/IgM(-). Pada pemeriksaan genotip virus campak didapatkan dua penderita dari Solo (MV-7-Solo dan MV-16-Solo) dengan genotip D9 dan satu penderita dari genotip G3 (MV-14-Solo) Genotip D9 telah didapatkan oleh WHO dari penderita asal Bali (MVi/Victoria AUS/24.99) dan G3 dari Gresik

(MVI/Gresik.INO/17.02). Satu penderita dari Bandung (MV-25-Bandung) termasuk dalam genotip D9. Oleh WHO telah dinyatakan bahwa di Indonesia beredar genotip G3 dan D9. Sebelumnya, pada tahun 1997 juga telah didapatkan genotip G2 (Mvi/Amterdam.NET/49.97) penderita berasal dari Jakarta. Jadi di Indonesia terdapat 3 genotip, yaitu D9, G2 dan G3. Didapatkan dua penderita dari Solo dengan genotip D9 dan G3, satu penderita dari Pacitan (Jawa Timur) dengan genotip G3 dan satu penderita dari Bandung dengan genotip D9. Dari sampel penderita yang lainnya, walaupun dari pemeriksaan elektroforesis didapatkan adanya *band* (yang menunjukkan keberadaan virus), tapi belum memberikan hasil yang dapat dianalisis genotip virus campak pada pemeriksaan sekuensing DNA. Hal ini kemungkinan karena *primer* yang digunakan tidak bisa melekat pada virus yang bersangkutan karena adanya variasi nukleotida, atau telah terjadi mutasi pada virus. Hal ini terbukti pada salah satu virus (MV-16 Solo) yang mengalami deleksi pada 36 nukleotida pada posisi nukleotida ke 1288 sampai 1324.

Dari penelitian ini dapat disimpulkan adanya variasi gejala klinik campak, baik dari jenis, titer IgG dan IgM-nya. Dari pemeriksaan genotip virus campak didapatkan dua genotip, yaitu genotip D9 dari satu penderita asal Solo dan satu penderita asal Pacitan, dan satu penderita Bandung, dan genotip G3 dari penderita asal Solo. Sampai saat ini ada tiga genotip virus campak di Indonesia, D9, G3 dan G2. Virus campak genotip G2 telah dipublikasi oleh WHO (WHO 2005) dan didapatkan beredar di Indonesia dan Malaysia. Dengan adanya tiga genotip virus campak di Indonesia tersebut, maka seorang anak yang sudah pernah menderita campak, dapat menderita campak lagi apabila ter-infeksi virus campak dengan genotip yang berbeda.

SUMMARY

Clinical manifestations, serologic profiles and measles viral genotypes in Java

Measles still become one of the health issue in most countries and it is the most contagious disease. Before measles immunization era, about 5,7 fatal cases every year were found. Since measles immunization programmed carried out in United States at 1963, the morbidity and mortality rate caused by measles was decreased until 86%. But during 1989-1991, there was an increased of the patients. The 2000 Annual WHO report indicate 1,7 million death caused by diseases which actually can be prevented by immunization (vaccine-preventable diseases), and 777 000 were attributed to measles. Giving immunization expected make life-long immunity.

The measles immunization program in Indonesia was held from 1981. In 1997, the national immunization coverage reached out 94%. However, until now there are still occur many measles disease or measles out break, and there are many children who have had measles immunization still can suffer from measles. There are many factor contributed to the failure of immunization program, that is: host factor, environment factor, and agent factor. The agent factor can be caused by the affect of virus vaccine in measles that used, vaccine procedure or distribution (cold chain), and the possibility of genotype differences in measles virus. In many countries with higher measles immunization coverage with no indigenous measles cases, infection still can be found from the infection caused by imported cases.

There are many effort have been done to minimize this unsuccessful immunization program. One of the effort is to do laboratory measles surveillance, the part of it was to do molecular epidemiology. The molecular epidemiology support

classic epidemiology in finding the source of imported virus, which compare the measles virus genotype patient with genotype in one area/country

The purpose of this research is to find out the clinical measles symptoms and the measles genotype in Java. In this case represented by patients in West Java, Central Java, and East Java. The serologic examination was carried out by ELISA methods to find IgG and IgM level and phylogenetic analysis examination also carried out to determine the measles virus genotypes

The clinical symptoms was determined according to the clinical symptoms criteria by WHO 1993, and examined by one or two senior pediatrician/consultant pediatrician (SpA(K)). The serologic examination carried out to determine IgG and IgM using Anti Measles Viruses ELISA IgG and IgM (EUROIMMUN-Medizinisch Labordiagnostika AG). The genotype measles virus examination conducted by examining measles patient serum which taken from measles patient on day two or three of rash. Then, conducting RNA extraction, DNA amplification by RT-PCR examination using primer according to 2005th WHO recommendation conducting PCR purifying, DNA sequencing, phylogenetic analysis, and genotyping the patient's measles virus. Some difficulty which take a lot of time occurred during the examination to get the measles virus genotype. Even though the examination conducted exactly according to the Standard Protocols for RT-PCR for Molecular Epidemiology, Measles Virus section, CDC, there was still no result. But after replacing first primer (Pro Laboratory) with second primer (Iav Laboratory), the result can be detected.

The result examination on clinical symptoms shows the presence of modified measles on two babies age 5 - <9 month old, on age 9 month - <6 year old shows 6 classic patients and one modified patient, and age 6-13 year there are 11 classic

measles and 3 modified measles. There was no atypical measles patient, hemorrhagic nor measles on immunocompromised patient. The IgG and IgM examination results varied depend on patient's age, immunization status: has not been immunized, once immunized (9 month old) or twice immunized during BIAS (Measles School Immunization Program) for elementary school Age 5 - <9 month shows 2 infants with IgG(-)/IgM(-) and 1 infant with IgG(+)/IgM(+). Age 9 month -<6 year shows 1 child with IgG(-)/IgM(-), 1 child with IgG(+)/IgM(+), and 5 children with IgG(-)/IgM(+). While age 6-13 year shows 2 children with IgG(+)/IgM(+), 5 children IgG(-)/IgM(+), and 7 children IgG(+)/IgM(-). Genotype examination shows 2 patients from Solo genotype D9 and 1 patient genotype G3. Genotype D9 has been found on patient from Bali (MVi/Victoria.AUS/24.99) and G3 has been found on patient from Gresik (MVi/Gresik.INO/17.02) by the WHO. One patient from Bandung included in D9 genotype. WHO publication stated that, genotype G3 and D9 has been circulating in Indonesia. Formerly, on 1997 genotype G2 (MVi/Amsterdam.NEI/49.97) was found in patient from Jakarta. So, in Indonesia there are 3 measles genotypes, D9, G2, and G3. We found 2 patients from Solo with D9, one patient with G3, and one patient from Bandung with genotype D9.

In conclusion, clinical manifestation of measles found on this study was based on the types, the results of the IgG and IgM examination. The result from genotype examination was there are two measles genotypes, D9 genotype in patient from Solo and Bandung, and G3 genotype in patient from Solo. So, there are 3 measles genotype in Indonesia: D9, G3, and G2. G2 genotype has been circulating in Indonesia. Those 3 genotypes can answer the question why children who has had measles with one genotype still can suffer from measles with different genotype.

ABSTRACT

Clinical manifestations, serologic profiles and measles viral genotypes in Java

Measles is one of the most infectious of vaccine-preventable diseases. With measles immunization program, the morbidity and mortality has decreased drastically. Nowadays, outbreaks still occur and children who have had measles still can suffer from measles again

OBJECTIVES. To study the clinical symptoms of the measles patients, the serologic profiles of IgG and IgM and to identify the genotypes of the measles found in Indonesia

METHODS. Examination of the clinical symptoms of 24 measles patients from four provinces in Indonesia (West Java, Central Java, and East Java) were performed during December 2005 until May 2006. The serologic assay to determine their measles-specific IgG and IgM were carried out by using Anti-Measles Viruses ELISA IgG and IgM (EUROIMMUN, Medizinische Labordiagnostika AG). The molecular epidemiological analysis was carried out by identifying measles genotype with RT-PCR using primer as recommended by Standard Protocols for RT-PCR for molecular epidemiology (Measles Virus Section, CDC 2005), electrophoresis, DNA sequencing and phylogenetic analysis of measles viruses.

RESULTS. The results of clinical symptoms examination shows the classic measles on one infant and modified measles on two infants age 5 - <9 month, on age 9 month - <6 year shows six classic measles patients and one modified measles patient, and on age 6-13 year shows eleven classic measles patients and three modified measles patients. IgG and IgM examination results are varied depend on patient's age, and

immunization status. On age 5 - <9 month shows two infants with IgG(-)/IgM(-) and one infant with IgG(+)/IgM(+). On age 9 month -<6 year shows one child with IgG(-)/IgM(-), one child with IgG(+)/IgM(+), and five children with IgG(-)/IgM(+). While on age 6-13 year shows two children with IgG(+)/IgM(+), five children with IgG(-)/IgM(+), and seven children with IgG(+)/IgM(-). Genotype examination shows two patients from Solo with genotype D9 and one patient with genotype G3. One patient from Bandung was genotype D9. According to WHO, in Indonesia there are 3 measles genotypes, D9, G2, and G3.

CONCLUSIONS. There are 2 types of measles clinical symptoms with several level of IgG and IgM, and two measles genotype, D9 and G3. With the presence of three genotypes measles virus in Indonesia, D9, G2 and G3, therefore a child who has had measles can be suffered from measles again.

Keywords : measles genotype D9 G2 G3, RT-PCR measles virus, molecular epidemiology.

DAFTAR ISI

	Halaman
Sampul depan	i
Sampul dalam	ii
Prasyarat Gelar	iii
Persetujuan	iv
Penetapan Panitia Penguji	v
Ucapan terima kasih	vi
Ringkasan	xiii
Summary	xvii
Abstrak	xx
DAFTAR ISI	xxii
DAFTAR TABEL	xxv
DAFTAR GAMBAR	xxvi
DAFTAR LAMPIRAN	xxvii
DAFTAR SINGKATAN, LAMBANG, DAN ISTILAH	xxviii
BAB 1 PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	7
1.3 Tujuan dan Manfaat Penelitian	7
1.3.1 Tujuan Umum	7
1.3.2 Tujuan Khusus	7
1.4 Manfaat Penelitian	8
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Penyakit Campak	9
2.1.1 Batasan	9
2.1.2 Etiologi	10
2.1.3 Patogenesis	12
2.1.4 Gejala Klinik	14
2.1.5 Diagnosis	22
2.1.6 Respons Imun	25
2.1.7 Epidemiologi	27
2.2 Pemberian Imunisasi Campak	30
2.2.1 Pemberian Imunisasi Campak	30
2.2.2 Kegagalan Imunisasi Campak	32
2.2.3 Pemberian Imunisasi Utang Campak	33
2.2.4 Profil serologis infeksi virus Campak	35
2.3 Biologi Molekuler Penyakit Campak	36
2.3.1 Struktur Molekuler Virus Campak	36
2.3.2 Distribusi Global Genotip Virus Campak	43
2.3.3 Variasi Gatur Virus Campak	44
2.3.4 Epidemiologi Molekuler Virus Campak	44
BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL PENELITIAN	51
BAB 4 MATERI DAN METODE PENELITIAN	54
4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian	54

4.2	Populasi dan Sampel Penelitian	54
4.2.1	Populasi	54
4.2.2	Sampel	55
4.2.3	Kriteria sampel	55
4.2.4	Teknik pengambilan dan jumlah sampel	55
4.3	Definisi Operasional variabel	56
4.4	Bahan Penelitian	57
4.4.1	Pengambilan spesimen darah	57
4.4.2	Pemeriksaan gejala klinik	58
4.4.3	Pemeriksaan IgG dan IgM	58
4.4.4	Ekstraksi RNA	58
4.4.5	Amplifikasi cDNA	59
4.4.6	Purifikasi produk PCR	61
4.4.7	Deteksi hasil purifikasi produk PCR dengan elektroforesis	61
4.4.8	Labeling	62
4.4.9	Purifikasi pro sekuensing DNA	62
4.4.10	Sekuensing DNA	62
4.4.11	Homologi dan analisis filogenetik	63
4.5	Instrumen penelitian	63
4.6	Lokasi dan waktu penelitian	64
4.6.1	Lokasi penelitian	64
4.6.2	Waktu Penelitian	65
4.7	Prosedur penelitian	65
4.7.1	Pengambilan sampel darah	65
4.7.2	Pemeriksaan IgG dan IgM spesifik campak (metode <i>ELISA</i>)	66
4.7.3	Pemeriksaan RT-PCR dan sekuensing DNA	67
4.7.3.1	Ekstraksi RNA dari serum	67
4.7.3.2	Sintesis cDNA	68
4.7.3.3	Amplifikasi cDNA dengan PCR first round	69
4.7.3.4	PCR second round	70
4.7.3.5	Deteksi produk PCR second round dengan elektroforesis	70
4.7.3.6	Purifikasi produk PCR	71
4.7.3.7	Deteksi hasil purifikasi produk PCR dengan elektroforesis	72
4.7.3.8	Labeling dengan PCR	73
4.7.3.9	Purifikasi pro sekuensing DNA	74
4.7.3.10	Sekuensing DNA	74
4.8	Homologi dan analisis filogenetik	75
4.9	Kerangka alur penelitian	76
4.10	Bagan pemeriksaan genotip virus campak	77
BAB 5	ANALISIS HASIL PENELITIAN	79
5.1	Jumlah sampel dan asal provinsi	79
5.2	Distribusi umur dan jenis kelamin sampel	80
5.3	Status imunisasi	81
5.4	Hasil pemeriksaan manifestasi klinis	81
5.4.1	Pemeriksaan awal timbulnya gejala panas	81
5.4.2	Jenis manifestasi klinis	82
5.5	Hasil Pemeriksaan IgM dan IgG anti measles	83
5.6	Hasil pemeriksaan PCR dan sekuensing DNA	85
5.7	Hasil analisis filogenetik	90

BAB 6 PEMBAHASAN	93
6.1 Pembahasan	93
6.2 Temuan baru	105
BAB 7 PENUTUP	107
7.1 Kesimpulan	107
7.2 Saran	108
DAFTAR PUSTAKA	110
LAMPIRAN	122



DAFTAR TABEL.

	Halaman
Tabel 2.1 Distribusi global virus campak tipe alam.. .. .	41
Tabel 5.1 Jumlah pasien dan asal provinsi	79
Tabel 5.2 Distribusi umur dan jenis kelamin penderita.	80
Tabel 5.3 Status imunisasi.	81
Tabel 5.4.1 Pemeriksaan awal timbulnya gejala panas	82
Tabel 5.4.2 Jenis manifestasi klinis	83
Tabel 5.5 Hasil pemeriksaan IgG dan IgM.....	83
Tabel 5.6 Hasil PCR penderita.....	86
Tabel 5.7 Hasil pemeriksaan filogenetik	91
Tabel 6.1 Evaluasi manifestasi klinis dengan genotip.. .. .	103
Tabel 6.2 Evaluasi profil serologis dan genotip.. .. .	104



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1	Skema diagram virus campak..... 11
Gambar 2.2	Diagram perjalanan klinik penyakit campak..... 15
Gambar 2.3	Hubungan antara gejala klinik, replikasi virus dan mekanisme respons imun..... 16
gambar 2.4	Penyebaran dan distribusi ruam penderita campak , 19
Gambar 2.5	Genom lengkap virus campak 42
Gambar 2.6	Distribusi genotip virus campak 46
Gambar 3.1	Kerangka konseptual 53
Gambar 4.1	Posisi primer..... 60
Gambar 4.2	Kerangka alur penelitian 76
Gambar 4.3	Ragan pemeriksaan genotip virus campak 77
Gambar 5.1	Hasil pemeriksaan elektroforesis penderita MV-7, MV-14, MV-16, MV-25 dan MV-26 85
Gambar 5.2	Hasil pemeriksaan sekuensing DNA penderita MV-25..... 87
Gambar 5.3	Multiple alignment nukleotida campak penderita MV-7, MV-14, MV-16 dan MV-25. 89
Gambar 5.4	Hasil analisis filogenetik virus campak 90
Gambar 5.5	Peta genotip virus campak. 92
Gambar 6.1	Peta genotip virus campak dengan genotip WHO 103

DAFTAR LAMPIRAN

		Halaman
Lampiran 1	Jadwal pelaksanaan penelitian	122
Lampiran 2	Catatan medis penderita campak... ..	123
Lampiran 3	<i>Ethical clearance</i>	125
Lampiran 4	<i>Informed consent</i>	126
Lampiran 5	Surat Persetujuan Tindakan Medis	127
Lampiran 6	Data sampel penelitian	128
Lampiran 7	Hasil Pemeriksaan Gejala Klinis.	129
Lampiran 8	Jenis komplikasi	130
Lampiran 9	Hasil Pemeriksaan IgG dan IgM	131
Lampiran 10	Hasil Pemeriksaan PCR	132
Lampiran 11	Hasil pemeriksaan sekuensing DNA.....	133
Lampiran 12	Hasil Pemeriksaan <i>Multiple Alignment</i>	134
Lampiran 13	Hasil Pemeriksaan Komputer IgG dan IgM	139
Lampiran 14	Foto penderita campak	146
Lampiran 15	Dokumentasi kegiatan selama penelitian	147



DAFTAR SINGKATAN

A	: <i>Adenine</i>
BBLR	Bayi Berat Lahir Rendah
BIAS	: Bulan Imunisasi Anak Sekolah
bp	<i>base pair</i>
C	<i>Celcius</i>
C	<i>cytosine</i>
CAM-70	<i>Chick embryo Amniotic Membrane-70</i>
CDC	<i>Center for Disease Control and Prevention</i>
cDNA	<i>complementary Deoxyribonucleic Acid</i>
CD4	<i>Cluster Differentiation 4</i>
CFR	: <i>Case Fatality Rate</i>
CFT	<i>Complement Fixation Test</i>
CPE	<i>Cytopathogenic Effect</i>
DNA	<i>Deoxyribonucleic Acid</i>
DDEJ	: <i>DNA Data Bank of Japan</i>
dNTP	: <i>deoxynucleoside triphosphates</i>
DW	: <i>Distilled Water</i>
EDTA	: <i>Ethylene Diamine Tetra Acetic Acid</i>
EIA	: <i>Enzyme Immuno Assay</i>
ELISA	: <i>Enzyme Linked Immunosorbent Assay</i>
EPI	: <i>The Expanded Programme on Immunization</i>
G	<i>Guanine</i>
HI	<i>Hemagglutination Inhibition</i>

HIV	: <i>Human Immunodeficiency Virus</i>
IgG	: <i>Immunoglobulin G</i>
IgM	: <i>Immunoglobulin M</i>
IFN	: <i>interferon</i>
IL - 12	: <i>interleukin 12</i>
kb	: <i>kilo bases</i>
kg	: <i>kilogram</i>
KLB	: <i>Kejadian Luar Biasa</i>
mg	: <i>miligram</i>
ml	: <i>mililitet</i>
µg	: <i>mikrogram</i>
µl	: <i>mikroliter</i>
MHC	: <i>Major Histocompatibility Complex</i>
MIBE	: <i>Measles Inclusion Body Encephalitis</i>
MMR	: <i>Measles Mumps Rubella</i>
MMWR	: <i>Morbidity and Mortality Weekly Reports</i>
mRNA	: <i>messenger ribonucleic acid</i>
MV	: <i>Measles Virus</i>
RNA	: <i>Ribonucleic Acid</i>
rpm	: <i>rounds per minute</i>
PCR	: <i>Polymerase Chain Reaction</i>
RT - PCR	: <i>Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction</i>
SSPE	: <i>Subacute Sclerosing Pan Encephalitis</i>
T	: <i>thymine</i>
TCID₅₀	: Tissue Culture Infectious Dose 50%

- TDC** : *Tropical Disease Center*
- TSR** : *Template Suppression Reagent*
- U** : *uractil*
- UPGMA** : *Unweighted Pair Group Method using Arithmetic average*
- WHO** : *World Health Organization*



BAB 1**PENDAHULUAN****1.1. Latar belakang masalah.**

Penyakit campak sampai saat ini masih merupakan masalah kesehatan pada banyak negara, baik di negara yang sudah maju maupun di negara sedang berkembang, termasuk Indonesia (Cutts 1994, Cutts 1998, Harun 2001, Maldonado 2003). Sebelum era imunisasi campak, didapatkan sekitar 5,7 juta anak meninggal dunia setiap tahunnya (Cutts 1998, MMWR 2002, MMWR 2003). Sejak dilaksanakannya program imunisasi campak pada tahun 1963, angka kesakitan dan angka kematian karena penyakit campak ini menurun dengan drastis sampai 86 %, yaitu dengan didaptkannya angka kematian sebesar 800.000 pertahun pada 1995. Di Amerika Serikat, dari tahun 1989 sampai 1991 didapatkan lebih dari 55.000 kasus campak dan di antaranya menyebabkan kematian pada 147 kasus (MMWR 2004). Pada tahun 2000, data dari *Global Burden of Disease, World Health Organization (GBD-WHO, 2000)* menunjukkan bahwa terdapat 1.7 juta kematian yang disebabkan oleh karena penyakit yang dapat dicegah dengan imunisasi (*vaccine-preventable-diseases*), 777.000 di antaranya disebabkan oleh campak (MMWR 2003). Di Indonesia, Program imunisasi campak telah dilaksanakan secara nasional dan angka cakupan imunisasi campak tingkat nasional telah mencapai 94 % (Harun, 2001; Henao-Restrepo, 2003; Heriyanto, 1999). Angka cakupan imunisasi ini sangat bervariasi antara negara sedang berkembang dengan negara maju, berkisar antara kurang dari 50 % sampai lebih dari 90 %. Demikian juga *case fatality rate* bervariasi antara 0.1 % di negara maju sampai 10-30 % pada suatu wabah di negara berkembang (Bellini, 1998). Akan tetapi sampai saat ini masih sering dijumpai kasus penyakit campak dan masih dilaporkan terjadinya Kejadian Luar Biasa (KLB) campak di

beberapa daerah di Indonesia (Heriyanto 1998, Heriyanto 1999). Banyak anak yang sudah mendapatkan imunisasi campak, tetapi masih bisa terkena penyakit campak (Griffin, 1996; Maldonado, 2003).

Telah dilaporkan terjadinya letupan wabah penyakit campak diberbagai negara (Cutts, 1994, Rota, 1994, Rota, 1995; Jin, 1997, Heriyanto, 1998, El Mubarak, 2000). Di Amerika Serikat, sejak 1987 -1990 telah dilaporkan adanya letupan wabah sebanyak 815 kali, dengan jumlah penderita bervariasi antara 12 kasus sampai 10 670 kasus (Hutchin, 1996). Di Belanda pada tahun 1999-2000 juga telah terjadi epidemi dengan ditemukannya 3292 kasus, 94 % di antaranya belum mendapatkan imunisasi. Tiga pasien meninggal dunia dan 16 % mendapatkan komplikasi (van den Hoff, 2002). Di Jerman, negara-negara Asia Tenggara, dan juga di Indonesia sering terjadi letupan wabah. Pada tahun 2000, diperkirakan terdapat 30 sampai 40 juta kasus campak dan menyebabkan kematian sebesar 777.000. (WHO, 2001) Di Indonesia, walaupun program imunisasi campak yang telah dilaksanakan Departemen Kesehatan telah mencapai angka cakupan imunisasi yang tinggi, yaitu 80 %, tetapi di daerah-daerah terpencil, cakupan tersebut secara keseluruhan belum tercapai. Dari laporan Puskesmas dan Kejadian Luar Biasa (KLB) di wilayah/desa dengan cakupan imunisasi tinggi, ternyata proporsi kasus terkena campak golongan umur 5-14 tahun meningkat. Angka kejadian penyakit campak pada anak yang telah mendapat imunisasi campak cenderung meningkat, 1 % pada tahun 1981, 4,6 % pada tahun 1985 dan 23,3 % pada tahun 1995 (Heriyanto, 1999; Heriyanto 2000). Pada tahun 1970 telah terjadi wabah campak yang cukup serius di pulau Lombok dengan kematian sejumlah 330 anak diantara 12 107 kasus dan di pulau Bangka terdapat sejumlah 65 kematian diantara 407 kasus Kejadian Luar Biasa campak masih sering terjadi, misalnya di Kecamatan Cikeusal, Kabupaten Serang pada tahun 1981, dengan case

fatality rate sebesar 15 %. KLB campak tahun 1998 di Palembang, Madura, Lampung dan Bengkulu terbanyak mengenai kelompok umur 5 – 9 tahun, yaitu berturut-turut 59, 63, 16 dan 25 %

Banyak faktor penyebab ketidak-berhasilan imunisasi campak. Dari faktor *host* bisa disebabkan oleh karena umur bayi pada waktu diberikan imunisasi, status gizi, masih adanya antibodi *maternal* dari ibu pada waktu imunisasi campak diberikan dan pemberian ASI. Dari faktor lingkungan yang berpengaruh adalah keadaan higienitas sanitasi lingkungan, tingkat kepadatan penduduk (*overcrowded*) yang akan menyebabkan mudahnya terjadi penularan, terjadinya wabah KLB dan angka cakupan imunisasi. Sedangkan dari faktor *agent* bisa karena pengaruh virus vaksin campak dimana di Indonesia yang dipakai adalah galur CAM-70, jenis *adjuvant* yang dipakai, perlakuan/pendistribusian *cold-chain* mulai dari tingkat Pusat sampai di tingkat Propinsi, Kabupaten, Puskesmas dan terakhir di Posyandu, dan juga kemungkinan adanya mutasi galur virus campak (Ismail, 1991; Sogijanto, 1992; Heriyanto, 1999; El Mubarak, 2000; Harun, 2001; Maldonado, 2003)

Telah banyak usaha yang dilakukan untuk mengurangi angka ketidak berhasilan imunisasi campak tersebut. Dari faktor *host* telah banyak dilakukan penelitian mengenai kapan umur yang paling optimal untuk pemberian imunisasi. Di satu pihak harus dipertimbangkan risiko tertularnya campak pada usia bayi yang dini dan di lain pihak masih adanya pengaruh antibodi *maternal* yang baru menghilang pada umur 9 – 12 bulan (Maldonado, 2003; Heriyanto, 1999; Yuwono, 2000). Penelitian Heriyanto mendapatkan bahwa variabel bebas yang mempengaruhi status antibodi adalah faktor gizi (Heriyanto, 1999). Dari faktor lingkungan, WHO (WHO, 2000) menyatakan bahwa program imunisasi campak bisa berhasil apabila angka cakupan dalam suatu negara mencapai lebih dari 90 % (Bellini, 1998). Untuk negara maju, angka tersebut

telah tercapai, tetapi untuk negara sedang berkembang belum bisa mencapai angka cakupan tersebut. Sedangkan dari faktor *agent*, belakangan ini banyak peneliti yang telah melaksanakan penelitian mengenai epidemiologi molekuler untuk mengetahui adanya mutasi gen galur virus campak sehingga dapat dilakukan tindakan pencegahan terjadinya wabah agar tidak lebih meluas (Katayama, 1997, Bellini, 1998; Jin, 1998; Chiba, 2000, Harun, 2001, WHO, 2001; WHO, 2001a; El Mubarak, 2002; Christensen, 2002).

Untuk pencegahan dan pemberantasan penyakit campak, WHO menganjurkan dilakukan dua fase berurutan, yaitu fase pengendalian (*control phase*) dan fase pencegahan dan pemberantasan (*outbreak prevention and elimination phase*). Untuk fase pencegahan dan pemberantasan diperlukan peranan laboratorium, yang mempunyai fungsi untuk memonitor dan membuktikan (*verifying*) penularan virus dan memonitor profil suseptibilitas populasi. Pemeriksaan yang dilakukan di laboratorium adalah pemeriksaan serologis, yaitu dengan memeriksa antibodi spesifik campak IgG dan IgM, dan pemeriksaan genotip virus campak. Dengan mendapatkan data jenis genotip virus campak, dapat ditentukan mata rantai penularan penyakit campak disuatu daerah/negara, sehingga upaya pemberantasan dapat dilakukan secara lebih efisien (WHO, 2002)

Penyakit campak disebabkan oleh virus campak. Virus campak ini telah berhasil di-isolasi oleh Enders dan Peebles pada 1954 (Debre, 1970). Virus ini termasuk dalam famili *Paramyxoviruses*, genus *Morbilivirus*, mempunyai sifat genom yang tidak bersegmen, mempunyai diameter besar dan tonjolan pada perimukannya berbeda. Tersusun dari satu untai tunggal *ribonucleic acid (ss-RNA)*. Virus campak mempunyai 6 gen protein utama, yaitu M, F, N, H, P dan L. Selubung luarnya mengandung dua glikoprotein permukaan yang dikenal sebagai protein

hemagglutinine (H) dan protein *membrane fusion (F)* Virus campak secara serologik bersifat monotipik, walaupun galur tipe alam diketahui secara genetik bersifat heterogen dan beberapa genotip telah dapat di-identifikasi. Perbedaan genetik ini merupakan dasar untuk melakukan penelitian dibidang epidemiologi molekuler dari virus campak. Beberapa metode telah di-diskripsi untuk mendapatkan informasi urutan (*sequence information*) setelah dilakukan amplifikasi RT-PCR dari RNA virus campak (Jin et al, 1996).

Rima et al (Rima , 1995) menyatakan bahwa walaupun virus campak adalah monotipik, tetapi terdapat perbedaan dengan adanya epitop spesifik, yang ditentukan dengan ikatan antibodi monoklonal pada virus. Shesberadaran dan kawan-kawan (1983) telah mendemonstrasikan sejumlah galur yang berbeda dalam hal pola pengikatan antibodi monoklonal. Mereka menemukan dalam penelitiannya bahwa protein M dan H mempunyai derajat perbedaan yang paling besar diantara galur, sementara protein P, N and F secara antigenik lebih stabil. Penelitian ini kemudian disusul dengan penelitian di negara lain untuk menemukan galur virus campak yang beredar di negara tersebut.

Rota, dkk (Rota, 2002) menyatakan bahwa salah satu komponen untuk pemberantasan penyakit campak adalah melakukan penelitian dibidang surveilens laboratorium, dimana salah satu komponennya yang penting adalah melakukan karakterisasi genetik virus campak *wild-type*. Informasi genetik ini akan memberikan tambahan yang kuat untuk data standar epidemiologi untuk menentukan pola penyebaran virus campak. Epidemiologi molekuler menyokong epidemiologi klasik dalam hal asal sumber *import* virus campak diketahui dengan mengkonfirmasi genotipe virus yang didapat dengan genotip virus yang telah diketahui beredar dalam suatu negara. Galur prototip (*Edmonston*) dari virus campak yang dipakai untuk

vaksin campak saat ini adalah termasuk dalam genotip A. Dalam penelitian epidemiologi molekuler di Amerika Serikat pada tahun 1997-2001, Rota mendapatkan genotip D6, D5, D4, H1, C2, D2, D3, D7 dan D8 yang beredar di Amerika Serikat. Jin, dkk (Jin et al, 1997) mendapatkan dalam penelitiannya di Inggris adanya virus yang beredar di negara tersebut adalah dari genotip D2, D3, D4 dan C2. Kreis S dalam penelitiannya di Afrika Selatan (Kreis, 1997) mendapatkan genotip C2, D3, D4 dan D5. Di Brazilia, Oliviera dkk (Oliviera, 2002) mendapatkan genotip D5 dan D6. Sedangkan Heriyanto dalam penelitiannya mengenai campak di Jawa dan Luar Jawa (Heriyanto, 1999) mendapatkan genotip virus campak baru yaitu G2 yang ternyata mirip dengan genotip Malaysia G2. Barrero di Argentina (Barrero, 2000) mendapatkan genotip di Argentina adalah C2. Chibo D. dkk melakukan penelitian di Australia (Chibo D., 2000) dan mendapatkan genotip C2, D1, D4, D5 dan H. Penelitian Wairagkar di India (Wairagkar, 2002) mendapatkan genotip D4 dan D8. Di Maroko, pada penelitian analisa genotip, didapatkan genotip C2 (Alla, 2002), sedangkan di Ghana didapatkan genotip B lebih dominan (Hanses, 1999). Di RRC, dengan memakai vaksin yang ada pada saat itu, yaitu Shanghai-191, pada tahun 1999, didapatkan genotip virus campak baru (Xiang, 1983; Xu, 1998; Yan, 2006).

Telah dilakukannya program imunisasi campak yang sudah mencapai cakupan di atas 90%, maka saat ini kasus penyakit campak tidak sering lagi dijumpai. Bila dijumpai, dengan adanya variasi genetik dan penyebaran virus campak dari satu negara ke negara lain, maka didapatkan gambaran klinik penyakit campak yang tidak khas lagi seperti gambaran klinik penyakit campak semula (Griffin, 1996, Ferson, 1995). Atas dasar masih seringnya terjadi wabah penyakit campak yang disebabkan oleh virus campak tipe-alam karena adanya perbedaan genotip dari virus campak tipe-alam tersebut, maka diperlukan pemeriksaan sekuensing DNA, agar dapat dilakukan

usaha yang lebih efisien sehingga pencegahan dan pemberantasan penyakit campak dapat lebih berhasil. Untuk itu perlu dilakukan diagnosis penderita campak yang tepat dan kemudian dilakukan pemeriksaan genotip virus campak tersebut untuk usaha tindakan pencegahan selanjutnya.

Pada penelitian ini akan dilakukan pemeriksaan gejala klinis, profil IgG dan IgM dan jenis genotip virus campak dari penderita campak yang terdapat di Jawa.

1.2. Rumusan masalah.

1. Bagaimanakah manifestasi klinis infeksi virus campak di Jawa ?
2. Bagaimanakah profil serologis penderita campak di Jawa ?
3. Apakah terdapat berbagai genotip virus campak di Jawa ?

1.2. Tujuan dan manfaat penelitian.

1.2.1. Tujuan umum.

1. Untuk mendapatkan gambaran manifestasi klinis infeksi virus campak di Jawa.
2. Untuk mendapatkan gambaran profil serologis penderita campak di Jawa.
3. Untuk mendapatkan data genotip virus campak yang terdapat di Jawa.

1.2.2. Tujuan khusus.

1. Menganalisis manifestasi klinis infeksi virus campak di Jawa.
2. Meng-identifikasi profil IgG dan IgM penderita campak di Jawa.
3. Membuat analisis homologi dan analisis filogenetik untuk mendapatkan data jenis genotip virus campak yang terdapat di Jawa.

1.2.3 Manfaat penelitian.

Dari segi pengembangan ilmu, penelitian ini dapat memberikan kontribusi data mengenai manifestasi gejala klinis, profil serologis IgG dan IgM, dan jenis genotip virus campak yang terdapat di Jawa, sehingga mata rantai penularan penyakit campak dapat lebih dikendalikan baik ditingkat nasional, regional maupun global. Jenis genotip virus campak ini dapat dilaporkan juga kepada *WHO* untuk melengkapi data epidemiologi molekuler virus campak yang telah ada di *WHO*.

Dari segi penerapan, hasil penelitian ini dapat memberi masukan kepada pihak organisasi profesi dalam hal ini Ikatan Dokter Anak Indonesia (IDAI) dan pihak pembuat kebijaksanaan dalam hal ini Departemen Kesehatan untuk dapat mengambil langkah yang lebih tepat dan efisien dalam melaksanakan Program Pemberantasan penyakit campak atau reduksi campak sehingga dapat lebih menurunkan angka kesakitan dan angka kematian akibat penyakit campak, untuk selanjutnya dapat lebih meningkatkan masa depan potensi tumbuh kembang anak Indonesia.

Data penelitian ini juga dapat dipergunakan sebagai pertimbangan untuk penelitian lebih lanjut dalam hal usaha untuk melakukan isolasi virus campak dan pembuatan kandidat vaksin campak yang lebih sesuai dengan genotip virus campak di Indonesia.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Penyakit Campak

2.1.1. Batasan

Penyakit campak adalah penyakit akut yang disebabkan oleh virus campak yang sangat menular dan pada umumnya menyerang anak-anak, ditandai dengan panas, batuk, pilek, konjungtivitis dan adanya spesifik enanthem (*Koplik's spot*), diikuti dengan erupsi makulopapuler yang menyeluruh. Penyakit ini mempunyai tanda-tanda khusus yang terdiri dari empat stadium yaitu 1) stadium masa tunas yang berlangsung antara 10 – 12 hari ditandai dengan beberapa tanda klinis, 2) stadium prodromal ditandai dengan adanya gejala pilek dan batuk yang meningkat, ditemukannya spesifik enanthea (*Koplik's spot*) pada mukosa pipi didepan molar 3, kemudian suhu tubuh makin meningkat, mukosa konjungtiva sedikit meradang, 3) stadium erupsi yang ditandai dengan keluarnya ruam yang dimulai dari belakang telinga menyebar ke wajah, dada, punggung, lengan dan kaki disertai dengan suhu tubuh yang lebih meningkat dan 4) stadium penyembuhan yang ditandai dengan menurunnya suhu tubuh dan ruam menjadi hitam (hiperpigmentasi) dan selanjutnya mengelupas (deskuamasi) (Debre, 1970; Krugman, 1973; Maldonado, 2003).

Sejarah penyakit campak sebetulnya belum lama dimulai dan merupakan penyakit yang relatif baru. Abu Bakar, dari Arab dan dikenal sebagai *Rhazes of Baghdad*, pada abad ke-9 telah membedakan campak dari cacar air. Dia menyebut campak sebagai *hashah*, yang dalam bahasa Arab berarti ruam, dan menyebutnya sebagai modifikasi dari cacar air. Pada kepustakaan Eropa, nama yang dipakai adalah *morbilli*, berasal dari bahasa Italia, yang berarti "penyakit ringan" untuk membedakan dengan penyakit pes, *il morbo*. Kemudian Sauvages pada 1763

mendefinisikan morbilla sebagai *measles*, dan menyebutnya sebagai *rubeola* (berasal dari bahasa Spanyol) (Griffin, 1996)

2.1.2. Etiologi

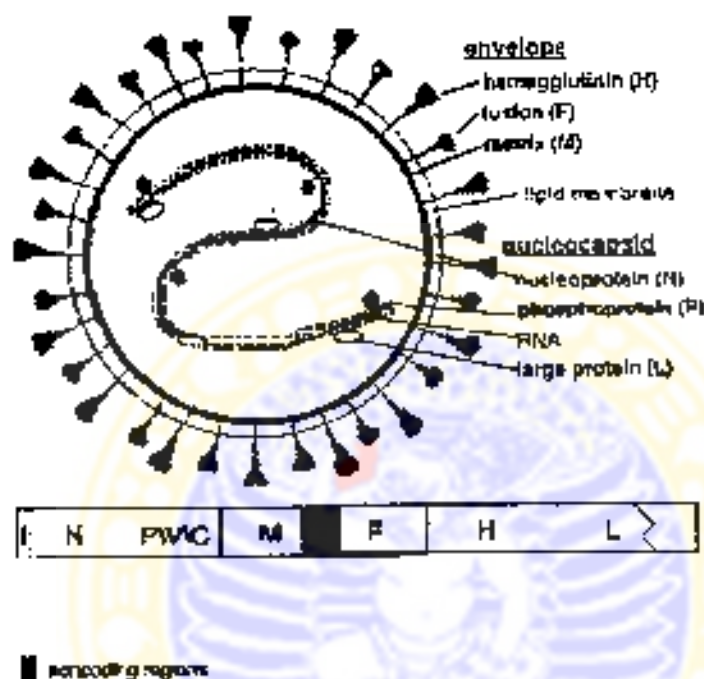
Penyakit campak disebabkan oleh karena virus campak. Virus Campak termasuk didalam famili *paramyxovirus*, yang meliputi empat patogen yang penting pada manusia yaitu : virus Campak, virus parotitis epidemika, virus *respiratory syncytial (RSV)* dan virus parainfluenza. Virus-virus ini mempunyai sifat genomnya tidak bersegmen, mempunyai diameter yang besar dan tonjolan pada permukaannya berbeda

Paramyxovirus tersusun dari untai tunggal (*single stranded*) RNA, nukleokapsid yang berbentuk heliks dengan selubung luar lipoprotein. *Virion*-nya mengandung *RNA dependent RNA polymerase* yang mentranskripsi genom polaritas negatif kedalam mRNA. Jadi genom-nya tidak infeksi. Selubung luar (*envelope*)-nya tertutup dengan beberapa tonjolan (*spikes*), yang mengandung *hemaglutinine*, *neuraminidase*, atau fusi dari protein yang menyebabkan gabungan sel dan dalam beberapa hal tertentu menyebabkan hemolisis

Struktur virus campak. Virus campak terdiri dari RNA dengan bentuk *helix* simetris terdapat dalam suatu selubung. Partikel virus yang berbentuk *spheres* mempunyai diameter antara 1200-2500 A, yang didapat dengan pengukuran filtrasi atau ultrasentrifuse dengan diameter 1400 A. Virus campak terdiri dari nukleokapsid yang panjang terdiri dari RNA dikelilingi oleh satuan struktur protein diatur dalam suatu pola heliks, diameter dari nukleokapsid ini adalah 170 A. Nukleokapsid ini terdapat dalam suatu selubung tebal, dengan tebal sekitar 100 A dengan sejumlah

tonjolan pendek pada permukaannya (Minnich, 1991; Honkaniemi, 1995; Griffin, 1996; Rima, 2001)

Skema diagram dari virus campak dapat dilihat pada Gambar 2.1



Gambar 2.1 Skema diagram virus campak (dikutip dari Griffin, 1996).

Sifat lain. Virus campak sangat sensitif terhadap panas. Virus akan sangat mudah rusak pada suhu 37°C . Toleransi terhadap perubahan pH baik sekali. Bersifat sensitif terhadap ether, cahaya, dan *trypsin*. Virus mempunyai jangka waktu hidup yang pendek (*short survival time*), yaitu kurang dari 2 jam (CDC, 2006). Apabila disimpan pada laboratorium, suhu penyimpanan yang baik adalah pada suhu -70°C .

Cytopathogenic effect virus. Didiskripsikan oleh *Ender* dan *Peebles*, lesi yang dihasilkan oleh virus campak pada kultur jaringan bersifat :

- *syncytia*. Sel giant yang terbentuk dari fusi sel yang tersusun dari sejumlah (lebih dari 100) nuklei, masing-masing saling merapat.

- *Sel spindle* Disebut demikian oleh karena sel-sel tersebut saling tertarik dan memberi gambaran pada pertengahan lapisan sel
- *Inklusi sitoplasma dan inti* Inklusi inti bersifat eosinofilik. Mereka menjarangkan nukleulus dan tidak disertai marginasi kromatin. Timbul terlambat sehingga jarang diamati. Inklusi sitoplasma bersifat eosinofilik dan ditemukan pada simma dan pada sel yang terisolasi.

Virus campak telah lama dikenal sebagai virus yang monotipik dan bersifat stabil antigenisitasnya. Namun demikian, virus campak mempunyai suatu *RNA-dependent RNA polymerase* dengan tingkat kesalahan yang melekat dan tidak mempunyai kapasitas koreksi, jadi beberapa derajat variabilitas dapat terjadi (Bellini, 1996).

Virus campak mempunyai 6 gen protein utama, yaitu M, F, N, H, P dan L. Selubung luarnya mengandung dua glikoprotein permukaan yang dikenal sebagai protein *hemaglutinine (H)* dan *membrane fusion protein (F)*. Virus campak secara serologik bersifat monotipik, walaupun galur tipe alam diketahui secara genetik bersifat heterogen dan beberapa genotip telah dapat diidentifikasi. Beberapa variabilitas telah dapat ditentukan terjadi pada gen N, M, H dan F dengan cara pemeriksaan analisa urutan nukleotida (Varsanyi, 1984; Rima, 1997; Vincent, 1998; Santoz, 2003).

2.1.3. Patogenesis

Penularan penyakit campak adalah dengan melalui *droplet* jalan pernafasan. Penyakit ini ditandai dengan periode laten selama 10 - 14 hari dan 2 - 3 hari periode prodromal dengan panas, batuk, pilek dan konjungtivitis dan diikuti dengan timbulnya ruam makulopapuler yang khas. Timbulnya ruam bersamaan dengan timbulnya respons imun dan permulaan hilangnya virus. Selanjutnya virus campak masuk

kelenjar getah bening yang berada di bawah mukosa (Alcami, 2000) Disini virus memperbanyak diri kemudian menyebar ke sel-sel jaringan limfe lokal Hal ini ditandai dengan ditemukannya *reticuloendothelial giant cells* yang pertama kali ditemukan oleh *Warthin* dan *Finkeldey* Amplifikasi dari virus pada kelenjar limfe regional berakibat timbulnya viremia dan penyebaran virus melalui pembuluh darah ke berbagai organ tubuh. Organ limfoid (thymus, limpa dan kelenjar getah bening) dan jaringan limfoid (misalnya appendix dan tonsil) merupakan tempat utama replikasi virus. Hal ini dapat dilihat dengan makin meningkatnya sel *Warthin* pada jaringan limfe sebelum timbulnya ruam Sel limfosit *T-supressor* dan *T-helper* yang rentan terhadap infeksi, aktif membelah diri Pada saat 5-6 hari sesudah infeksi awal, fokus infeksi terwujud yaitu ketika virus masuk kedalam pembuluh darah dan menyebar ke permukaan epitel orofaring, konjungtiva, saluran pernafasan, kulit, kandung seni dan saluran usus. Selanjutnya pada hari ke 9-10 fokus infeksi berada di saluran nafas. Pada saat itu muncul gejala *coryza* (pilek) disertai dengan peradangan selaput konjungtiva yang tampak merah (*conjunctivitis*). Penderita tampak lemah disertai suhu tubuh yang meningkat, tampak sakit berat sampai munculnya ruam kulit (*rash*). Pada hari ke-11 tampak pada mukosa pipi didepan molar 3 suatu *ulcera* kecil (*Koplik's spot*) merupakan tempat virus tumbuh dan selanjutnya mati, dan kelainan ini merupakan tanda pasti (*pathognomonic*) untuk menegakkan diagnosa. Akhirnya muncul ruam makulopapular di hari ke-14 sesudah awal infeksi dan pada saat itu antibodi humoral dapat dideteksi dan selanjutnya suhu tubuh menurun.

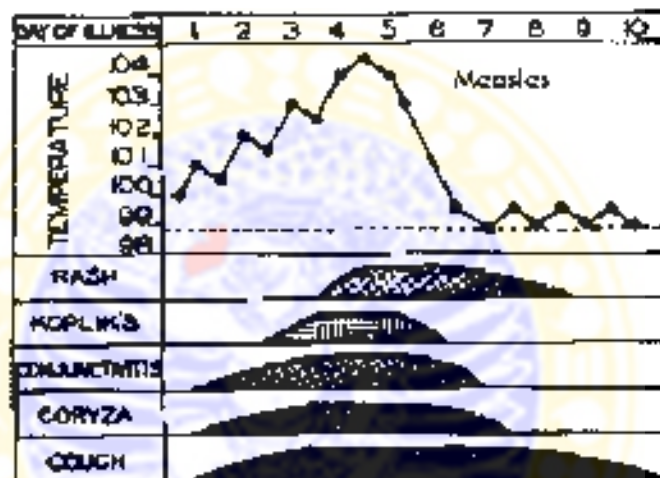
Selama stadium prodromal, didapatkan hiperplasia dari jaringan limfoid di tonsil, adenoid, kelenjar limfe, limpa dan appendix Didapatkan *multinucleated giant cell* yang besar (100 μ) yang dapat dilihat pada jaringan-jaringan tersebut dan di mukosa faring dan bronkhial. Suringa, Bank dan Ackerman pada tahun 1970 (dikutip

dari Krugman, 1973) menemukan bahwa *Koplik's spot* dan lesi kulit dari campak mempunyai persamaan gambaran histologik sebagai berikut : *foci* dari *syncytial epithelial giant cell* dengan sitoplasma berwarna pucat, edema interseluler dan intraseluler, dan *parakeratosis* dan *dyskeratosis*. Terdapat antara 3 sampai 26 nukleus *giant cell* dan banyak mengandung *inclusion body* yang pucat. Pemeriksaan mikroskop elektron didapatkan kumpulan *microtubules* dari virus didalam nukleus dan sitoplasma dari *syncytial giant cell*. *Tubules* ini tidak dapat dibedakan dengan yang terlihat pada jaringan kultur yang di-infeksi dengan virus campak. Jadi jelas bahwa aspek patologik dari lesi kulit dan lesi mukosa (*Koplik's spot*) adalah sama (McChesney, 1997).

2.1.4. Gejala klinik

Gejala klinik pada campak dapat dibagi menjadi 4 stadia, yaitu : stadium inkubasi, stadium prodromal, stadium erupsi dan stadium konvalesens. Gejala klinik dari penderita campak yang khas dapat dilihat pada Gambar 2.2 (dikutip dari Krugman, 1973). Stadium inkubasi berlangsung antara 10 - 14 hari dimulai sejak terjadinya paparan sampai timbulnya gejala-gejala klinis pertama, dan jarang sekali timbulnya stadium inkubasi ini hanya 6 -10 hari. Pada masa ini apabila timbul gejala hanya sedikit sekali. Kemudian masuk kedalam stadium prodromal yang berlangsung selama 3 - 5 hari Dimulai dengan timbulnya gejala-gejala klinis panas, malaise dan anoreksia. Dua puluh empat jam kemudian timbul gejala *coryza*, *conjunctivitis* dan batuk (*cough*). Gejala ini secara bertahap meningkat menjadi lebih berat dan mencapai puncak dengan timbulnya ruam pada hari ke-empat. Kurang lebih dua hari sebelum timbulnya ruam, timbul *Koplik's spot* pada mukosa pipi yang berhadapan dengan molar. *Koplik's spot* merupakan suatu bintik kecil, berdiameter 1 - 3 mm, berwarna

merah terang dengan bintik putih kebiruan ditengahnya dan merupakan tanda patognomonis dari penyakit campak. Dalam waktu tiga hari, lesi ini meningkat jumlahnya dan meyebar keseluruh membrane mukosa *Koplik's spot* akan menghitang pada hari kedua timbulnya ruam. Sebelum timbul *Koplik's spot*, dapat timbul gejala peradangan konjungtiva dan *photophobia*. Gejala prodromal ini bisa berat, ditandai dengan demam yang lebih tinggi dan kadang-kadang bisa timbul kejang bahkan pneumonia

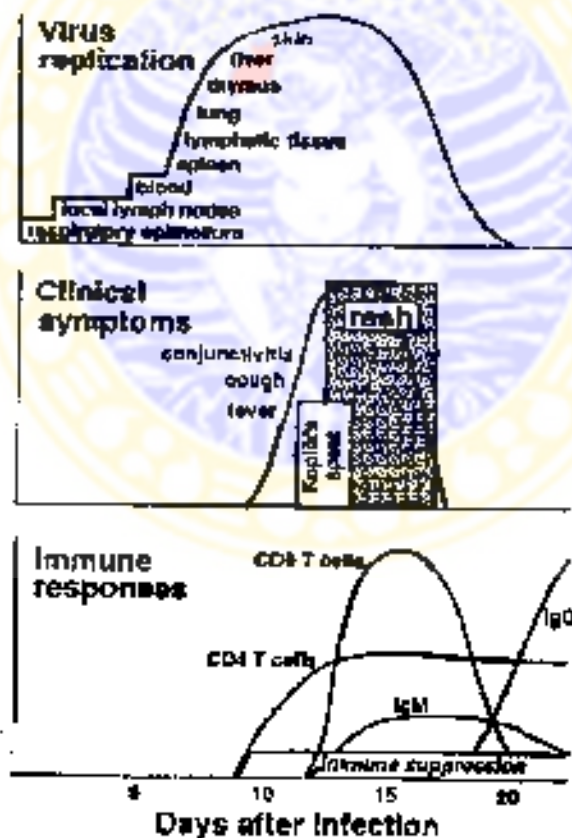


Gambar 2.2. Diagram perjalanan klinik penyakit campak (dikutip dari Krugman, 1973).

Kemudian disusul dengan timbulnya stadium ketiga, yaitu stadium erupsi, yang ditandai dengan timbulnya ruam. Ruam mempunyai sifat yang khas, yaitu berbentuk makulopapuler dan timbul pertama di daerah muka dan dibelakang telinga. Kemudian menyebar secara sentrifugal ke dada, punggung dan extremitas atas kemudian ke extremitas bawah. Selanjutnya, 3 atau 4 hari kemudian sejak timbulnya ruam, disusul dengan stadium berikutnya, yaitu stadium konvalesens yang ditandai dengan ruam berubah warna kehitaman/berwarna gelap. Kemudian diikuti dengan deskuamasi kulit dan akan menghilang dalam waktu 7 – 10 hari. Biasanya diikuti dengan pembesaran kelenjar limfe yang terlihat dengan adanya limfadenopati di

daerah rahang bawah dan daerah belakang telinga dan splenomegali ringan. Timbulnya limfadenopati pada daerah mesenterium akan menimbulkan gejala nyeri abdomen. Apabila terjadi gejala perubahan mukosa appendiks, dapat menyebabkan terjadinya penutupan lumen apendiks dan akan menimbulkan gejala appendisitis (Griffin, 1996; Lau, 2002; Maldonado, 2003). Selanjutnya diikuti dengan menurunnya suhu tubuh menjadi normal. Tetapi gejala batuk akan menghilang dalam waktu yang agak lama.

Hubungan antara timbulnya gejala klinik, replikasi virus dan mekanisme imun respons dapat dilihat pada Gambar 2.3



Gambar 2.3. Diagram patogenesis penyakit campak. Gambar paling atas menunjukkan replikasi virus dimulai di epitel mukosa traktus respiratorius, menyebar ke sel monosit dan makrofag, sel endotel, kelenjar thymus, limpa, kelenjar getah bening, hati, kulit, paru, konjungtiva dan lapisan permukaan mukosa traktus digestivus, respiratorius dan genitourinarius. Ruam timbul pada waktu respons imun virus spesifik. Menghilangnya virus dan tubuh penderita bersamaan dengan mengulangnya ruam (dikutip dari Griffin, 1996)

Demam. Demam timbul secara bertahap dan meningkat sampai hari kelima atau keenam pada puncak timbulnya ruam. Kadang-kadang kurva suhu menunjukkan gambaran bifasik. Ruam awal pada 24 sampai 48 jam pertama diikuti dengan turunnya suhu tubuh sampai normal selama periode satu hari dan kemudian diikuti dengan kenaikan suhu tubuh yang cepat mencapai 40°C pada waktu ruam sudah timbul diseluruh tubuh. Pada kasus yang tanpa komplikasi, suhu tubuh mengalami lisis dan kemudian turun mencapai suhu tubuh yang normal.

Coryza (pilek). Pilek pada campak tidak dapat dibedakan dengan pilek pada keadaan influenza (*common cold*) pada umumnya. Tanda pertamanya bersin-bersin yang diikuti dengan gejala hidung buntu (*nasal congestion*) dan sekret mukopurulen yang menjadi lebih berat pada puncak erupsi. Pilek ini cepat menghilang setelah suhu tubuh penderita menjadi normal.

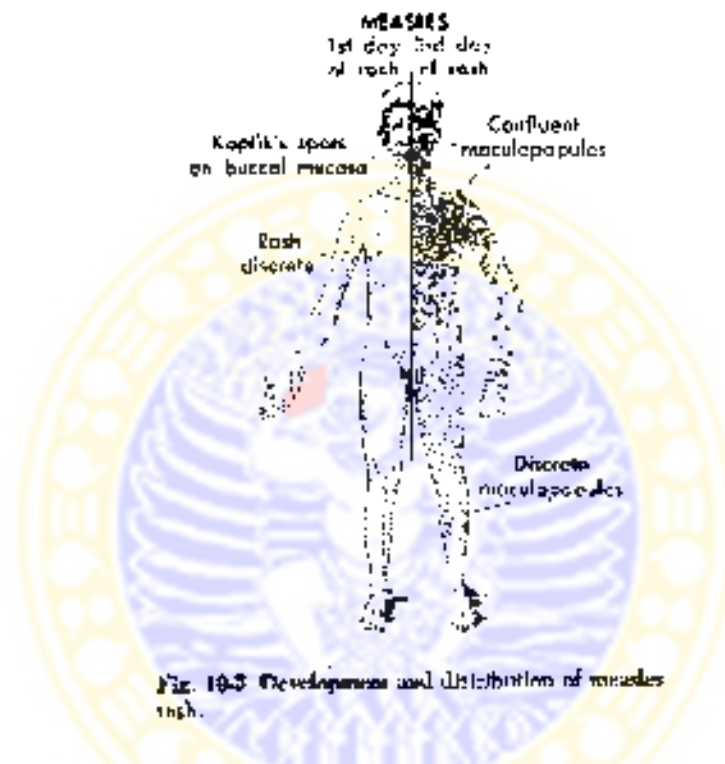
Konjungtivitis. Garis tepi yang transversal dari injeksi konjungtiva (*conjunctival injection*) pada kelopak mata bawah kemungkinan dapat dilihat pada awal gejala *prodromal*. Selanjutnya gejala tersebut tertutup oleh peradangan konjungtiva yang berat bersamaan dengan edema palpebra dan karunkula. Lakrimasi meningkat dan sering penderita mengeluh fotofobia. Pada kasus yang berat, *Koplik's spot* mungkin terdapat pada karunkula. Pada konjungtivitis, seperti pada *coryza*, akan menghilang segera setelah suhu tubuh menjadi normal.

Batuk (*coughy*). Gejala batuk disebabkan oleh karena reaksi inflamasi traktus respiratorik. Seperti gejala *catarrhal* lainnya, gejala batuk meningkat frekwensi dan intensitasnya, mencapai puncaknya pada puncak erupsi. Gejala batuk bertahan lebih lama dan biasanya menghilang dalam periode lima sampai sepuluh hari.

Koplik's spot. Kurang lebih dua hari sebelum ruam timbul, gejala *Koplik's spot* yang merupakan tanda *pathognomomous* dari penyakit campak, dapat dideteksi. Lesi ini telah didiskripsi oleh *Koplik* pada tahun 1896 sebagai suatu bintik berbentuk tidak teratur dan kecil berwarna merah terang, pada pertengahannya didapatkan noda berwarna putih keabuan. Mula-mula didapatkan hanya dua atau tiga sampai enam bintik. Kombinasi dari noda putih keabuan dan warna merah muda disekernya merupakan tanda *pathognomomik* absolut dari penyakit campak. Kadang-kadang noda putih keabuan sangat kecil dan sulit terlihat dan hanya dengan sinar yang langsung dan terang dapat terlihat. Timbulnya *Koplik's spot* hanya berlangsung sebentar, kurang lebih 12 jam, sehingga sukar terdeteksi dan biasanya luput pada waktu dilakukan pemeriksaan klinis (Allan, 2002; Maldonado, 2003).

Ruam. Seperti terlihat pada Gambar 2.2, ruam timbul pertama kali pada hari ketiga sampai keempat dari timbulnya panas. Ruam dimulai sebagai erupsi makulopapula eritematosa, dan mulai timbul pada bagian samping atas leher, daerah belakang telinga, perbatasan rambut dikepala dan meluas ke dahi (lihat Gambar 2.4.). Kemudian menyebar kebawah keseluruhan muka dan leher dalam waktu 24 jam. Seterusnya menyebar ke ekstremitas atas, dada, daerah perut dan punggung. Kemudian terus kebawah dan mencapai kaki pada hari ketiga. Bagian yang pertama kena mengandung lebih banyak lesi daripada yang terkena kemudian. Akibatnya lesi yang di atas pada muka dan leher cenderung bergabung, dan yang di bawah cenderung terpisah-pisah. Ruam mulai berubah menjadi berwarna agak gelap pada hari ketiga dari timbulnya. Jadi walaupun daerah muka dan dada bagian atas mulai berubah warna pada hari keempat, erupsi masih tampak jelas dibagian ekstremitas bawah. Lesi eritematosa awal akan memucat bila ditekan. Setelah tiga atau empat hari, lesi tersebut berubah menjadi berwarna kecoklatan. Hal ini kemungkinan sebagai

akibat dari perdarahan kapiler, dan tidak memucat dengan penekanan. Dengan menghilangnya ruam, timbul perubahan warna dari ruam, yaitu menjadi berwarna kehitaman atau lebih gelap. Dan kemudian disusul dengan timbulnya deskuamasi berupa sisik berwarna keputihan (Samuelsen, 1999).



Gambar 2.4 Penyebaran dan distribusi ruam pada penderita Campak. Ruam dimulai sebagai erupsi erythema makulopapuler, yang timbul dimulai dari perbatasan rambut didahi dan dibelakang telinga. Kemudian menyebar keseluruhan muka, leher, ekstremitas atas dan dada. Terus menyebar kebawahan mencapai kaki pada hari ketiga (dikutip dari Krugman, 1973).

Pada kasus yang ringan, terjadinya ruam cenderung tidak mengalami penggabungan dan pada kasus yang lebih ringan, terjadinya ruam hanya sedikit pada daerah kaki.

Pada semua penderita campak, timbulnya ruam selalu pada hari ke-14 setelah terjadinya kontaminasi (dengan sangat sedikit kurang lebih variasi). Hal ini disebabkan oleh karena terjadinya reaksi antara virus dengan antibodi yang sudah terbentuk (Debre, 1970). Kenyataan lain bahwa permulaan timbulnya ruam selalu

terjadi pertama kali di daerah muka dan kemudian menyebar ke dada, ekstremitas atas dan kemudian ke ekstremitas bawah, mendorong perkiraan bahwa daerah kulit yang dekat dengan daerah dimana virus pertama kali masuk dan kemudian berkembang adalah yang pertama tersensitisasi (Griffin, 1996). Kemudian von Pirquet (dikutip dari Griffin, 1996) memperkirakan bahwa ruam terjadi di daerah tegumen yang dialiri darah arterial dan oleh karena itu lebih tersaturasi dengan virus

Dilihat dari jenis gejala klinisnya, ada 5 macam gejala klinis campak :

1. Campak klasik.

Merupakan penyakit campak dengan gambaran klinis seperti yang disebutkan di atas, yaitu ditandai dengan masa inkubasi, diikuti dengan stadium prodromal, stadium erupsi dan stadium konvalesens yang ditandai dengan timbulnya hiperpigmentasi dan deskuamasi pada kulit

2. Modifikasi penyakit campak (*Modified measles*).

Terjadi pada bayi muda oleh karena masih adanya antibodi *maternal*, pada penderita *immunocompromised*, dan pada anak-anak yang sebelumnya telah mendapat imunisasi campak. Menunjukkan gejala klinis yang tidak sama dengan gejala klinis campak klasik. Ditandai dengan periode inkubasi yang lebih lama, gejala panas yang lebih ringan atau lebih pendek jangka waktunya atau kadang-kadang tidak disertai gejala panas, timbulnya ruam yang tidak spesifik dan juga berlangsung dalam jangka waktu yang lebih pendek. Atau dapat juga terjadi pada penderita campak yang sudah mendapat *immune globulin (IG)* sebagai pencegahan pasca paparan (*post exposure prophylaxis*). Gejala klinis yang ringan ini dapat terjadi juga pada anak yang sebelumnya telah mendapat imunisasi campak (Ismail, 1991; Griffin, 1996. CDC, 2006). Hal ini sesuai dengan penelitian pendahuluan (*preliminary study*) oleh Salimo

pada 2006 pada bayi baru lahir di RSUD Dr Muwardi Surakarta Didapatkan 15 bayi baru lahir yang diperiksa kadar IgG, ternyata semuanya mempunyai IgG positif dengan konsentrasi yang cukup tinggi di atas rerata (Salimo, 2006)

3. Campak atipikal.

Merupakan bentuk penyakit campak dengan gejala klinis yang lebih berat, dengan gejala klinis yang tidak seperti campak biasanya. Biasanya terjadi pada penderita campak yang telah mendapat imunisasi campak dengan vaksin yang berasal dari virus campak yang dimatikan (*killed measles vaccine KMV*) Seperti kita ketahui, pada masa awal diperkenalkannya imunisasi campak, pada kurun waktu 1963 – 1967, imunisasi campak diberikan dengan vaksin yang mengandung virus campak yang dimatikan. Gejala klinis campak atipikal ini menunjukkan gejala panas yang lebih tinggi dan berlangsung lebih lama dan ada tanda lesi pada kulit yang lebih berat berupa perdarahan dan vesikulasi. Ruam yang terjadi biasanya berbentuk makulopapuler atau petekchie, tetapi kadang-kadang disertai dengan komponen urtikaria, purpura atau vesikula. Ruam pertama kali timbul pada telapak tangan, pergelangan tangan, telapak kaki, dan meyebar kearah sentripetal ke dada dan punggung. Gejala lain berupa sakit kepala yang berat, nyeri perut kadang disertai muntah, mialgia, gejala penekanan pernafasan, pneumonia dengan efusi pleura. *Koplik's spot* jarang dijumpai. Penelitian mengenai pemberian vaksin virus campak yang dimatikan terhadap respons imun menunjukkan bahwa resipien menunjukkan antibodi terhadap protein H, tetapi sedikit antibodi terhadap F atau N protein (Ismail, 1991, Maldonado, 2003, CDC, 2006)

4. Campak hemoragika.

Bentuk lain daripada gejala klinis campak adalah campak hemoragika, ada yang menyebut campak hitam (*black measles*), yang ditandai dengan demam yang sangat tinggi, kejang-kejang, delirium, gangguan pernafasan dan adanya gejala-gejala perdarahan pada kulit dan mukosa (Maldonado, 2003; CDC, 2006)

5. Campak pada penderita *immunocompromised*

Pada penderita *immunocompromised*, campak menunjukkan gejala yang lebih berat dan perjalanan klinis yang lebih lama. Biasanya dilaporkan terjadi pada penderita dengan defisiensi sel T seperti pada jenis leukemia tertentu, limfoma dan *acquired immunodeficiency syndrome (AIDS)*. Dapat terjadi tanpa menunjukkan gejala ruam yang khas, dan penderita dapat menyebarkan virus sampai beberapa minggu setelah fase akut (CDC, 2006).

Manifestasi lain, *Anorexia* dan *malaise* biasanya timbul selama periode demam. Pada bayi, pada periode ini sering timbul diare. Limfadenopati yang menyeluruh dapat timbul pada kasus sedang dan berat. Seperti pada *rubella*, campak dapat menunjukkan gejala pembesaran kelenjar post-aurikuler, servikal dan oksipital. Apabila mengenai ibu hamil, mempunyai risiko yang tinggi akan terjadinya kelahiran prematuritas, abortus spontan dan bayi berat lahir rendah (BBLR). Terjadinya cacat kongenital juga dilaporkan, tetapi tanpa ada konfirmasi campak sebagai penyebabnya (CDC, 2006).

2.1.5. Diagnosis.

Konfirmasi gejala klinik. Diagnosis kasus campak ditegakkan atas dasar ditemukannya kelompok gejala klinik yang saling berkaitan, yaitu *coryza* (pilek, bersin), *conjunctivitis* (mata meradang) disertai *cough* (batuk) dan demam yang tinggi dalam beberapa hari dan diikuti timbulnya ruam makulopapuler pada kulit yang

memiliki ciri khas, diawali dari belakang telinga, kemudian menyebar ke muka, dada, tubuh, lengan dan kaki bersamaan dengan meningkatnya suhu tubuh. Pada stadium prodromal dapat ditemukan *Koplik's spot* berupa enanthem dimukosa pipi yang merupakan tanda *pathognomonis* penyakit campak. Pada saat penyembuhan, ruam merah menghitam (hiperpigmentasi) dan selanjutnya mengelupas (deskuamasi). (Ibrahim, 2002, Rudolph, 2002, Maldonado, 2003)

Pemeriksaan serologik. Diagnosa penyakit campak dapat dibantu dengan pemeriksaan IgM campak dan kenaikan titer yang signifikan dari IgG campak pada fase akut (diambil dalam waktu 4 hari timbulnya ruam) dan masa konvalesen (diambil antara 2 -- 4 minggu kemudian). Antibodi biasanya timbul dalam waktu satu sampai tiga hari setelah timbulnya ruam. Kadar puncak dicapai dalam waktu dua sampai empat minggu kemudian. IgG dapat dideteksi sampai beberapa tahun kemudian dan biasanya bertahan pada periode yang lebih lama (Krugman, 1973, Griffin, 1996, Maldonado, 2003). Diagnosis campak paling sering dikonfirmasi dengan pemeriksaan serologik. Idealnya, sampel serologis diambil pada masa akut dan rekonvalesens, tetapi pemeriksaan IgM spesifik campak dalam serum dan saliva hanya memerlukan sampel tunggal. Antibodi IgM timbul pada saat timbulnya ruam dan pada kebanyakan individu dapat dideteksi 3 hari setelah timbulnya ruam. Saat ini, pemeriksaan *ELISA* dapat membedakan deteksi IgM dan IgG, dan telah dipakai secara luas oleh karena memberi kemudahan dalam penyediaan sample dalam jumlah besar. Sebelum ditemukan pemeriksaan secara *ELISA*, pemeriksaan *hemagglutination inhibition (HI)* dilakukan untuk deteksi antibodi terutama terhadap protein H dan mempunyai korelasi langsung dengan tes netralisasi. Tetapi kelemahan utama dari tes *HI* adalah kebutuhan untuk tersedianya eritrosit kera segar yang sensitif, kesukaran dalam memproduksi tes

antigen dalam jumlah besar dan kemungkinan didapatnya inhibitor hemaglutinasi non-spesifik (Erdman, 1993, Ridel, 2002)

Isolasi virus. Virus campak dapat di-isolasi dari darah, sekresi nasofaring dan urine selama periode demam. Sedangkan dari sedimen urine dapat diisolasi dalam waktu yang lebih lama (Rota, 1995; Sonoda, 2002; WHO, 2002; Maldonado, 2003; El Mubarak, 2004)

Pemeriksaan laboratorium lain. Pada kasus campak tanpa komplikasi menunjukkan gejala leukopenia. Sel *multinucleated giant* dapat ditemukan pada sputum dan sekresi nasal pada penderita selama periode prodromal (Griffin, 1996, Maldonado, 2003).

Penelitian oleh Debre dan Ioannon (dikutip dari Griffin 1996) dengan menyuntikkan serum konvalesen selama 4 hari pertama masa inkubasi menghentikan berkembangnya gejala klinis, sehingga tampaknya anak tidak terkontaminasi. Apabila penyuntikan dilakukan di antara hari kelima dan kedelapan dari masa inkubasi, gejala campak timbul, tetapi dengan bentuk termodifikasi. Gejala utamanya : masa inkubasinya menjadi lebih lama, gejala kataral tertekan, timbulnya ruam melemah atau tidak timbul, intensitas dan lamanya masa demam berkurang, keadaan umumnya baik, tidak adanya anergi terhadap tuberkulin test, tidak ada komplikasi, tidak menular kepada anak lain disekitarnya.

Apabila penyuntikan serum dilakukan pada malam sebelum awal timbulnya gejala klinis atau bahkan dua hari sebelum timbulnya gejala, perjalanan penyakit tidak berubah sama sekali baik dalam perkembangannya atau tidak menjadi lebih lemah.

Definisi kasus klinis yang sekarang banyak dipakai oleh otoritas kesehatan masyarakat adalah seperti yang diusulkan oleh *United States Centers for Disease Control and Prevention (CDC)* lebih dari 20 tahun yang lalu, yaitu (CDC, 1983) :

- adanya ruam makulopapuler yang merata paling tidak selama 3 hari dan,
- demam paling tidak 38.3^o C,
- paling tidak satu dari gejala-gejala klinik berikut batuk, pilek dan konjungtivitis.

Menurut Ferson (Ferson, 1995), kriteria definisi tersebut di atas mempunyai kerugian dalam hal adanya ruam makulopapuler yang merata paling tidak selama 3 hari, oleh karena dengan menunggu ruam selama 3 hari akan menunda respons penanganan oleh pihak kesehatan. Dalam penelitiannya Ferson mendapatkan dengan definisi tersebut sensitivitas 92% tetapi spesifisitasnya hanya 24%. Oleh karena itu Ferson memodifikasi definisi klinik kasus campak sebagai berikut . (1) adanya ruam morbilliform, (2) batuk dan (3) adanya demam pada waktu timbulnya ruam. Dengan memakai modifikasi kriteria nya, didapatkan sensitivitas sama 92% tetapi spesifisitas yang lebih besar, yaitu 57%.

2.1.6. Respons imun.

Respons imun pada penyakit campak merupakan hal yang penting dalam usaha pembersihan virus dari tubuh dan penyembuhan dari infeksi dan secara langsung bertanggung jawab terhadap timbulnya gejala-gejala klinik. Terdapat aktivasi dari system imun yang dapat dibuktikan dengan proliferasi spontan dari sel mononuclear darah perifer, aktivasi poliklonal sel B, ekspresi aktivasi antigen pada sel t dan meningkatnya kadar sitokin plasma. Aktivasi ini bersamaan dengan munculnya supresi respons imun. Supresi dan aktivasi respons imun berlangsung sampai beberapa minggu setelah sembuh dari sakit (Levinson 2003, Abbas 2005).

Respons imun non-spesifik. Respons imun non-spesifik menyokong penghentian replikasi virus selama masa inkubasi. Infeksi virus campak in-vitro

meng-induksi produksi interferon (IFN)- α , yang menurunkan replikasi virus dan IFN- β yang juga meningkatkan ekspresi MHC- klas I pada sel yang ter-infeksi. Kenaikan kadar IFN dalam serum juga terjadi 8-11 hari setelah imunisasi campak, tetapi pada infeksi alam, kenaikan kadar plasma biologik aktif tidak pernah diketahui. NK sel mempunyai peran yang penting juga pada mekanisme pertahanan tubuh.

Respons imun spesifik. Antibodi pertama kali dapat dideteksi pada waktu timbulnya ruam. Antibodi yang pertama kali timbul adalah IgM yang kemudian di-*switch* menjadi IgG1 dan IgG4. IgA, IgM dan IgG dapat ditemukan pada cairan tubuh. Antibodi terhadap hampir semua protein virus akhirnya diproduksi. Antibodi yang paling cepat dan paling banyak diproduksi adalah antibodi terhadap protein N. Antibodi ini dapat diketahui dengan pemeriksaan *complement fixation test*. Oleh karena banyaknya kadar anti-N antibodi, tidak adanya antibodi ini dipakai sebagai indikator seronegativitas. Antibodi terhadap protein M hanya menimbulkan sedikit antibodi. Antibodi terhadap protein F diukur dengan inhibisi hemolisis eritrosit ker. Antibodi monoklonal terhadap protein F dapat mengadakan reaksi silang dengan sel *heat shock protein* (Griffin, 1996). Antibodi terhadap protein H diukur dengan inhibisi aglutinin (*hemagglutination inhibition = HI*) eritrosit ker. Peran antibodi dapat melindungi infeksi virus campak, mempercepat penyembuhan dari infeksi, dan mempunyai peranan yang penting dalam menimbulkan infeksi persisten (Erdman, 1993; El Mubarak, 2003).

Fungsi dari imunitas seluler sangat penting pada penyembuhan penyakit campak. Hal ini dapat dilihat dari respons imun oleh limfosit T. Didapatkan bukti yang berlebih bahwa sel T CD8+ diaktifkan selama infeksi.

Pada respons imun seluler campak terjadi imunosupresi sintesa IL-12 oleh makrofag. Akibatnya pada imunisasi campak, respons humoralnya meningkat.

sedangkan respons imun selulernya menurun. (Griffin, 1996; Roitt, 2001; Maldonado, 2003; Abbas, 2005). Penelitian yang dilakukan untuk mendeteksi IL-12 pada empat jenis antigen campak yang selama ini digunakan dibanyak negara termasuk Indonesia yaitu . vaksin Swartz, CAM-70, MMR dan AIK-C mendapatkan hasil presentase IL-12 sebesar masing-masing 75%, 73%, 72% dan 97% (Yuwono, 1998) Studi epidemiologik dari lama berlangsungnya respons imun menyatakan bahwa proteksi jangka panjang terhadap reinfeksi yang didapat setelah menderita campak tidak memerlukan paparan ulang. Memori imunologik meliputi keduanya, baik pembentukan antibodi maupun sirkulasi dari limfosit T spesifik virus campak.

Penelitian untuk mengetahui reaksi imunogenitas vaksin campak CAM-70 yang diperbaharui dan saat ini dipakai dalam program imunisasi campak di Indonesia telah dilakukan di Kabupaten Bandung dan Padang Sebanyak 130 anak sehat umur 8-11 bulan yang belum diimunisasi campak dan 100 anak umur 2 tahun pasca imunisasi campak. Hasil penelitian menunjukkan serokonversi sebesar 96.92% Sedangkan pemeriksaan potensi CAM-70 yang dilakukan dengan menghitung TCID₅₀ pada sel Vero menunjukkan adanya titer vaksin antara 10^{4.25} – 10^{4.75} dosis (Yuwono, 2000)

2.1.7. Epidemiologi.

Penyakit campak bersifat endemik diseluruh dunia. Dulu, terjadinya epidemi cenderung tidak beraturan Biasanya epidemi terjadi pada permulaan musim hujan, mungkin disebabkan karena meningkatnya kelangsungan hidup virus pada keadaan kelembaban yang relatif rendah. Epidemi terjadi dengan interval tiap 2 - 4 tahun sekali, yaitu setelah adanya kelompok baru yang rentan terpajan dengan virus campak. Penyakit campak jarang bersifat subklinis (Maldonado, 2003). Penyakit campak

ditularkan secara langsung dari droplet infeksi atau, agak jarang dengan penularan lewat udara (*airborne spread*) (Griffin, 1996; Maldonado, 2003). Pengetahuan mengenai epidemiologi penyakit campak sangat penting oleh karena penularan penyakit ini sangat cepat walaupun angka cakupan imunisasi sudah cukup tinggi. Masih banyak hal yang harus dipelajari untuk mendapatkan strategi yang sebaik-baiknya untuk penanggulangan penyakit campak (Clements, 1995). Pelopor dari konsep epidemiologi campak telah diformulasikan oleh Panum pada observasinya pada cara penularan, periode inkubasi dan kekebalan seumur hidup pada waktu terjadi epidemik campak di Kepulauan Faroe pada tahun 1846 (Griffin, 1996). Konsep ini ditindaklanjuti oleh Hirsch pada 1883 yang menyatakan bahwa suatu epidemi akan selesai setelah mereka yang rentan telah habis terkena campak. Pada campak tidak didapatkan *reservoir* binatang. Oleh karena itu, keberadaan virus campak selalu terdapat didalam populasi, disebabkan selalu adanya individu yang rentan. Perhitungan matematik dan penelitian pada suatu pulau dengan jumlah populasi yang berbeda oleh Black (Griffin 1996) mendapatkan bahwa dibutuhkan jumlah populasi sebesar 250.000 sampai 500.000 untuk mendapatkan campak suatu penyakit endemik.

Adanya persamaan antara gambaran biologik dari campak dan penyakit cacar memberi kesan bahwa campak dapat juga di-eradikasi. Gambaran tersebut adalah : (1) adanya ruam yang jelas sebagai petanda (*marker*) penyakit, (2) tidak adanya binatang *reservoir* (3) tidak adanya *vector* (4) adanya kejadian musiman dengan disertai periode bebas penyakit (5) tidak adanya penularan virus secara latent (6) hanya ada satu serotip dan (7) adanya vaksin yang efektif (Maldonado 2003)

Pada awal tahun 1980, pada waktu angka cakupan imunisasi campak global hanya 20%, didapatkan lebih dari 90 juta kasus. Pada pertengahan tahun 1990, dengan angka cakupan 80%, angka tersebut turun tajam sampai 20 juta kasus. Jadi, bahkan

dengan angka cakupan 80%, masih sulit untuk mencapai target eradikasi global (Featherstone, 2003).

Penelitian Heriyanto pada KLB di Jawa dan Luar Jawa menunjukkan bahwa KLB terjadi pada daerah cakupan imunisasi rendah (17.0% - 46.0%) dan angka serangan campak (*attack rate*) terjadi pada anak umur 1-4 tahun dan 5-9 tahun masing-masing sebesar 10.45%-64.2% dan 4.5%-55.5%, dengan angka kematian (*CFR*) antara 0.43%-6.2%

World Health Organization (WHO) dengan programnya *The Expanded Programme on Immunization* telah mencanangkan target global untuk mereduksi insidens campak sampai 90.5% dan mortalitas sampai 95.5% daripada tingkat pre-EPI pada tahun 1995. Beberapa negara berhasil hampir mendekati fase eliminasi. Beberapa macam jadwal imunisasi dan strategi telah digunakan, tetapi ada beberapa negara yang tidak berhasil. Kegagalan ini biasanya disebabkan oleh kegagalan dalam mengimplementasikan rencana strategi secara adekuat. Prioritas utama untuk penanggulangan penyakit campak adalah melaksanakan program imunisasi lebih efektif (MMWR, 1993; Cutts, 1994; MMWR, 1998; McLean, 1998). Eradikasi campak, didefinisikan sebagai pemutusan rantai penularan secara global sehingga imunisasi dapat dihentikan, secara teori adalah mungkin oleh karena tidak adanya binatang *reservoir* dan pemberian imunisasi sangat efektif (Cutts, 1998). Seperti kita ketahui, penyakit campak hanya mengenai manusia saja. Tidak bisa mengenai binatang dan tidak didapatkan binatang *reservoir*. Juga keadaan *asymptomatic carrier* tidak pernah didokumentasikan (CXC, 2006).

Strategi untuk eliminasi penyakit campak adalah dengan : (1) melakukan imunisasi massal pada anak umur 9 bulan sampai 15 tahun, (2) meningkatkan cakupan imunisasi rutin pada bayi umur 9 bulan, (3) melakukan surveilans secara

intensif dan (4) *follow-up* imunisasi massal (Cutts, 1999). Di klinik, WHO juga telah mengembangkan standar program penatalaksanaan kasus, tetapi masih ada beberapa kesukaran, misalkan indikasi pemberian antibiotik, pemberian imunoglobulin intravena dan risiko tuberkulosa sebagai komplikasi jangka panjang (Duke, 2003).

2.2. Pemberian imunisasi Campak

Pada era sebelum dilakukannya imunisasi campak, dilaporkan terdapat sekitar 5,7 juta anak yang terkena campak dengan angka kematian sebesar 800.000 anak. Tetapi sejak dilakukannya imunisasi campak, angka tersebut menurun secara drastis sampai 89%.

Virus campak pertama kali dapat dikembang-biakkan pada kultur jaringan pada tahun 1954 oleh Enders dan Peebles, yang meng-okulasikan darah dari penderita campak yang bernama David Edmonston pada sel jaringan ginjal manusia (Griffin, 1996). Penemuan ini selanjutnya dikembangkan menjadi vaksin virus hidup yang dilemahkan (*attenuated live measles vaccine*).

Pada tahun 1963, telah dibuat dua jenis vaksin campak yaitu :

- a. Vaksin yang berasal dari virus campak yang hidup dan dilemahkan (tipe Edmonston B)
- b. Vaksin yang berasal dari virus campak yang dimatikan (virus campak yang berada dalam larutan formalin yang dicampur dengan garam aluminium)

Dosis baku minimal untuk pemberian vaksin campak yang dilemahkan adalah 1000 $TCID_{50}$ atau sebanyak 0,5 ml. Untuk vaksin hidup, pemberian dengan 20 $TCID_{50}$ saja mungkin sudah dapat memberikan hasil yang baik. Pemberian yang dianjurkan secara subkutan, walaupun demikian dapat diberikan secara intramuskular.

Pada saat ini di negara yang sedang berkembang, angka kejadian campak masih tinggi dan seringkali dijumpai penyulit, maka WHO menganjurkan pemberian imunisasi campak pada bayi berumur 9 bulan. Untuk negara maju imunisasi campak (*MMR*) dianjurkan pada anak berumur 12-15 bulan dan kemudian imunisasi kedua (*booster*) juga dengan *MMR* dilakukan secara rutin pada umur 4-6 tahun, tetapi dapat juga diberikan setiap waktu semasa periode anak dengan tenggang waktu paling sedikit 4 minggu dari imunisasi pertama (Rosenthal, 1993, CDC, 1998, Hutchins, 2001)

Untuk mendapatkan respons imun yang baik, pemberian imunisasi campak sangat dipengaruhi oleh saat pemberian imunisasi. Hal ini disebabkan oleh karena masih adanya antibodi *maternal*. Banyak penelitian yang dilakukan untuk mengetahui kapan hilangnya antibodi *maternal* ini, sehingga vaksin yang diberikan bisa menimbulkan respons imun yang baik (Albrecht, 1997, Heriyanto, 2000; Committee on Infectious Disease, 2000, Maldonado 2003). Albrecht pada penelitiannya mendapatkan bahwa banyak anak-anak setelah umur 12 bulan masih mempunyai antibodi *maternal*. Makin tinggi titer antibodi *maternal* yang didapatkan, akan mengalami kegagalan dalam serokonversinya. Anak dengan titer antibodi *maternal* rendah akan menunjukkan serokonversi, tetapi kadar antibodi yang dihasilkan akan lebih rendah dibandingkan dengan kadar antibodi dari anak yang sebelumnya tidak mempunyai antibodi *maternal* (Rawls, 1974, Norby, 1976; Albrecht, 1977, Nokes, 1990; Orenstein, 1994; Ome, 1999; Otten, 2003).

Imunisasi campak tidak dianjurkan pada ibu hamil, anak dengan imunodefisiensi primer, penderita *tbc* yang tidak diobati, penderita kanker atau transplantasi organ, mereka yang mendapat pengobatan imunosupresif jangka panjang atau anak dengan *immunocompromised* yang terinfeksi HIV. Anak yang terinfeksi

HIV tanpa immunosupresi berat dan tanpa bukti kekebalan terhadap campak, bisa mendapat imunisasi campak (Maldonado, 2003)

Untuk mendapatkan hasil yang sebaik-baiknya dari pemberian imunisasi campak, yang penting diperhatikan adalah angka cakupan dan efektifitas vaksin. Hal ini ditunjukkan dengan pengalaman penanggulangan penyakit campak di negara Afrika. Walaupun angka cakupan sudah tinggi, namun masih sering timbul wabah. Oleh karena itu penting untuk meningkatkan angka cakupan sampai 100% dan mendapatkan vaksin yang 100% efektif (Cutts, 1991)

Kesulitan untuk mencapai dan mempertahankan angka cakupan yang tinggi bersama-sama dengan keinginan untuk menunda pemberian imunisasi sampai antibodi *maternal* hilang merupakan suatu hal yang berat dalam pengendalian penyakit campak. Pada anak-anak di negara berkembang, antibodi *maternal* akan hilang pada usia 9 bulan, dan pada anak-anak di negara maju setelah 15 bulan (Hall, 1993; Shephard, 1994; Williams, 1995; Papania, 1999; Strebel, 1999; Strebel, 2003; Parker, 2006)

2.2.2. Kegagalan imunisasi Campak.

Zakiudin dkk. pada tahun 1998 telah mengadakan penelitian pemeriksaan titer antibodi campak pada anak usia sekolah yang telah mendapat vaksinasi campak di SD Kenari Jakarta Pusat. Murid sekolah tersebut dibagi 2 kelompok usia, yaitu usia 5-7 tahun dan 10-12 tahun. Pemeriksaan titer antibodi dilakukan dengan tehnik *ELISA*. Dari kelompok 5-7 tahun didapatkan 69 sampel dengan titer antibodi campak positif pada 59 anak (93%). Dari kelompok yang telah mendapatkan imunisasi campak didapatkan 28.3% pernah menderita campak setelah imunisasi, sedangkan pada kelompok 10-12 tahun didapatkan 50% pernah menderita campak setelah imunisasi.

Dari kelompok usia 5-7 tahun didapatkan titer antibodi campak positif 78% dengan kejadian penyakit campak setelah imunisasi sebanyak 28.3% sedangkan pada kelompok umur 10-12 tahun didapatkan titer antibodi campak positif 93% dengan kejadian terkena penyakit campak setelah imunisasi 50% (Mathias, 1989; Heriyanto, 1998).

2.2.3. Pemberian imunisasi ulang Campak.

Sejak 1 Oktober 1996, pemerintah Inggris telah meniadakan pemberian imunisasi ulang (*second dose*) untuk Program imunisasi anak. Dengan ini, maka pemerintah Inggris merupakan negara ke-38 di dunia yang memberikan jadwal imunisasi ulang pada imunisasi campak pada anak.

Di Amerika Serikat, menjelang umur 12 tahun anak-anak harus sudah mendapat dua dosis imunisasi campak. Yang pertama pada waktu atau segera setelah ulang tahunnya yang pertama, sedang yang kedua pada umur 11 – 12 tahun atau pada 4 – 6 tahun yaitu pada waktu masuk sekolah. Kemudian pada tahun 2001, program nasional imunisasi memberikan dosis kedua imunisasi campak pada usia masuk sekolah (*school entry*). Saat ini, imunisasi rutin pada anak adalah dosis pertama pada usia 12 – 15 bulan sedangkan dosis kedua pada usia 4 –6 tahun (Linnemann, 1982, Hutchins, 2001, CDC, 2002)

Rasional untuk pemberian imunisasi ulang tersebut adalah (Tulchinsky, 1993): (1). memberi imunisasi pada mereka yang belum mendapatkan imunisasi awal (kegagalan memberi imunisasi). (2) memberi imunisasi pada mereka yang gagal merespons pemberian imunisasi awal (*vaccine failure*) dan (3). memberi *booster* pada mereka yang kekebalannya menurun

Di negara yang telah melaksanakan program pemberian imunisasi ulang tersebut, didapatkan penurunan insidens kasus campak sebanyak 73 - 99%. Imunisasi awal dapat diberikan vaksin monovalen, sedang untuk imunisasi ulang atau imunisasi awal di negara maju dimana semua ibu sudah mendapat imunisasi, diberikan vaksin kombinasi MMR (*Measles-Mumps-Rubella*). Keuntungan dari pemberian vaksin kombinasi MMR ini adalah : (1). mengurangi biaya pengobatan penyakit-penyakit tersebut dan komplikasinya (2). mengurangi jumlah pemberian suntikan (3) mengurangi rasa sakit pada bayi (4). mengurangi jumlah kunjungan ke Rumah Sakit/ dokter

Pada tahun 1998, *American Academy of Pediatrics (Committee on Infectious Disease, 1998)* telah mengeluarkan rekomendasi dan pernyataan untuk memberikan imunisasi ulang campak dengan vaksin MMR. Hal ini didasarkan pada kenyataan bahwa implementasi vaksinasi ulang ternyata meningkatkan penanggulangan campak lebih baik, walaupun 95% dari anak sekolah telah mendapatkan imunisasi satu dosis.

Evaluasi jadwal pemberian imunisasi campak ulang telah dilakukan di Amerika Serikat dan mendapatkan bahwa pemberian imunisasi ulang meningkatkan angka cakupan, meningkatkan imunitas humoral yang tinggi dan proteksi klinis yang lebih baik (Hutchins, 2001). Di sejumlah negara berkembang lainnya juga telah menerapkan program imunisasi campak ulang ini dengan memberikan dosis kedua pada anak sekolah. Seringkali pemberian ini disertai dengan vaksin multivalen seperti MMR. Dengan pemberian imunisasi ulang tersebut, negara Swedia juga telah mencapai angka cakupan yang tinggi dan angka kesakitan yang rendah (Rosenthal, 1993; Clements, 1995; Lee, 2000; May-Lill, 2003)

Di Indonesia, penelitian oleh Heriyanto merekomendasikan untuk pemberian imunisasi ulang pada anak pra-sekolah (Heriyanto, 1998; Heriyanto, 1999)

Sebagai tindak lanjutnya, sejak tahun 2000 telah dilakukan Program BIAS (Bulan Imunisasi Anak Sekolah) terhadap semua anak sekolah dengan pemberian imunisasi DPT dan Campak sebagai salah satu terobosan untuk pemberian imunisasi ulang Campak pada anak usia sekolah. Cara ini ternyata memberikan hasil yang baik dalam usaha meningkatkan tingkat kekebalan dan mengurangi angka kesakitan karena penyakit campak, seperti yang terlihat dari hasil penelitian pendahuluan (*preliminary study*) yang telah dilakukan oleh Salimo pada murid SD di Surakarta. Dari 13 anak yang diperiksa kadar IgG spesifik campak, didapatkan semuanya mempunyai IgG spesifik campak yang cukup tinggi di atas nilai *cut-off point* nya (Salimo 2006).

2.2.4. Profil serologis infeksi virus campak

Seperti halnya dengan pemberian imunisasi, setelah terjadi infeksi virus campak akan timbul respons imun pada tubuh penderita, dapat sebagai respons imun primer maupun sekunder (Allan, 2002; Maldonado, 2003). Telah dilakukan penelitian untuk melihat respons antibodi primer dan sekunder terhadap campak setelah imunisasi primer, sekunder dan infeksi virus campak alami. Dari 32 anak non-imun yang mendapat imunisasi campak primer, 31 (97%) menunjukkan antibodi IgM, sesuai dengan respons antibodi primer. Dari 21 anak yang sudah mendapat imunisasi dengan kadar IgG rendah tidak ada yang terdeteksi adanya IgM, sementara 33 dari 35 (94%) anak yang tidak mempunyai IgG sebelumnya, timbul IgM. Dari 57 kasus campak yang sebelumnya sudah mendapat imunisasi, 55 (96%) terdeteksi IgM, dimana 30 (55%) adalah respons antibodi primer dan 25 (45%) sebagai respons antibodi sekunder sesuai dengan ratio IgM terhadap IgG. Kesimpulan dari penelitian ini : (1) IgM timbul setelah imunisasi campak pada anak yang belum mendapat imunisasi (2) IgM tidak timbul pada revaksinasi anak yang sudah mendapat imunisasi (Erdman, 1993).

2.3. Biologi Molekuler virus campak

2.3.1. Struktur molekuler Virus Campak

Virologi molekuler virus campak. Virus campak adalah virus RNA termasuk dalam genus *Morbilivirus* dan famili *Paramyxoviridae*. Mempunyai sifat hanya menginfeksi manusia dan primata saja. Bersifat *negative-sense*, genome satu untai (*single stranded*) RNA terdapat didalam suatu nukleokapsid berbentuk heliks di dalam virion. Genome terdiri dari 15 894 nukleotida, yang mengkode 6 struktur protein yaitu *nucleoprotein (N)*, *phosphoprotein (P)*, *matriks (M)*, *fusion (F)*, *hemaglutinine (H)*, *large protein (L)*, dan 2 protein tak berstruktur, yaitu C dan V (Griffin, 1996, Rota, 2003)

Protein N.

Protein N dari mRNA virus campak merupakan bagian yang pertama kali mengalami transkripsi dari genom, dan merupakan bagian yang paling berlebih dari protein virus. N di-sintesa di ribosom bebas dan mengalami pelipatan di sitoplasma. Pada pemeriksaan elektroforesis dengan *gel polyacrylamide* membentuk band 60-kd tapi sering dipecah oleh enzim-enzim protease seluler selama proses ekstraksi menjadi 45 dan 41-kd. Konservasi urutan asam amino adalah kuat pada bagian terminal dari protein N, yang berisi tempat protein P (Griffin, 1996)

Protein H.

Protein H mempunyai fungsi untuk hemaglutinasi dan reseptor pengikat (*receptor-binding*). Protein H merupakan *glikoprotein transmembran* tipe II yang terletak pada permukaan sel yang ter-infeksi dan virion sebagai ikatan disulfida homodimer. Protein H berikatan erat dengan protein F pada permukaan sel dan bertindak bersama dengan protein F selama proses fusi dan masuknya virus. Telah dilakukan penelitian analisa urutan nukleotida yang dilakukan pada 50 isolat virus

campak yang di isolasi di Argentina pada waktu wabah pada tahun 1997-1998 dengan fragmen 377 bp dari protein H dan di amplifikasi dengan RT-PCR dan kemudian dilakukan analisa filogenetik mendapatkan adanya banyak perubahan kecil-kecil dan adanya titik mutasi (*point mutation*) (Barrero, 2000).

Protein M.

Protein M merupakan komponen dari kapsul protein bersama dengan dua glikoprotein transmembran F dan H. Protein M merupakan protein dasar dengan beberapa bagian hidrofobik yang sudah terkonservasi. Protein M dari mRNA virus campak mengandung kurang lebih 400 nukleotida dari urutan tanpa sandi dan fungsinya belum diketahui. Pada sel yang terinfeksi Protein M berhubungan dengan nukleokapsid dan bagian dalam dari membran plasma. Penelitian terhadap urutan nukleotida protein M dari dua virus campak liar ternyata berbeda dengan urutan nukleotida dari galur vaksin yang telah ditemukan (Baczko, 1991).

Protein P, C dan V.

Protein P berikatan dengan protein N dan RNA, dan hanya sejumlah kecil terdapat dalam paket virus. Protein V di-fosforilasi dan di-distribusi tersebar didalam sitoplasma sel yang terinfeksi. Fungsi dari protein C dan V belum jelas, tetapi kemungkinan mempunyai peran pada pengaturan transkripsi dan/atau replikasi.

Protein F.

Protein F dari mRNA virus mengandung nukleotida panjang (460-585) kaya akan ikatan G-C dan diperkirakan mempunyai struktur sekunder yang banyak. Protein F mempunyai peran penting pada proses fusi dari virus kedalam sel. Fusi ini terjadi lebih baik bila disertai dengan ekspresi dari protein H (Griffin, 1996).

protein H. Protein *chaperone* terlibat dalam bidang yang luas pada proses seluler, dan induksinya oleh virus campak dapat mempunyai peran untuk patogenesis campak dan sekuelenya (Bolt, 2001; Schneider-Schaulies, 2001, Schneider-Schaulies, 2002).

Walaupun virus campak bersifat monotipik, tetapi variasi genetik dan antigenik dapat dideteksi pada virus campak tipe alam. Banyak laboratorium telah melakukan analisa urutan virus campak tipe alam dan memperlihatkan bahwa teknik epidemiologi molekuler dapat dipergunakan untuk mempelajari pola penularan virus campak (WHO, 2001).

Karakterisasi genetik virus campak telah memfokuskan analisa dari protein gen H dan atau N yang mengandung sampai 8 % variasi nukleotida. Regio yang paling bervariasi dari genome virus campak adalah regio nukleotida 450, yang mengkode terminal COOH protein N, dimana variabilitas nukleotida dapat mencapai 12 % di antara virus-virus campak tipe alam.

Untuk kepentingan epidemiologi molekuler, dilakukan penandaan genotip dengan mempertimbangkan unit operasi taksonomi. Pada tahun 2001, WHO telah membuat konvensi untuk pemberian nama galur virus campak (Wills, 2001, WHO, 2001a). Oleh karena hasil urutan sekuensing bisa berasal dari hasil isolasi virus pada kultur sel atau dari ekstraksi RNA langsung dari bahan klinis, maka pemberian nama galur adalah sebagai berikut

- MV_i : virus campak isolat dari kultur sel
- MV_s : virus campak sekuensing berasal dari ekstraksi RNA dari bahan klinis

Selanjutnya, pemberian nama dilakukan dengan urutan sebagai berikut .

- Nama kota atau provinsi asal kasus di-diagnosis
- Nama negara, mempergunakan 3 suku kata singkatan dari WHO
- Tanggal spesimen diambil

kemudian dibandingkan dengan set urutan acuan *WHO*, yang tersedia di *GenBank* dan di *WHO Strain Banks*, untuk menentukan genotipnya.

Untuk memudahkan pemberian nama pada genotip virus yang baru ditemukan, *WHO* pada tahun 2005 membuat referensi strain virus campak liar yang digunakan untuk analisa genetik yang dapat dilihat pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1 Menunjukkan galur referensi yang digunakan untuk analisis genetik virus campak liar (*WHO*, 2005).

Table 1. Reference strains to be used for genetic analysis of wild type measles viruses, 2005
 Tableau 1. Sources de référence pour l'analyse génétique des virus contagieux à measles, 2005

Genotype = Genotype	Status = Statut	Reference strain Name = Nom de la souche	Accession no. = Numéro d'accès	GenBank accession no. = Numéro d'accès
A	Active	Edmonton-AT, USA, 54	U03964	JF7987
B1	Inactive	London-GE, 12/83 - 1974	U03952	JF7993
B2	Active	Urbana-GE, 84 - 1974	U03951	JF7994
B3	Active	Ilves-Ten, USA, 24/10/1971	U03953	JF7995
C1	Active	Osaka-1974	U03954	JF7996
C2	Active	Madrid-USA, 77 - 1974	U03955	JF7997
C3	Inactive	Brno-1974 (WHO)	U03956	JF7998
C4	Active	Kenneth-1974 (WHO)	U03957	JF7999
D1	Active	Minneapolis-USA, 1974	U03958	JF8000
D2	Active	Michigan-USA, 89	U03959	JF8001
D3	Active	Palau-USA, 1989	U03960	JF8002
D4	Active	New Jersey-USA, 94	U03961	JF8003
D5	Active	Victoria-USA, 1994	U03962	JF8004
D6	Active	Victoria-USA, 1994	U03963	JF8005
D7	Active	Victoria-USA, 1994	U03964	JF8006
D8	Active	Victoria-USA, 1994	U03965	JF8007
D9	Active	Victoria-USA, 1994	U03966	JF8008
D10	Active	Kampala-USA, 1994	U03967	JF8009
E	Inactive	Guangzhou-1971 - 1974	U03968	JF8010
F	Inactive	Wuhan-1974 - 1974	U03969	JF8011
G1	Inactive	Beijing-1962	U03970	JF8012
G2	Active	Amsterdam-1974	U03971	JF8013
G3	Active	Yokohama-1974	U03972	JF8014
H1	Active	Hunan-1982	U03973	JF8015
H2	Active	Beijing-1982	U03974	JF8016

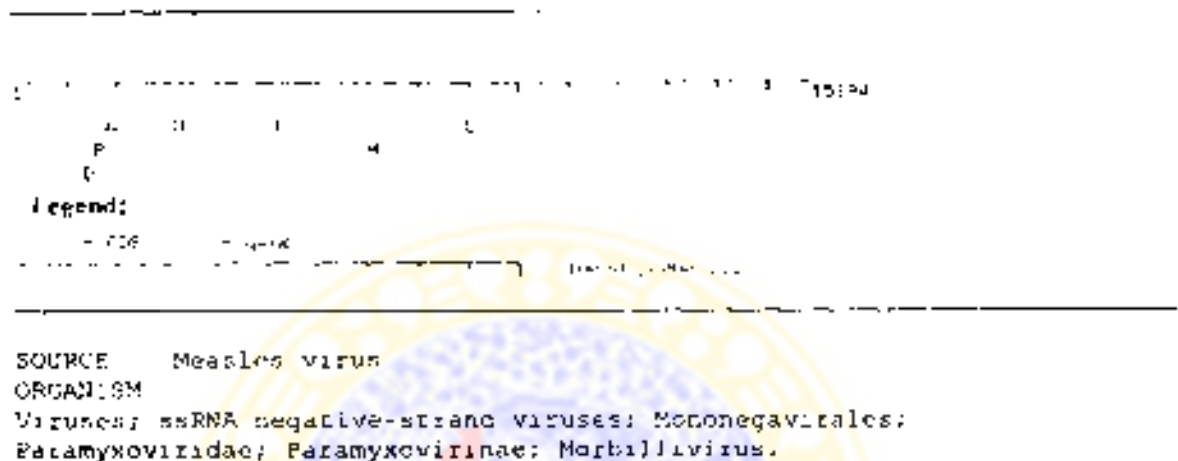
* Active = Genotype (status) has been isolated within the past 15 years - Genotipe aktif = Genotipe yang telah diisolasi dalam 15 tahun terakhir.

* Inactive = Genotype (status) has been isolated in the past 15 years - Genotipe tidak aktif = Genotipe yang telah diisolasi dalam 15 tahun terakhir.

Sequences available at GenBank: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/2seq/blast.cgi> - Sources: [http://www.who.int/collab/rti/rti_banking.html](http://www.who.int/collab/rti/rti/rti_banking.html)

Apabila memungkinkan, usaha-usaha dilakukan untuk meng-isolasi virus dengan mempergunakan *cell-line* yang lebih baik, yaitu sel B95a. Sel B95a adalah suatu *Epstein-Barr virus-transformed, marmoset B lymphoblastoid cell line* yang 10.000 ribu kali lebih efisien untuk mendeteksi virus campak dari spesimen klinik daripada *cell line* fibroblast, seperti *Vero* sel. Lebih tepat, *reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR)* digunakan untuk meng-amplifikasi virus campak dari spesimen penderita campak (Takeuchi, 2000, Takeuchi, 2002; Rota,

2003). Adapun genome lengkap dari virus campak dapat dilihat pada Gambar 2.5 (Takeuchi, 1998). Pada gambar tersebut tampak bahwa pada genom lengkap dari virus campak terdiri dari 15894 nukleotida dan terdapat 6 gen protein, yaitu . N, P, M, F, H dan L.



Gambar 2.5 Genome lengkap virus campak (Takeuchi, 1998)

Unutan nukleotida gen N dari genotip A Edmonston-wtUSA/54 adalah sebagai berikut (Takeuchi, 1998):

```

1   atggccacac  ttttaaggag  cttagcattg  rttcaaaaga  acnaggacaa  accaccocatt
61  acatcaggat  ccggtggagu  catcagagga  atcaaaacaa  ttatttatagt  accaatccct
121 ggagattcct  caattaccac  tggatccaga  cttctgggac  ggttggfcag  gtcaattgga
181 aacccggatg  tgagcgggpc  caaactasca  ggggcactaa  taggtatatt  atccctatlt
241 gtggagtcrc  caggtcaatt  gatccagagg  atcaccgatq  accctqacgt  tagcataagg
301 ctggttagag  ttgtccagag  tgaccagtra  caatctggcc  ttacccttgc  atcaagaggf
361 accaacatgg  aggatgagge  ggaccaatcc  cttccacatg  atgctccaat  tagtagtqat
421 caatccagat  cgggatggth  cgagaacaaq  gaaatctcag  atattgaagt  gcaagaacct
481 gagggattra  acatqatbct  ggttaccatc  ctagcccaaa  cttgggtctt  gctggcaaaq
541 cccggtacgg  cccagacac  ggcagctgat  tggagctaa  gaagcggat  aaagtacacc
601 caacaaagaa  gggtagttgg  tgaattitaga  ttggagagaa  aatggttgga  tqtggtgagf
661 aacagqattg  ccgaqqaact  ctccctaccg  ngattcaifg  tggctctaat  cctggatatic
721 aagagaacac  ccggaaccaa  acccaggalt  gctgaaatga  tatgtgacat  tgcataalat
781 atcgtagagg  caggattagc  cagrtttatc  ctgacctatf  agtttgggat  aqaaactatg
841 tatcctgctc  ctggactgca  tgaatttgct  ggrgagttat  ccacacttga  gtccttgatg
901 aaccillacc  agcaaatggy  ggaacttgc  cctacatgg  taactctgga  gaactcaatt
961 cagaacaagt  tcagtcgcaq  atcataccct  ctactctgga  gctatgcat  qggagttaga
1021 gtggacuttg  aaaaactccat  gggaggtttg  aactttggcc  gatcttactt  tgatccagca
1081 catcttagat  taqggcaage  gatggtaagg  agqtccagctg  gaanggtcag  ttccacattg
1141 gcaletgaac  lcggtaicac  tggcggaggt  gcaaggcttg  ttccagagat  tccaattgcat
1201 auctautagq  acaagatcaq  tgaagccttt  qaaccagac  aaqcccaagt  accattteta
1261 cacqgtgata  aaagtgagaa  tgagctaccg  agattggggg  gcaaggaaga  taggagggtc
1321 aaacagagtc  qaqaqaaagc  cagggagagc  facagagaa  cggggcccaq  cagaqcaagt
1381 gatgagagag  ctgcccacat  tcnaccggct  anacccttag  acattganc  ngcarcggag
1441 tccagccaaq  atccgcagga  cagtcgaagg  tcaactqacg  ccttqcttag  gctqbaagcc
1501 atnccagaa  tctcggcaga  acaggctca  gacacggana  cccctatagf  qracaatgac
1561 aqaatctctc  tagactaggt  gcaagagggc  gncggcg

```

Sedangkan urutan nukleotida gen H dari genotip A Edmonston-WT.USA/54 adalah (Takeuchi,1998):

```

1 atgtaccac aacgagacc gataaatgcc ttctacaag ataaccucca tcccaggga
41 agtaggatag tcaataacag agaaccalc ttgatigata gacctatagt ttgtctggt
121 gttctgtttg tcaatgctct gagcctgac dggctgctag ccatttcagg cattagactt
181 catcgggcag ccactctac ccgagagatc cacaanaagc tcagaccaca tctagatgta
241 actaacctca tccagacatc ggtcaagatc gtgctgacac caactctcaa aatcatcgg
301 gatqaagtcg gcccagagac acctcagaga ttcactgacc taqtgaatc cattctctgac
361 aagattbaal tccctaatcc ggalayggag taaggactca gagatctcac ttctgtatc
421 aauccegcag aqaqaatcaa attgattat gatcaatc qtqagatgt ggtctctgaa
481 gagctca:ga atgcattggt gaactcaac ctactggaga ccagaacaa caatcagctc
541 ctagctgtct caaagggaaa ctgctcaggg ccaccaca tcagaggtca attctcaac
601 atgtctgtct cctgtttaga ctigtallta agtccaggtt acaatctgc attctatgc
661 actatgacat cccagggaa gtatggggga acttactatg tygaaaagcc taactgagc
721 agcaaaaggt cagagctctc acaactgagc atgtanccag tgtttgaagt aggtcttctc
781 agaaatccag gtttgggggc tccgctcttc calatgaca actatcttga ccaaccagcc
841 agraatgctc tcagcaactg tatggtggct ttgggggagc tcaaacctgc agcccttctg
901 cccggggagc attctctcac aattctctat cagggatcag gyaaggtgt cagcttccag
961 ctgctcaagc taggtctctg gaactccca accgactgc attctagct cccctctca
1021 accgatgctc cagtgatagu caggcttctc ctctctctc acagaggtgt tctgctgac
1081 aatcaagcna aatgggctgt cccgacaaa cgaacagatg acaggttggc atggagaca
1141 tgcctccaac agggctgtaa ggttaaaalc caagcactct cagagatcc ccagctggca
1201 ccactcgaagc ataacaggat tctctcactc ggggctctgt ctgttctctc gactctgaca
1261 gttgagctta aaatcaaat tgttctggga ttggggccat tgatcaaca cggctcaggg
1321 atggacctat acaaatccaa ccacaacac gttctatggc tgactatcc gccantgag
1381 aacctagctc taggtctaat caacacatg gttgtgata ccagatcca ggttctctc
1441 aacctctca ctgtcccaat taaggaagca ggcgaagact gccatgccr aacatanta
1501 cctggggagc tggatggtga tgtcaaacct agttccaatc tgggtatct acctggtcaa
1561 gatctccaat atgttttggc aacctcagat accctcaggg ttgaacatgc tgtggttat
1621 taagtttaca gccagggccg ctcaattctc tacttllatc ctlltaggtt gccatlaaag
1681 gggctccca tccaattaca agtggatgc tccactggg accaaaaact ctggtccct
1741 caclctctgt tcttggcga ctcaaatct ggtggacata tccctcactc tgggatggg
1801 ggcctgggag ccagctgac actcaaccgg caagatgaa ccaatccag atgggctgc
1861 tagtgaacca atctctatgat gtcaccaga cctagggcat acccaatagt gtgaataga
1921 caccagaatt aaaaaa

```

2.3.2. Distribusi global genotip virus campak.

Analisis urutan menunjukkan bahwa strain vaksin campak berasal dari genotip A. Ini meliputi derivat vaksin dari isolat awal Edmonston 1954 (misalkan Moraten, Schwarz, Edmonston Zagreb. AIK-C) dan juga derivat dari virus campak tipe alam lainnya yang di-isolasi selama periode 1950 dan 1960 di China dan Jepang (misalkan Shanghai-191, Chanchun-47, CAM-70) Hal ini mengingatkan bahwa genotip A selain telah beredar secara luas pada era pra-vaksin, juga mungkin karena genotip A lebih sering dideteksi karena genotip A lebih sering dideteksi dengan kultur jaringan yang tersedia pada saat itu. Walaupun mungkin virus genotip A tipe alam masih

beredar, tetapi dugaan kuat sepertinya menyatakan bahwa virus genotip A adalah virus vaksin atau kontaminasi laboratorium (Bellini, 1994; Griffin, 1996; Bellini, 1998).

2.3.3. Variasi galur virus campak

Dari perbandingan struktur protein utama *paramyxovirus* dan *morbillivirus*, telah jelas bahwa region yang menyandikan COOH-terminal bagian dari protein N dan NH₂-terminal 100 asam amino dari protein C dan P adalah bagian variabel dari genom virus ini. Derajat variasi lain yang lebih rendah terdapat pada protein H. Urutan sandi protein H dan N telah dianalisa lebih rinci, terutama oleh karena kedua protein ini mempunyai sifat respons imun humoral yang kuat dan protein N mungkin mempunyai peran dalam meningkatkan imunitas seluler (Rima, 1995; Rima, 1997; Parks, 2001).

Urutan dari COOH-terminal 151 asam amino protein N telah dianalisa pada 46 galur virus campak. Hasil analisa tersebut menunjukkan terdapat perbedaan lebih dari 7.2 % urutan sandi nukleotida dan 10.6 % urutan asam amino pada galur yang paling tidak berhubungan

Pada 1983, Shesberadaran (Shesberadaran, 1983) mendapatkan dalam penelitiannya bahwa protein M dan H mempunyai derajat variasi yang terbesar di antara galur lainnya, sementara protein P, N dan F secara antigenik relatif lebih stabil

2.3.4. Epidemiologi molekuler virus campak

Karakterisasi genetik virus campak telah terbukti menjadi pelengkap yang kuat pada teknik standard epidemiologi yang dipergunakan untuk mempelajari penyebaran virus (Griffin, 1993, Guris, 2003, Rota, 2003, Grenfell, 2004, El Mubarak, 2004) Data molekuler menolong konfirmasi sumber dari penyebaran virus. Surveilans molekuler paling menguntungkan bila mungkin mengamati perubahan

Saat ini, ilmu epidemiologi molekuler sedang berkembang dengan pesat. Ilmu epidemiologi molekuler adalah sebuah ilmu yang mempelajari berbagai faktor resiko genetik dan lingkungan, yang di-identifikasi melalui tingkat molekuler, baik terhadap etiologi sebagai penyebab, distribusi dan pencegahan penyakit didalam keluarga dan lintas populasi (Rima, 1995a; Rota, 1996; Katayama, 1997; Liffick, 2001; Rota, 2002; Korukluoglu, 2005). Aplikasi dari pendekatan epidemiologi molekuler terutama merupakan kombinasi pendekatan amplifikasi fragmen tertentu genom virus menggunakan tehnik *Polymerase Chain Reaction (PCR)* dan analisis sekuensing nukleotida. Saat ini epidemiologi molekuler merupakan alat yang sangat penting dan sensitif untuk mempelajari penyebaran virus pada tingkat molekuler, sehingga dapat memberikan pengertian yang lebih baik pada kejadian epidemiologi (Rota, 1995; Rota, 1996; Santibanez, 2002)

Polymerase Chain Reaction (PCR). PCR adalah suatu tehnik yang dipakai untuk melipatgandakan asam deoksiribonukleat (DNA) secara in-vitro dengan cara enzimatis (Shimizu, 1993; Rosenblatt, 1995 ; de Swart, 2001a). Segmen DNA yang di-amplifikasi adalah segmen DNA yang terletak di antara 2 bagian yang telah diketahui urutannya, yang disebut sebagai *primer*. Pada reaksi ini dibutuhkan : DNA target (sasaran), sepasang *primer*, enzim polimerase DNA yang termostabil, *buffer* dan alat *thermal cycler* (Handajani, 2003)

Amplifikasi DNA dapat dilakukan dengan prinsip dasar sebagai berikut : (1) 2 rantai DNA merupakan pasangan yang komplementer, (2) pemisahan rantai DNA menjadi rantai tunggal, masing-masing rantai dapat dipakai sebagai cetakan (*template*) untuk mensintesis rantai pasangannya.

Proses amplifikasi DNA melalui tiga tahap berikut : (1) denaturasi, (2). *annealing* dan (3) ekstensi (*elongation*). Pada tahap denaturasi yang terjadi pada

DNA dan dilanjutkan dengan tehnik sekuensing nukleotida untuk menentukan urutan nukleotidanya.

Sekuensing nukleotida. Sekuensing nukleotida merupakan cara yang digunakan untuk menentukan urutan nukleotida secara langsung dari suatu fragmen DNA. Ada dua cara untuk melakukan sekuensing nukleotida ini, yaitu dengan cara kimiawi dan cara enzimatik, dan akan didapatkan rantai oligonukleotida untai tunggal (*single strand*), dengan panjang nukleotida dan ujung A, T, G, C yang berbeda. Keempat macam produk oligonukleotida untai tunggal ini kemudian dijalankan pada gel sekuensing, dan selanjutnya dapat dibaca pita urutan masing-masing nukleotida (Handajani, 2003).

Pemeriksaan RT-PCR telah digunakan secara luas dilaboratorium diseluruh dunia. Beberapa peneliti telah melakukan studi evaluasi perbandingan mengenai RT-PCR virus campak (Afsal, 2003; Weafer, 2005; Waku, 2006).

Urutan nukleotida (450 nukleotida) gen N minimum yang diperlukan untuk genotyping (sekuensing dari Edmonston *wild-type*; *codon start* = 1) adalah sebagai berikut (WHO, 2003).

Minimum N gene sequence (450 nucleotides) required for genotyping (sequence from Edmonston wildtype virus; codon start = 1) (nt 1126)

```
GTCAGT CCACATTGGC ATCTGAACTC GGTATCACTG CCGAGGATGC
AAGGCTTGTT TCAGAGATTG CAATGCATAC TACTGAGGAC AAGATCAGTA
GAGCGGTTGG ACCCAGACAA GCCCAAGTAT CATTCTACA CGGTGATCAA
AGTGAGAATG AGCTACCGAG ATTGGGGGGC AAGGAAGATA GGAGGGTCAA
ACAGAGTCGA GGAGAAGCCA GGGAGAGCTA CAGAGAAACC GGGCCCAGCA
GAGCAAGTGA TCGGAGAGCT GCCCATCTTC CAACCGGCAC ACCCCTAGAC
ATIGACACTG CATCGGAGTC CAGCCAAGAT CCGCAGGACA GTCGAAGGTC
AGCTGACGCC CTGCTTAGGC TGCAAGCCMT GGCAGGAATC TCGGAAGAAC
AAGGCTCAGA CACGGACACC CCTATAGTGT ACAATGACAG AATCTTCTA
GAC (nt 1575)
```

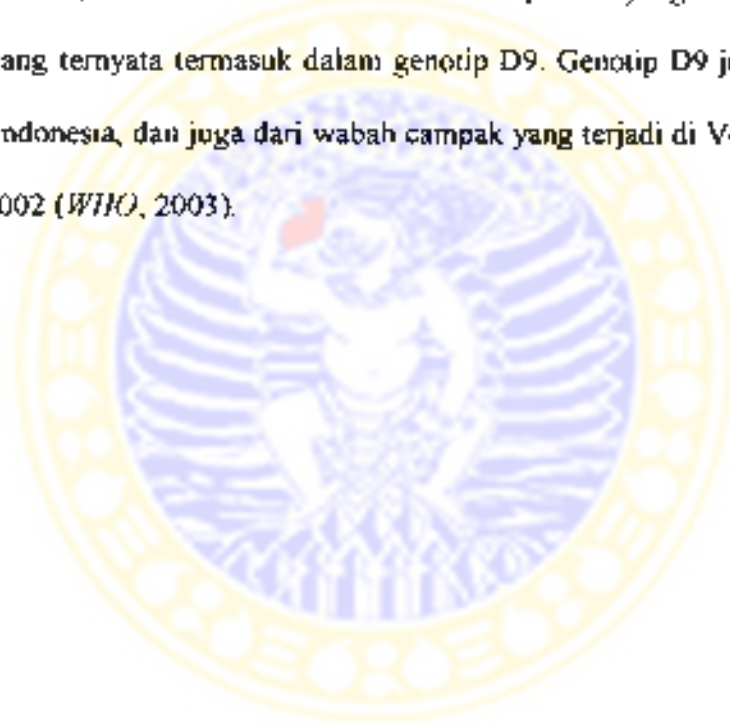
Sebelum genotip baru ditentukan diusulkan, WHO (WHO, 2001) telah menetapkan kriteria biologi dan epidemiologi molekuler harus dipenuhi sebagai berikut :

1. Sekuensing tersebut didapat untuk COOH-terminus dari gen N (450 nt) dan *full length* gen H *open reading frame*.
2. Perbedaan nukleotida minimum 2,5% untuk gen N dan 2,0% untuk gen H dari galur paling berdekatan berikutnya.
3. Pohon filogenetik sama untuk gen N dan H apabila menggunakan paling sedikit 2 perbedaan protokol analisis. Genotip baru harus didukung dengan derajat kepercayaan (*confidence levels*) *bootstrap* paling sedikit 95%.
4. Genotip baru didapat berdasar suatu seri isolat virus spesimen daripada satu sampel.
5. Genotip baru didasarkan pada sekuensing yang didapat dari paling sedikit 1 isolat virus dan genotip baru tersebut mempunyai galur referens sudah yang tersedia.
6. Genotip baru harus berguna dari segi epidemiologi, yaitu meningkatkan kemampuan untuk meng-identifikasi sumber infeksi atau menelusuri rantai penularan.

Pada tahun 1997, virus campak yang termasuk dalam *clade* G dapat di-isolasi dari seorang anak dari Jakarta (Indonesia) yang berobat ke suatu rumah sakit di Nederland, MVi/Amsterdam.NET/49.97 (de Swart, 2000). Hasil sekuensing gene N dan H cukup berbeda dengan galur rujukan yang ada yaitu G2. Virus campak galur G2 sebelumnya berhasil di-isolasi dari Indonesia dan Malaysia. Sebagai tambahan, pemeriksaan RT-PCR dan analisa sekuensing pada saat itu dari spesimen klinis yang didapat dari kasus campak yang diimport ke Victoria, Australia, berasal dari Timor Timur (sekarang Timor Leste) pada tahun 1999, MVs/Victoria,AUS/24.99

menunjukkan bahwa virus yang beredar di Timor Timur termasuk dalam *clade* G dan kemudian disebut G3 (*WHO*, 2001). Selanjutnya, telah dilaporkan juga isolat virus yang berasal dari Gresik, Jawa Timur (Indonesia) yang merupakan genotip G3, MVi/Gresik.INO/17.02 dan menjadi galur rujukan untuk genotip G3 (*WHO* 2003). Sekuensing gen N dan H dari MVi/Gresik.INO/17.02 sangat mirip dengan MVs/Victoria.AUS/24/99 dengan perbedaan nukleotida 0,8%.

Surveilens virologis terbaru telah berhasil meng-identifikasi genotip baru di Victoria, Australia, MVi/Victoria.AUS/12/99 dari pasien yang berasal dari Bali (Indonesia) yang ternyata termasuk dalam genotip D9. Genotip D9 juga di-isolasi di Pulau Jawa, Indonesia, dan juga dari wabah campak yang terjadi di Venezuela selama tahun 2001-2002 (*WHO*, 2003).



BAB 3

KERANGKA KONSEPTUAL

3.1. Kerangka konseptual penelitian.

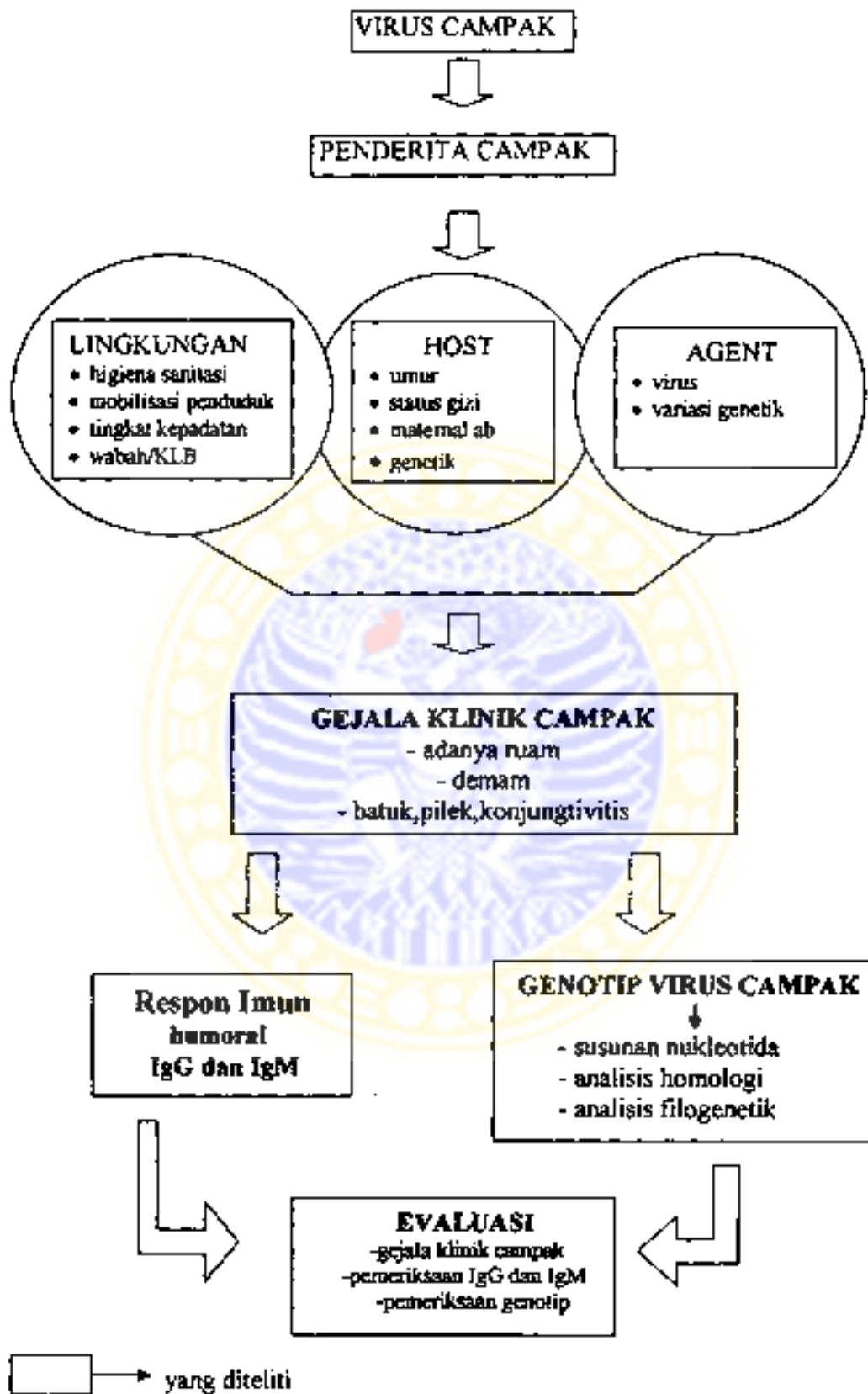
Banyak faktor yang mempengaruhi kerentanan seorang anak terhadap penyakit campak, di antaranya faktor *host*, lingkungan dan *agent*. Faktor *host* antara lain umur bayi waktu di-imunisasi, status gizi, dan adanya antibodi *maternal*. Faktor antibodi *maternal* harus dipertimbangkan dalam menentukan waktu pemberian imunisasi dasar, oleh karena dapat mempengaruhi timbulnya respon imun. Faktor lingkungan antara lain higienia sanitasi, adanya KLB, cakupan imunisasi, tingkat kepadatan hunian penduduk dan tingkat endemisitas terhadap penyakit campak disuatu daerah. Faktor *agent*, antara lain vaksinnya sendiri, dimana di Indonesia yang dipakai adalah CAM-70, adanya mutasi galur virus, jenis *adjuvant* yang dipakai dan perlakuan *cold-chain*.

Setelah seorang anak terkena infeksi virus campak, akan timbul gejala klinis campak sesuai dengan pengaruh faktor di atas. Dapat timbul gejala klinis jenis klasik, modifikasi, atipikal maupun hemoragis. Selain itu juga timbul respon imun berupa munculnya IgM dan IgG. WHO telah menetapkan bahwa untuk keperluan surveilans perlu dikonfirmasi dengan pemeriksaan serologis. Profil IgG dan IgM ini juga dapat bermacam-macam, tergantung umur anak, adanya antibodi *maternal* dan sudah pernah atau belum mendapat imunisasi campak. Saat ini di Indonesia telah dilakukan Program BIAS (Bulan Imunisasi Anak Sekolah) yang salah satu tujuannya adalah memberi imunisasi campak ulangan (kedua).

Dengan masih banyaknya kejadian wabah penyakit campak, WHO menyatakan bahwa penelitian epidemiologi molekuler harus dilakukan, oleh karena

dengan mengetahui karakteristik genetik virus campak dapat dipergunakan untuk mempelajari penyebaran virus campak. Untuk itulah pada penelitian ini dilakukan pemeriksaan genotip virus campak untuk mengetahui genotip virus campak apa yang beredar di Indonesia. Dengan mengetahui genotip virus campak merupakan alat yang berharga untuk menilai ke-efektifan program pengendalian penyakit campak.





Gambar 3.1. Kerangka Konseptual Penelitian

BAB 4

MATERI DAN METODE PENELITIAN

4.1. Jenis dan Rancangan Penelitian.

Jenis penelitian ini adalah penelitian deskriptif eksploratif. Dipilih jenis ini oleh karena mempunyai tujuan untuk mendapatkan genotip galur virus campak pada penderita campak yang telah dilakukan pemeriksaan manifestasi klinis dan pemeriksaan serologisnya.

Ditinjau dari aspek waktu pengumpulan data, penelitian ini termasuk rancangan penelitian potong lintang. Ditinjau dari ada atau tidaknya pemberian perlakuan, penelitian ini termasuk rancangan penelitian non-eksperimental (Sastroasmoro, 1995, Suparto, 1998, Budiarto, 2001, Taufiqurrahman, 2003;)

4.2. Populasi dan sampel penelitian.

Lokasi penelitian dilakukan di daerah Provinsi Jawa Barat (Kota Bandung), Provinsi Jawa Tengah (Kota Surakarta, Kabupaten Semarang, Kabupaten Sragen, Kabupaten Karanganyar, Kabupaten Boyolali, Kabupaten Sukoharjo dan Kabupaten Wonogiri), Provinsi Jawa Timur (Kabupaten Pacitan). Pemeriksaan serum penderita untuk mengetahui profil IgG dan IgM spesifik campak dilakukan di Laboratorium Prodia Pusat Jakarta, sedangkan pemeriksaan genotip virus campak dilakukan di Laboratorium *Tropical Disease Center* Universitas Airlangga (TDC Unair) Surabaya.

4.2.1. Populasi.

Populasi penelitian adalah bayi dan anak sampai umur 18 tahun yang tinggal di daerah lokasi penelitian.

4.2.2. Sampel.

Sampel adalah penderita campak yang tinggal dilokasi penelitian, baik yang dirawat di rumah sakit, berobat ke Puskesmas atau yang datang di tempat dokter praktek swasta, baik dokter umum atau dokter spesialis anak

4.2.3. Kriteria sampel.

Kriteria inklusi sampel adalah penderita campak dengan gejala klinis campak sesuai dengan yang direkomendasikan oleh *Center for Disease Control and Prevention* 1983 (CDC 1983) pada periode pengambilan sampel, yang bersedia mengikuti penelitian dan menandatangani Lembar Persetujuan Mengikuti Penelitian (*informed consent*) (lihat Lampiran 3) dan Lembar Persetujuan Tindakan Medik (lihat Lampiran 4)

Kriteria eksklusi sampel adalah penderita campak dengan gejala klinis campak pada periode pengambilan sampel yang menolak mengikuti penelitian dan menolak menandatangani Lembar Persetujuan Mengikuti Penelitian dan Lembar Persetujuan Tindakan Medik, juga penderita campak dengan *immunocompromised*, diabetes mellitus, *end stage renal disease*, dan keganasan

4.2.4. Teknik pengambilan dan jumlah sampel.

Pengambilan sampel menggunakan teknik *accidental sampling*, yaitu dengan mengikut sertakan penderita campak sesuai dengan kriteria inklusi

Jumlah sampel penelitian dianggap cukup bila telah mencapai 20-25 sampel. atas dasar adanya tenaga dokter spesialis anak yang mempunyai minat pada masalah penyakit campak, luasnya daerah penelitian, jumlah sampel terbanyak ditemukan

pada musim hujan sehingga bisa mencapai jumlah sampel yang diinginkan, dan tersedianya fasilitas laboratorium untuk menyimpan serum penderita.

4.3. Definisi Operasional Variabel.

1. Penderita campak adalah penderita yang menunjukkan gejala klinis campak dan memenuhi kriteria sesuai dengan yang direkomendasikan *Center for Disease Control and Prevention* 1983 (CDC 1983) sebagai berikut : (1) timbul ruam makulopapuler yang meyeluruh berlangsung selama 3 hari atau lebih (2) demam dengan suhu minimal 38.3°C , dan (3) salah satu dari gejala-gejala berikut : batuk, pilek atau konjungtivitis
2. Campak klasik : adalah penderita campak yang memenuhi kriteria CDC 1983 dengan gejala klinis sesuai dengan gejala klinis yang diuraikan pada bab gejala klinis diatas . yaitu ditandai dengan masa inkubasi, stadium prodromal, stadium erupsi dan stadium konvalesens yang ditandai dengan timbulnya hiperpigmentasi dan deskuamasi pada kulit.
3. Campak modifikasi adalah penderita campak dengan gejala klinis yang tidak sama dengan gejala klinis campak klasik, dalam hal masa inkubasi yang lebih lama, gejala panas yang lebih ringan dan lebih pendek jangka waktunya, timbulnya ruam yang tidak spesifik dan biasanya terjadi pada bayi muda, penderita *immunocompromised* dan penderita yang sudah mendapat imunisasi campak sebelumnya.
4. Campak atipikal adalah penderita campak dengan gejala klinis yang lebih berat, terjadi pada penderita campak yang telah mendapat imunisasi campak dengan vaksin yang berasal dari virus campak yang dimatikan

5. **Campak hemoragika** : adalah penderita campak dengan gejala klinis yang lebih berat, yaitu demam yang sangat tinggi, kejang, delirium, gangguan pernafasan dan adanya gejala perdarahan pada kulit dan mukosa kulit
6. **Campak pada penderita *immunocompromised*** : adalah penderita dengan gejala klinis berat dan terjadi pada penderita immunocompromised, misalkan pada penderita defisiensi sel T, jenis leukemia tertentu, limfoma dan pada penderita *AIDS*.
7. Pemeriksaan IgG dan IgM adalah pemeriksaan serologis untuk penderita campak dengan metode *Anti-Measles Viruses ELISA (IgG)* dan *Anti-Measles Viruses ELISA (IgM)* dan *EUROIMMUN (Medizinisch Laboragnostika AG)*. Hasil pemeriksaan untuk IgG adalah kuantitatif dengan hasil (1) negatif bila kadar <200 mIU/ml (2) *borderline* bila kadar $\geq 200 - < 275$ mIU/ml dan (3) positif bila kadar ≥ 275 mIU/ml (kadar *cut-off value* yang di-rekomendasikan oleh *EUROIMMUN* adalah sebesar 250 *milli international unit* mIU/ml). Sedangkan hasil pemeriksaan IgM adalah semi-kuantitatif dengan hasil (1) negatif bila ratio <0.8, (2) *borderline* bila ratio $\geq 0.8 - < 1.1$ dan (3) positif bila ratio ≥ 1.1
8. Pemeriksaan RT-PCR serum adalah pemeriksaan PCR yang didahului dengan reaksi *reverse transcription* untuk membuat cDNA dari RNA virus campak dalam serum penderita
9. Pemeriksaan sekuensing DNA adalah pemeriksaan yang dilakukan setelah didapatkan hasil *band* pada 544 *base pairs* (untuk PCR *first round*) dan 511 *base pairs* (untuk PCR *second round*) pada pemeriksaan elektroforesis hasil PCR, untuk menentukan urutan nukleotida dan selanjutnya untuk menentukan genotip virus campak
10. Pemeriksaan homologi dan analisis filogenetik adalah pemeriksaan yang dilakukan untuk mendapatkan adanya variasi genotip virus campak Sesuai dengan

rekomendasi *WHO (WHO 2005)* yang menyatakan jumlah minimum urutan nukleotida yang diperlukan untuk menentukan genotip virus campak adalah 450 nukleotida dari COOH-terminal 150 (asam amino) gen nukleoprotein (gen N) (Lampiran 5). Untuk selanjutnya, hasil sekuensing nukleotida virus campak diolah dengan menggunakan *Unweighted Pair Group Method using Arithmetic averages (UPGMA)* dengan memakai perangkat lunak komputer *Genetyx-Mac version 10.1*.

4.4. Bahan penelitian.

4.4.1. Pengambilan spesimen darah.

1. S spuit steril 10 ml
2. Kapas alkohol
3. Masker
4. sarung tangan
5. Tabung reaksi dengan tutup steril
6. Label
7. Alat sentrifuse bila ada
8. Lembar isian data Catatan Medik Penderita Campak (lihat Lampiran 2), Lembar Persetujuan Mengikuti Penelitian (*Informed Consent*), dan Lembar Persetujuan Tindakan Medik.

4.4.2. Pemeriksaan gejala klinik.

1. Stetoskop untuk mendengarkan suara paru
2. Senter untuk melihat adanya *Koplik's spot*.
3. Lembar isian Catatan Medik Penderita Campak.

4.4.3. Pemeriksaan IgG dan IgM anti Measles.

1. Spesimen serum penderita campak
2. Perangkat dari reagen *Anti-Measles viruses ELISA IgM, IgG* dari EUROIMMUN
3. Alat *wash buffer* perlengkapan dari *kit*.
4. Alat spektrofotometer dari Organon Teknika *Reader 530 Version 1.24*

4.4.4. Pemeriksaan PCR dan sekuensing DNA

4.4.4.1. Ekstraksi RNA

1. Spesimen serum
2. Kontrol positif
3. Kontrol negatif
4. *Trizol Reagent (Invitrogen)*
5. Etanol absolut
6. Etanol 75%
7. Aquadestilata
8. Tabung eppendorf 1.5 ml steril
9. *Plastic wrap*.

4.4.4.2. Sintesis cDNA

1. Hasil ekstraksi RNA
2. *Reaction mixture : RT buffer, dNTP's mix, Ribonuclease inhibitor, RTase*

4.4.4.3. Amplifikasi cDNA dengan PCR *first round* dan *second round* :

1. Hasil sintesis cDNA

2 *Primer* untuk PCR *first round* mengamplifikasi 544 *base pairs* (bp) pada gen N:

- *Sense* : N1 : 5'-tta ggg caa gag atg gta agg-3' pada posisi nt 1198-1218
- *Anti sense* : N2 : 5'-tta taa caa tga tgg agg g-3' pada posisi nt 1723-1741

Penomoran nukleotida tersebut diatas menurut data WHO (WHO, 2002). *Primer* N1 dan N2 telah dipublikasi sebelumnya (Mubarak, 2002)

Primers untuk PCR *second round* mengamplifikasi 511 *base pairs* pada posisi gen N:

Untuk PCR *second round* dilakukan *hemi-nested* PCR

- *Sense* : N1 : 5'-tta ggg caa gag atg gta agg-3' pada posisi nt 1198-1218
- *Anti sense* : MV63-3. 5'-ctg gcc etc ggc etc tog cac-3' pada posisi nt 1683-1703

Pada penelitian ini dipakai 3 *primer* seperti tertulis diatas. Tidak memakai semua *primer* seperti yang direkomendasikan WHO (WHO,2004) oleh karena berdasarkan pengalaman sebelumnya, pasangan *primer* N1 dan N2 sudah memberikan hasil yang baik, sehingga kedua *primer* tersebut dipakai untuk pemeriksaan PCR *first round*. Tetapi ternyata dengan hanya memakai pemeriksaan PCR dengan *first round* saja tidak dapat memberikan hasil PCR positif seperti yang diinginkan. Sehingga diputuskan untuk melakukan pemeriksaan PCR *second round* agar mendapatkan hasil PCR virus campak yang lebih spesifik. Kemudian untuk pemeriksaan PCR *second round*-nya dipakai pasangan *primer* N1 dan MV63-3 sesuai dengan rekomendasi

WHO, dimana posisi nukleotida *primer* MV63-3 ini lebih *internal* dibandingkan posisi nukleotida *primer* N2. Setelah memakai ketiga *primer* tersebut diatas didapatkan hasil pemeriksaan PCR positif lebih banyak

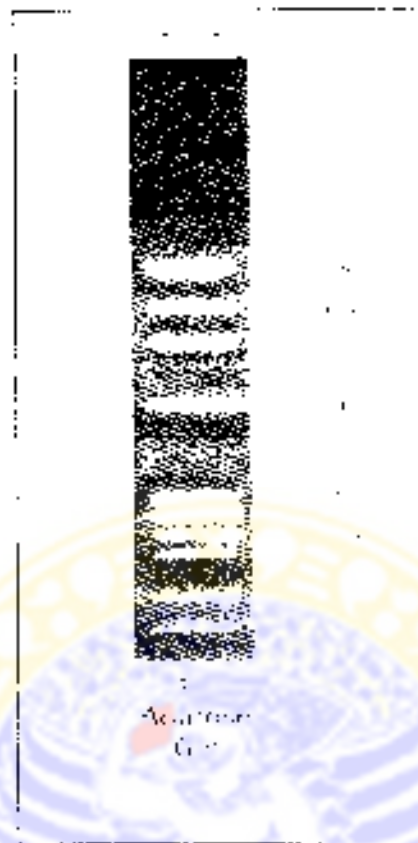


Gambar 4.1. Posisi keempat primer pada gen N yang digunakan pada penelitian ini Primer MV60 pada posisi nt 1109-1132, primer N1 pada nt 1198-1218, primer MV63-3 pada nt 1683-1703 dan N2 pada nt

3. *Deoxynucleoside triphosphates (dNTP)* 10 millimolar (mM)
4. *Taq HiFi (High Fidelity) DNA polymerase* 2 Unit
5. *Mineral oil*
6. Aquadestilata
7. Tabung eppendorf 0,5 dan 1,5 ml.

B. Deteksi produk PCR dengan elektroforesis :

1. Produk PCR
2. Gel agarose 2% dengan ethidium bromide 10 mg/ml
3. *TBE buffer* 0,5x.
4. *Loading buffer* (bromphenol blue dan glycerol)
5. *Marker yang digunakan adalah Φ X174 RE DNA/Hae III Fragments*



6. Parafilm.

7. Film polaroid.

4.4.6. Purifikasi produk PCR

1. Produk PCR

2. *Qagen spin Purification Kit* yang terdiri dari *buffer QG, PB, dan EB*.

3. Tabung eppendorf steril 1,5 ml

4.4.7. Deteksi hasil purifikasi produk PCR dengan elektroforesis

1. Hasil purifikasi produk PCR

2. Gel agarose 2% dengan ethidium bromide 10 mg/ml

3. *TBE buffer 0,5x*

4. *Loading buffer.*
5. *Marker yang digunakan Φ X174 RF DNA/Hae III Fragments*
6. Aquadestilata
7. Parafilm.
8. Film polaroid.

4.4.8. Labeling dengan PCR.

1. Hasil purifikasi produk PCR.
2. *Primer sense (Primer N1)*
3. *Big Dye Terminator V1.1.Cycle Sequencing kit dari AB Applied BioSystem.*
4. Aquadestilata.
5. Eppendorf 200 μ l steril.

4.4.9. Purifikasi pro sekuensing DNA

1. Campuran hasil labelling dengan PCR
2. *Ethlenediaminetetraacetic acid (EDTA) 125mM.*
3. Etanol absolut
4. Etanol 70%
5. Tabung eppendorf 1,5 ml steril.
6. *Aluminium foil.*

4.4.10. Sekuensing DNA

1. *Pellet DNA kering*
2. *Template suppression reagent (TSR) dari ABI Prism*
3. *Microtube steril*

4.4.11. Homologi dan analisis filogenetik

1. Program *Unweighted Pair Group Method using Arithmetic averages (UPGMA)* dari *Genetyx-Mac version 10.1*
2. Komputer dengan perangkat lunak *Genetyx-Mac version 10.1*.

4.5. Instrumen penelitian

1. *Freezer : Ultra Low* [-80°C dan -30°C] (Sanyo, Japan)
2. *Transilluminator UVP Chromato-vue* Model NTM-20 dengan kamera Polaroid Mamiya RB67 Pro SD 45 mm
3. *Biosafety Cabinet : Bio Clean Bench Model 16 BSF* (Sanyo).
4. *Waterbath : Thermo Supplier EZL-80* (Taitec).
5. *Waterbath shaker WS-120* (Sibata)
6. Mikropipet 20 µl, 200 µl dan 1.000 µl
7. *Spin-down machine* : Milipore
8. *Vorteks : Genie-2; TME-21 Test Tube Mixer* (Advantec).
9. *Refrigerator* : SR-33m (Sanyo); MR-087W (Mitsubishi).
10. Pompa vakum
11. Inkubator dengan temperatur 37°C.
12. *Electrophoresis gel apparatus* : Mupid (Advance Co.Ltd.)
13. *Tray dan comb* untuk pembuatan gel agarose
14. Timbangan analitik
15. Tabung Erlenmeyer
16. Gelas ukur
17. *Microwave* (Sanyo)
18. Tabung reaksi

19. Pinset
20. Pengukur waktu
21. Icebox dan ice pack
22. Komputer dengan perangkat lunak *Genetyx-Mac version 10.1.2*.
23. *Thermal Cycler* :
 - Untuk amplifikasi DNA . PJ 2000 (Perkin Elmer).
 - Untuk labeling : *GeneAmp PCR System 2400* (Perkin Elmer).
24. *ABI Prism 310 Genetic Analyzer* (Perkin Elmer) yang dilengkapi perangkat komputer
25. Printer
26. *Microcentrifuge : High Speed Micro Refrigerated Centrifuge MRX-150* (Tomy).
27. *Reaction plate* dan penutup berwarna gelap
28. *Absorbent pad*.
29. *Organon Teknika Reader 530 Version 1.24*
30. *Buffer washer* (Organon)

4.6. Lokasi dan waktu penelitian

4.6.1. Lokasi penelitian.

Pengambilan sampel dapat dilakukan di Bangsal Anak di rumah sakit atau di laboratorium (Prodia) dengan disertai surat permohonan pengambilan sampel darah dari tempat praktek dokter spesialis anak. Kemudian untuk sementara sampel disimpan di Laboratorium (Prodia) setelah serum dipisahkan dan kemudian sampel dibagi menjadi 3 bagian, dan dimasukkan kedalam 3 buah tabung eppendorf. Satu tabung untuk pemeriksaan IgG, satu tabung untuk pemeriksaan IgM dan satu tabung

lagi untuk pemeriksaan ekstraksi, amplifikasi dan sekuensing DNA. Pemeriksaan IgG dan IgM dilakukan di Laboratorium Prodia Pusat Jakarta, dan pemeriksaan ekstraksi, amplifikasi, sekuensing DNA dilakukan di TDC Surabaya

4.6.2. Waktu penelitian.

Pengambilan sampel darah dilaksanakan dari bulan Desember 2005 sampai dengan bulan Mei 2006. Sedangkan pemeriksaan ekstraksi, amplifikasi dan sekuensing DNA dilakukan mulai bulan Februari 2006 sampai Juni 2006. Pemeriksaan IgG dan IgM dilaksanakan pada bulan Juni 2006.

4.7. Prosedur Penelitian.

4.7.1. Pengambilan sampel darah.

1. Setiap penderita yang akan diambil sampel darahnya diberikan penjelasan kepada orangtua atau walinya tentang tujuan penelitian dan prosedur tindakan medik yang akan dilakukan. Bila orangtua atau wali bersedia, dimintakan persetujuannya dengan menandatangani Lembar persetujuan Mengikuti Penelitian (*Informed Consent*) dan Lembar Persetujuan Tindakan Medik, yang juga ditandatangani oleh seorang saksi. Setelah itu dilakukan pengisian data pada Lembar Catatan Medik Penderita Campak.
2. Darah diambil secara aseptik melalui vena cubiti sebanyak 5 ml dengan menggunakan spuit steril 5ml. Kemudian darah dipindahkan kedalam tabung reaksi dan dibiarkan selama 20-30 menit. Kemudian dilakukan sentrifuse selama 10 menit dan dengan kecepatan 10.000 rpm. Serum yang diperoleh dipisahkan menjadi tiga bagian seperti yang dijelaskan pada bab 4.6.1. Kemudian diberi label dan disimpan dalam *freezer* pada suhu -20°C . Tabung untuk pemeriksaan

sekuensing DNA segera dikirim pada kesempatan pertama ke Laboratorium TDC dengan *ice box/dry ice* untuk kemudian disimpan dalam *freezer* pada -80°C .

4.7.2. Pemeriksaan IgG dan IgM spesifik campak dengan metode ELISA.

1. Pemeriksaan IgG dan IgM spesifik campak dilakukan dengan metode ELISA menggunakan *Anti-Measles Viruses ELISA (IgG) [EUROIMMUN]* dan *Anti-Measles Viruses ELISA (IgM) [EUROIMMUN]* dan dengan prosedur sesuai dengan yang tertera pada brosur, seperti diuraikan dibawah ini
2. Semua reagen dan sampel serum di tempatkan pada temperatur ruangan sebelum dilakukan pemeriksaan selama 30 menit.
3. Persiapan sampel : sampel diencerkan memakai sampel buffer 1 : 101 (10 μl serum + 1 ml sampel *buffer*) Dicampurkan dengan memakai *vortex*.
4. Persiapan reagen : *wash buffer* konsentrat 10x diencerkan dengan aquabidest (1 bagian *wash buffer* konsentrat dengan 9 bagian aquabidest) Jika terdapat kristal pada *wash buffer* konsentrat, panaskan pada 37°C dan campur sebelum diencerkan.
5. Pipet 100 μl kalibrator, positif dan negatif kontrol, atau enceran sampel kedalam *well microplate*. Inkubasikan selama 30 menit pada suhu ruang (18°C sampai 25°C).
6. *Well microplate* dicuci 3X dengan 400 μl enceran *wash buffer*. Dibiarkan dalam masing-masing *well* selama 30 – 60 detik per siklus pencucian. Setelah selesai pencucian, balikkan *microplate* diatas kertas penyerap dan pastikan tidak ada cairan dalam *well*.

7. Dimasukkan dengan pipet 100 μ l *enzyme conjugate (peroxidase-labelled anti human IgG)* kedalam masing-masing *well microplate*. Diinkubasikan selama 30 menit pada suhu ruang
8. *Well microplate* dicuci 3X dengan 400 μ l enceran *wash buffer*. Dibiarkan dalam masing-masing *well* selama 30- 60 detik *per cycle* pencucian *Microplate* dibalikkan diatas kertas penyerap dan pastikan tidak ada cairan dalam *well*.
9. Masukkan dengan pipet 100 μ l larutan *chromogen:substrate* kedalam masing-masing *well microplate*. Diinkubasikan selama 15 menit pada pada suhu ruang.
10. Dimasukkan dengan 100 μ l *stop solution* kedalam masing-masing *well microplate*.
11. Dibaca intensitas warna pada *plate reader* dengan panjang gelombang 450 nm dan panjang gelombang *reference* antara 620 – 650 nm Pembacaan tidak boleh melebihi 30 menit setelah penambahan *stop solution*.

4.7.3. Pemeriksaan RT PCR dan sekuensing DNA.

4.7.3.1. Ekstraksi RNA dari serum.

- 1 Ekstraksi RNA dari serum dilakukan dengan menggunakan reagen *Trizol (Invitrogen)*.
- 2 Spesimen serum sampel, kontrol positif dan kontrol negatif masing-masing sebanyak 60 μ l ditambahkan *distilled water* 190 μ l di tempatkan pada sebuah tabung eppendorf 1,5 ml steril dan ditambahkan reagen *Trizol* sebanyak 750 μ l.
- 3 Kedua bahan dicampur dengan menggunakan mikropipet.
- 4 Didiamkan selama 5 menit.
- 5 Ditambahkan kloroform sebanyak 200 μ l, kemudian di *wortex*. Didiamkan selama 5 menit

- 6 Disentrifuse dengan kecepatan 12.000 *rounds per minute* (rpm) selama 15 menit pada suhu 4°C.
- 7 Supernatan sebanyak 500 µl diaspirasi dan dipindahkan kedalam sebuah tabung eppendorf 1,5 ml steril yang baru.
- 8 Ditambahkan isopropanol sebanyak 500 µl kedalam tabung. Kemudian di *vortex*.
- 9 Diinkubasikan selama 10 menit pada suhu ruangan.
- 10 Disentrifus dengan kecepatan 12.000 rpm selama 10 menit pada suhu 4°C.
- 11 Supernatan dengan hati-hati diaspirasi dan dibuang kedalam kontainer berisi sodium hipoklorit 5%.
- 12 Etanol 75% sebanyak 1.000 µl ditambahkan kedalam tabung, dicampur dengan hati-hati menggunakan mikropipet
- 13 Disentrifus dengan kecepatan 12.000 rpm selama 10 menit pada suhu 4°C.
- 14 Supernatan diaspirasi dengan hati-hati dan dibuang kedalam kontainer berisi sodium hipoklorit 5%.
- 15 Tabung berisi *pellet* RNA dalam keadaan terbuka dibungkus dengan *plastic wrap* dan dikeringkan menggunakan pompa vakum selama 10 menit
- 16 *Pellet* RNA kering disuspensikan dengan akuadesilata sebanyak 10 µl, kemudian di *spin down*

4.7.3.2. Sintesis cDNA.

- 1 Membuat *reaction mixture* dalam sebuah tabung eppendorf 1,5 ml steril untuk dengan komposisi
 - 4 µl 5x RT *buffer*
 - 4 µl dNTPs *mix*

- 0,5 μ l *Ribonuclease inhibitor*
 - 0,5 μ l RTase
 - 1 μ l *Primer random* dengan konsentrasi 50 pmol/ μ l.
2. 5 μ l larutan RNA dipanaskan pada 65^oC selama 3 menit. Kemudian dicampur dengan larutan *reaction mixture*.
 3. Diinkubasikan pada suhu 42^oC selama 1 jam. untuk membentuk cDNA.

4.7.3.3. Amplifikasi cDNA dengan PCR *first round*

1. Diambil 5 μ l cDNA dan dimasukkan kedalam tabung eppendorf 0.5 ml.
2. Tambahkan .
 - 75 μ l DW
 - 8 μ l dNTPs *mix*
 - 9 μ l 10x Tth *buffer*
 - 1 μ l *Primer N1* (100 pmol/ μ l)
 - 1 μ l *Primer N2* (100 pmol/ μ l)
3. Dipanaskan 95^oC selama 3 menit. Di *spin down*.
4. Ditambahkan 1 μ l Tth *DNA Polymerase* dengan konsentrasi 2 U/ μ l. Dicampurkan.
Ditambahkan 100 μ l *mineral oil*.
5. Dilakukan PCR *first round* sebanyak 40 siklus dengan tahapan setiap siklusnya sebagai berikut :
 - *Denaturation* : selama 1 menit pada suhu 95^oC
 - *Annealing* : selama 1 menit pada suhu 48^oC
 - *Extension* : selama 2 menit pada suhu 72^oC.
 Dilakukan tambahan *extension* selama 10 menit pada suhu 72^oC pada akhir siklus PCR.

Mesin yang digunakan *Thermal Cycler Perkin Elmer type P1 2000*

4.7.3.4. PCR second round.

1 Produk PCR *first-round* yang didapat untuk selanjutnya dilakukan PCR *second round* dengan prosedur dan kondisi siklus yang sama seperti PCR *first round*. Komposisi *reaction mix*-nya adalah sebagai berikut :

- dNTP 10 mM sebanyak 8 μ l.
- *Primer* NI 100 pmol/ μ l sebanyak 0,5 μ l
- *Primer* MV-63-3 100 pmol/ μ l sebanyak 0,5 μ l
- *Reaction buffer* 10x sebanyak 9,5 μ l
- Aquadestilata ditambahkan hingga volume total mencapai 94 μ l

Produk PCR *first-round* yang digunakan sebanyak 5 μ l, Tth DNA polymerase sebanyak 1 μ l dan *mineral oil* sebanyak 100 μ l. Selanjutnya produk PCR *second-round* divisualisasi dengan elektroforesis (lihat 4.7.3.5).

2 Produk PCR *second-round* yang terdeteksi positif dengan elektroforesis dilakukan purifikasi (lihat Prosedur 4.7.3.6.)

4.7.3.5. Deteksi produk PCR second round dengan elektroforesis :

- 1 Gel Agarose 2% yang mengandung ethidium bromide diletakkan dalam *electrophoresis gel apparatus* dan ditambahkan *TBE buffer* 0,5x hingga gel terendam seluruhnya
- 2 *Marker* ϕ X174 RF DNA / *Hae* III *Fragments* yang telah dicampur dengan *loading buffer* sebanyak 3 μ l diaplikasikan ke dalam gel
3. Produk PCR sebanyak 10 μ l diambil dari bawah lapisan *mineral oil* dan dicampur dengan hati-hati menggunakan mikropipet dengan *loading buffer* sebanyak 1,5 μ l yang telah diteteskan di atas parafilm. Selanjutnya diaplikasikan ke dalam gel tanpa interval

4. *Electrophoresis gel apparatus* ditutup dan dijalankan pada 100 volt dari kutub negatif ke kutub positif sampai warna biru terletak diantara dua garis pada ujung gel
5. Dilihat di bawah sinar ultraviolet menggunakan *Transilluminator UVP Chromatovue Model NIM-20* dan didokumentasikan dengan kamera polaroid Mamiya RB67 Pro SD 45 mm

4.7.3.6. Purifikasi produk PCR

1. Purifikasi produk PCR dilakukan dengan *QIAquick PCR Purification Kit (Qiagen)*
2. *Buffer QG* sebanyak 500 µl ditambahkan ke dalam sebuah tabung eppendorf 1,5 ml steril berisi produk PCR sebanyak 100 µl beserta *mineral oil*-nya, selanjutnya di-vorteks.
3. Sebuah *spin column* steril di tempatkan pada sebuah *collection tube* 2 ml steril
4. Seluruh campuran (item 2) dimasukkan ke dalam *spin column*, selanjutnya disentrifus pada kecepatan 13 000 rpm selama 1 menit.
5. Cairan dalam *collection tube* dibuang ke dalam *container* dan *collection tube* digunakan kembali untuk *spin column* yang sama
6. *Buffer PE* (yang telah ditambah etanol absolut) sebanyak 750 µl ditambahkan ke dalam *spin column*, selanjutnya disentrifus pada kecepatan 13.000 rpm selama 1 menit
7. Cairan dalam *collection tube* dibuang ke dalam kontainer dan *collection tube* digunakan kembali untuk *spin column* yang sama
8. Disentrifus pada kecepatan 15.000 rpm selama 1 menit *Collection tube* beserta isinya dibuang ke dalam kontainer

9. *Spin column* di tempatkan pada sebuah tabung eppendorf 1,5 ml steril.
10. *Buffer EB* sebanyak 30 μ l ditambahkan langsung di bagian tengah membran pada *spin column*
11. Diinkubasi selama 1 menit pada temperatur ruangan, selanjutnya disentrifus pada kecepatan 13 000 rpm selama 1 menit
12. *Spin column* dibuang ke dalam komainer, sedangkan tabung eppendorf berisi hasil purifikasi produk PCR ditutup
13. Selanjutnya dilakukan deteksi hasil purifikasi produk PCR dengan elektroforesis (lihat 4.7.3.7). Hasil purifikasi produk PCR yang terdeteksi positif dengan elektroforesis dilakukan *labeling* (lihat Prosedur 4.7.3.8)

4.7.3.7. Deteksi hasil purifikasi produk PCR dengan elektroforesis :

1. Gel agarose 2% yang mengandung ethidium bromide diletakkan dalam *electrophoresis gel apparatus* dan ditambahkan *TBE buffer* 0,5X hingga gel terendam seluruhnya
2. *Marker 4 ϕ X174 / Hae III* digest yang telah dicampur dengan *loading buffer* sebanyak 3 μ l diaplikasikan ke dalam gel
3. Hasil produk PCR sebanyak 2 μ l diambil dan dicampur dengan hati-hati menggunakan mikropipet dengan *loading buffer* sebanyak 1,5 μ l dan akuadestilata sebanyak 5 μ l yang telah diteteskan di atas parafilm, selanjutnya diaplikasikan ke dalam gel tanpa interval
4. *Electrophoresis gel apparatus* ditutup dan dijalankan pada 100 volt dari kutub negatif ke kutub positif sampai warna biru terletak di antara dua garis pada ujung gel

5. Dilihat di bawah sinar ultraviolet menggunakan *Transilluminator UVP Chromatove Model NIM-20* dan didokumentasikan dengan kamera polaroid Mamiya RB67 Pro SD 45 mm.

4.7.3.8. Labeling dengan PCR

Labeling dilakukan dengan menggunakan *Big Dye Terminator v1.1 Cycle Sequencing Kit* (Applied Biosystems, Amerika Serikat).

1. *Sequencing mixture* dibuat dalam sebuah *microtube* 200 μ l steril dengan komposisi :
 - *Sequencing buffer* SX sebanyak 2 μ l.
 - *Primer* N1 (untuk hasil purifikasi produk PCR *first-round*) dan primer MV 63-3 (untuk hasil purifikasi produk PCR *second-round*) 1pmol/ μ l sebanyak 3,2 μ l
 - *Ready reaction mix* dari Big Dye Terminator tersebut diatas sebanyak 4 μ l.
 - Hasil purifikasi produk PCR dengan volume tergantung kosentrasi DNA
 - Akuadestilata ditambahkan hingga volume total mencapai 20 μ l.
2. Di-*vorteks* dan di-*spin down*, selanjutnya di tempatkan pada blok dan dimasukkan ke dalam *Thermal Cycler* geneAmp PCR System 2400 (Perkin Elmer).
3. *Thermal Cycler* diatur hingga mencapai temperatur 96°C dan dijalankan selama 1 menit. PCR dijalankan sebanyak 25 siklus dengan tahapan setiap siklusnya sebagai berikut :
 - *Denaturation* : selama 30 detik pada temperatur 96°C
 - *Annealing* : selama 15 detik pada temperatur 50°C
 - *Extension* : selama 4 menit pada temperatur 60°C
 Setelah siklus selesai, didinginkan hingga temperatur 4°C

4.7.3.9. Purifikasi pro sekuensing DNA

Purifikasi pro sekuensing DNA dilakukan dengan presipitasi etanol/EDTA.

1. *Micronube* berisi 20 μ l *sequencing mixture* dikeluarkan dari *Thermal Cycler* dan di-*spin down*, selanjutnya diaspirasi dan dipindahkan ke dalam ke dalam sebuah tabung eppendorf 1,5 ml steril
2. EDTA 125 mM sebanyak 5 μ l dan etanol absolut sebanyak 60 μ l ditambahkan ke dalam tabung, selanjutnya dicampur dengan cara membolak-balik tabung sebanyak 4 kali
3. Diinkubasi selama 15 menit pada temperatur ruangan.
4. Disentrifus dengan kecepatan 15.000 rpm selama 30 menit pada temperatur 4°C.
5. Supernatan diaspirasi dengan hati-hati dan dibuang ke dalam kontainer.
6. Etanol 70% sebanyak 60 μ l ditambahkan dengan hati-hati
7. Disentrifus dengan kecepatan 15.000 rpm selama 15 menit pada temperatur 4°C.
8. Supernatan diaspirasi dengan hati-hati dan dibuang ke dalam kontainer.
9. Tabung berisi *pellet* DNA dalam keadaan terbuka dibungkus dengan *plastic wrap* dan dikeringkan menggunakan pompa vakum selama 15 menit.
10. *Pellet* DNA kering dapat disimpan pada temperatur 4°C setelah tabung ditutup rapat dan dibungkus *aluminium foil*

4.7.3.10. Sekuensing DNA

1. Sekuensing DNA dilakukan dengan menggunakan *ABI Prism 310 Genetic Analyzer* (*Perkin Elmer*).
2. *TSK* (*Applied Biosystem*, *ABI Prism*, lot No 0402141, Amerika Serikat) sebanyak 25 μ l ditambahkan pada tabung berisi *pellet* DNA kering
3. Di-*vorteks* dan selanjutnya dipanaskan pada temperatur 95°C selama 5 menit.

4. Dinkubasi dalam es selama 10 menit dan selanjutnya di-*spin down*.
5. Diaspirasi dan dipindahkan ke dalam sebuah *microtube* steril.
6. Dijalankan pada *AHI Prism 310 Genetic Analyzer*

4.8. Homologi dan analisis filogenetik.

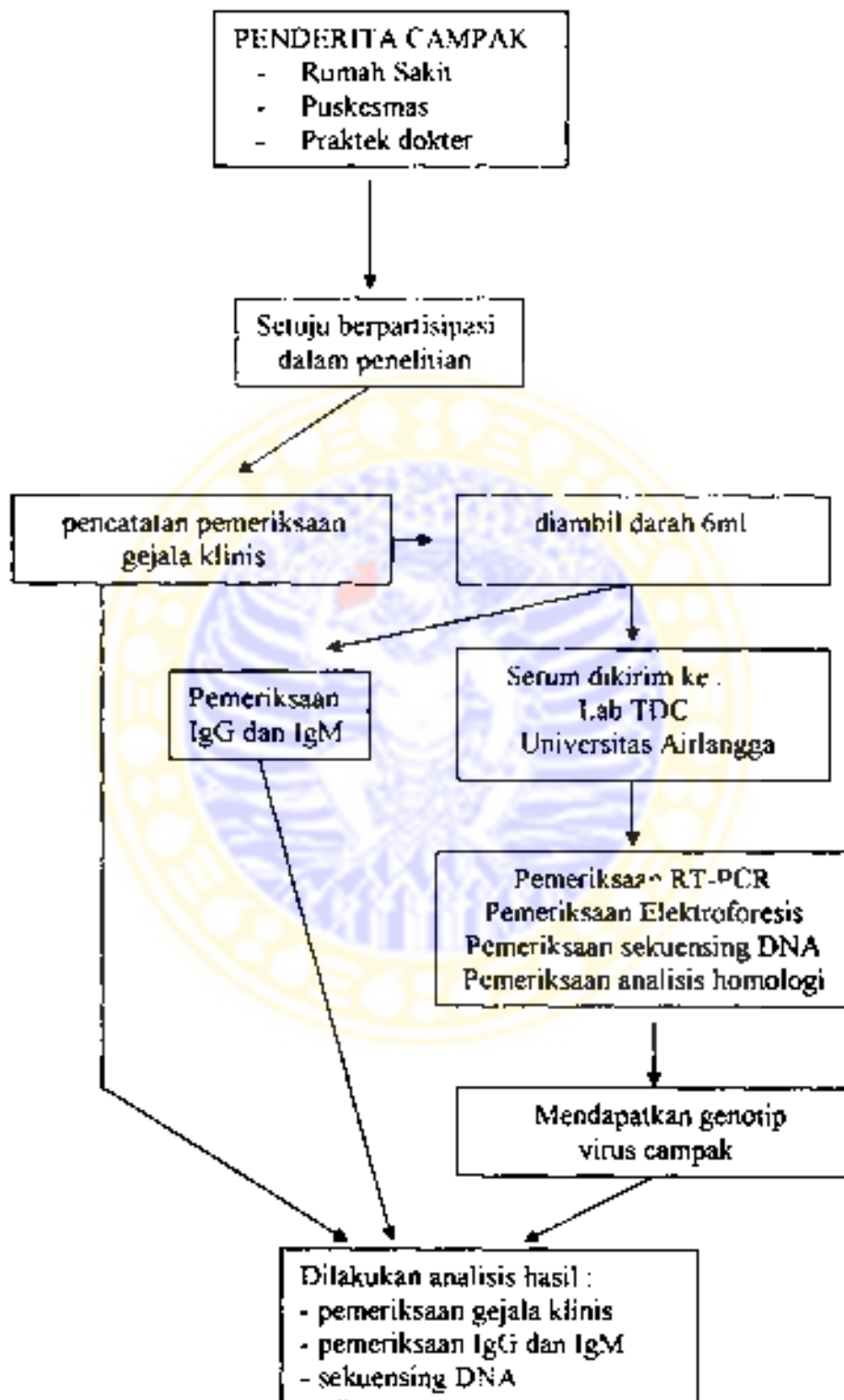
Electroferogram sebagai hasil sekuensing DNA yang kualitasnya baik akan diolah lebih lanjut. Dengan menggunakan perangkat lunak komputer *Genetyx-Mac version 10.1.2*, sekuens nukleotida virus campak sampel penelitian dibandingkan dengan sekuens nukleotida virus campak yang telah di-rekomendasikan oleh *WHO* (*WHO* 2003) sebagai galur rujukan (*reference strains*) pada gen N.

Analisis filogenetik dilakukan dengan Program *Genetyx-Mac* menggunakan cara *UPGMA* berdasar sekuens nukleotida. Selanjutnya, dendrogram atau pohon filogenetik direkonstruksi dengan menggunakan *Unweighted Pair Group Method using Arithmetic averages (UPGMA) clustering* memakai perangkat lunak komputer *Genetyx-Mac version 10.1.2*, sehingga didapatkan data genotip dari sampel penderita.

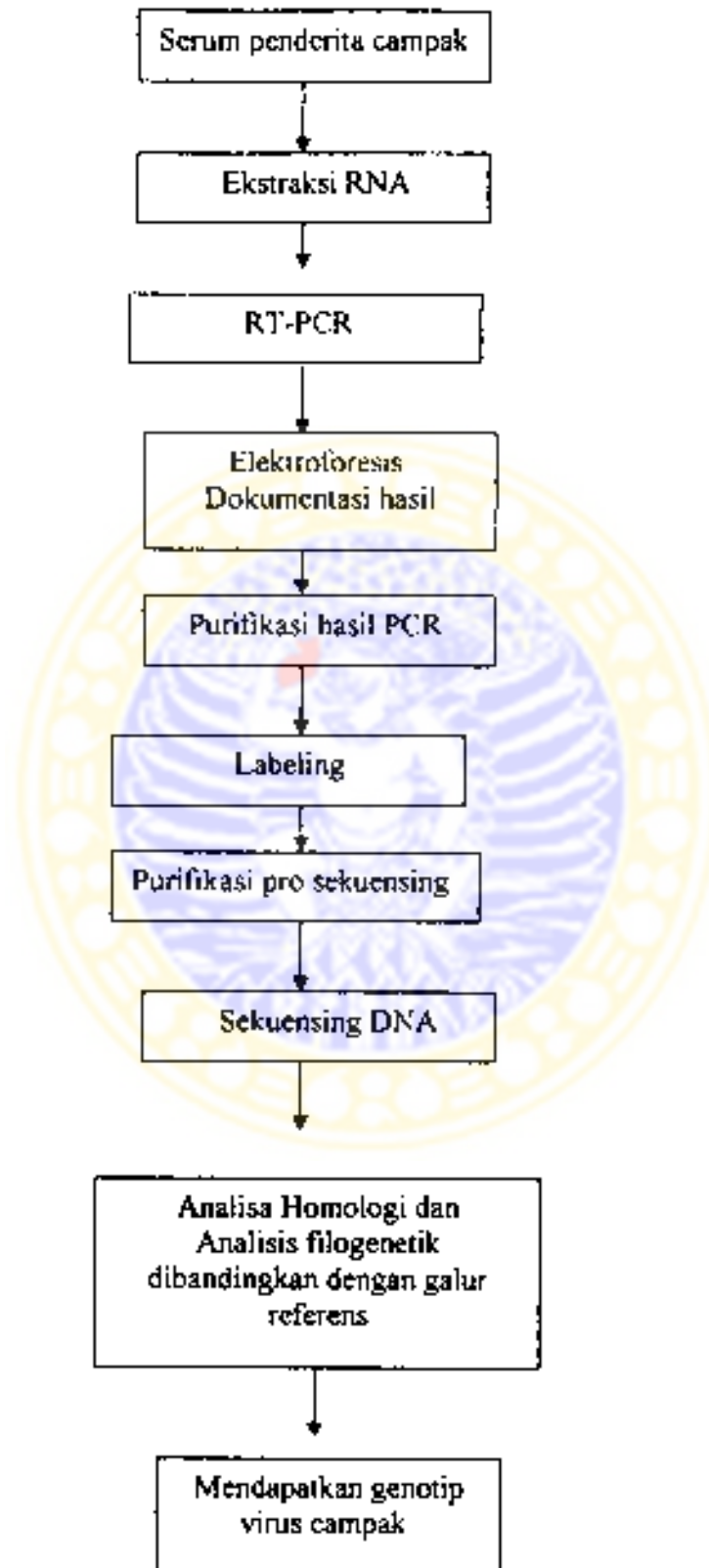
Sekuens nukleotida sampel penelitian dilakukan *multiple alignment* dengan galur referens untuk mendapatkan gambaran letak posisi nukleotida yang berlainan.

4.9. Kerangka alur penelitian

Kerangka alur penelitian ini dapat digambarkan pada bagan berikut :



Gambar 4.2 Kerangka alur penelitian

4.10. Bagan pemeriksaan genotip virus campak.**Gambar 4.3 Bagan pemeriksaan genotip virus campak**

BAB 5

ANALISIS HASIL PENELITIAN

5.1. Jumlah sampel dan asal provinsi

Penelitian ini semula direncanakan dilakukan pada sebagian besar provinsi di Indonesia, namun yang mengirim sampel ternyata hanya dari 3 provinsi di Indonesia, yaitu provinsi Jawa Barat, Jawa Tengah, dan Jawa Timur yaitu dari Kota Bandung, Surakarta, Kabupaten Semarang, Kabupaten Boyolali, Kabupaten Karanganyar, Kabupaten Sragen, Kabupaten Sukoharjo, dan Kabupaten Pacitan. Selama jangka waktu penelitian, dalam kurun waktu 6 bulan, mulai 1 Januari 2006 sampai 30 Juni 2006, didapatkan 24 penderita campak yang memenuhi kriteria seperti yang direkomendasikan *Center for Disease Control and Prevention* 1983 (CDC, 1983). Jumlah pasien yang didapat dari masing-masing propinsi dapat dilihat pada Tabel 5.1.

Tabel 5.1. Jumlah sample dan asal propinsi

No	Provinsi	Kota/Kabupaten	Jumlah Penderita
1	Jawa Barat	Kota Bandung	3
2	Jawa Tengah	Kota Surakarta	6
		Kabupaten Semarang	1
		Kabupaten Boyolali	6
		Kabupaten Karanganyar	5
		Kabupaten Sragen	1
		Kabupaten Sukoharjo	1
3	Jawa Timur	Kabupaten Pacitan	1
		Jumlah	24

5.2. Distribusi umur dan jenis kelamin sampel

Pada penelitian ini, atas dasar umur pemberian imunisasi campak, sampel dibagi menjadi 3 golongan umur. (1) golongan umur 5-8 bulan bayi yang belum mendapat imunisasi campak. (2) golongan umur 9 bulan-5 tahun bayi dan anak yang sudah mendapat satu kali pemberian imunisasi campak, yaitu imunisasi dasar pada umur 9 bulan dan (3) golongan umur 6-13 tahun anak yang sudah mendapat imunisasi campak dua kali, pertama pada waktu umur 9 bulan dan kedua pada waktu sekolah dasar melalui Program BIAS

Dari 24 penderita campak tersebut, didapatkan umur termuda adalah 5 bulan (1 bayi), dan tertua 13 tahun (2 anak). Golongan umur terbanyak didapatkan pada umur 6-13 tahun, yaitu sebanyak 14 anak (58,4 %). Sedangkan jenis kelamin laki-laki didapatkan 10 anak dan perempuan 14 anak.

Distribusi umur dan kelamin dari penderita dapat dilihat pada Tabel 5.2

Tabel 5.2. Distribusi umur dan jenis kelamin dari penderita

No.	Golongan Umur	Jenis Kelamin		Jumlah
		Laki-laki	Perempuan	
1	5-<9 bulan	1	2	3
2	9 bulan-6 tahun	4	3	7
3	6-13 tahun	5	9	14
	Jumlah	10	14	24

5.3. Status imunisasi

Status imunisasi dari penderita dapat dilihat pada Tabel 5.3

Tabel 5.3. Status imunisasi

No.	Golongan Umur	Status imunisasi Campak			Jumlah
		Sudah	Belum	Tidak Tahu	
1	<9 bulan	-	3	-	3
2	9 bulan - 6 tahun	4	3	1	8
3	6 - 15 tahun	8	2	3	13
	Jumlah	12	8	4	24

5.4. Hasil pemeriksaan manifestasi klinis.

Pemeriksaan manifestasi klinis dilakukan oleh dokter spesialis anak, baik untuk penderita yang dirawat di rumah sakit ataupun yang memeriksakan diri di tempat praktek dokter. Hasil pemeriksaan dicatat pada lembar catatan medik yang sudah disediakan (lihat lampiran 2. Catatan medis penderita campak).

5.4.1. Pemeriksaan awal timbulnya gejala panas.

Dari gejala klinis, semua penderita menunjukkan gejala batuk dan pilek. Tapi dari gejala konjungtivitis hanya didapatkan pada 17 penderita (70,8%).

Data hasil pemeriksaan dari gejala panas, timbulnya ruam dan gejala batuk, pilek atau konjungtivitis dapat dilihat pada Tabel 5.4.1.

Tabel 5.4.1. Pemeriksaan awal timbulnya gejala panas

No.	Gol. Umur	Pemeriksaan awal hari timbulnya gejala panas (*)			Pemeriksaan awal hari timbulnya ruam (**)			Gejala Lain		
		3	4	5	4	5	6	batuk	pilek	kongjivitis
1	5 - <9 bl	-	2	1	3	-	-	3	3	1
2	9bl - <6th	-	4	4	3	5	-	5	7	4
3	6 - 13 th	2	6	8	12	4	-	14	14	12
Jumlah		2	12	13	18	9	-	24	24	17

Keterangan * pemeriksaan pada hari 3, 4, 5 dari awal timbulnya gejala panas
 ** pemeriksaan timbulnya ruam pada hari ke 4, 5, 6 dari awal timbulnya panas

Pada golongan umur 5 – <9 bulan , pemeriksaan dilakukan pada hari ke-4 (dua bayi) dan hari ke-5 (satu bayi) sejak timbulnya panas. Ketiga bayi tersebut dimasukkan ke rumah sakit dengan diagnosis masuk observasi febris pada hari ke-3 setelah mendapat pengobatan rawat jalan tidak ada penurunan dari suhu tubuhnya. Kemudian setelah dimasukkan rumah sakit, baru keesokan harinya timbul ruam dan gejala klinis campak lainnya. Pada ketiga penderita didapatkan gejala klinis batuk dan pilek, dan hanya satu yang menunjukkan gejala konjungtivitis.

5.4.2. Jenis manifestasi klinis

Pada penelitian ini hanya didapatkan 2 jenis gejala klinis yaitu gejala klinis klasik dan modifikasi. Adapun gejala klinis atipikal, hemoragis, maupun gejala klinis penderita immunocompromised tidak ditemukan.

Data lengkap semua sampel penelitian (nama, umur, alamat, asal provinsi/kota/kabupaten, dapat dilihat pada Lampiran 6

Dilihat dari jenis gejala klinisnya, dapat dilihat pada Tabel 5.4.2

Tabel 5.4.2 Jenis manifestasi klinis

No	Golongan umur	JENIS MANIFESTASI KLINIS				
		KLASIK	MODIFI KASI	ATIPI KAL	HEMORA GIKA	IMUNO COMP
1	5 <9 bl	1	2	-	-	-
2	9 bl <6 th	6	1	-	-	-
3	6 - 13 th	11	3	-	-	-
	Jumlah	18	6	0	0	0

Hasil pemeriksaan gejala klinis semua sampel selengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 7.

5.5. Hasil pemeriksaan IgM dan IgG Anti Measles

Dari sejumlah 24 sampel yang diperoleh, satu sampel (MV-4 Solo, umur 9 bulan) tidak bisa diperiksa IgG dan IgM nya oleh karena sampel yang didapat terlalu sedikit. Jadi jumlah sampel yang diikutkan untuk pemeriksaan IgG dan IgM hanya 23 sampel.

Hasil pemeriksaan serologis IgM dan IgG dapat dilihat pada Tabel 5.5.

Tabel 5.5. Hasil pemeriksaan IgM dan IgG anti Measles

No.	Golongan Umur	Hasil Pemeriksaan IgM dan IgG				Jumlah
		IgM(-)/ IgG(-)	IgM(+)/ IgG(+)	IgM(+)/ IgG(-)	IgM(-)/ IgG(+)	
1	5 <9 bl	2	1	-	-	3
2	9 bl - <6 th	-	1	5	-	6
3	6 - 13 th	-	2	5	7	14
	Jumlah	2	4	10	7	23

Dari golongan umur 5 – <9 bulan, didapatkan 2 bayi dengan IgG(-)/IgM(-). Ini memperlihatkan bahwa sampai umur 5 - <9 bulan, kedua bayi tersebut sudah tidak mempunyai antibodi maternal sehingga mudah terkena penyakit campak. Sedangkan bayi yang satu lagi, walaupun masih mempunyai antibodi *maternal* tetapi masih terkena penyakit campak juga. Hal ini sesuai dengan penelitian Soegijanto (Soegijanto, 1992) yang mendapatkan bahwa pada bayi mulai umur 3 bulan kadar antibodi *maternal* mulai menurun, dan mulai umur 6 bulan sudah mulai tidak terdapat antibodi *maternal* lagi. Hal ini juga sesuai dengan hasil penelitian pendahuluan (*preliminary study*) oleh Salimo pada 2006 pada bayi baru lahir di RSUD Dr Muwardi Surakarta. Dari 15 bayi baru lahir yang diperiksa kadar IgG, ternyata semuanya mempunyai IgG positif dengan konsentrasi yang cukup tinggi diatas rata-rata (Salimo, 2006).

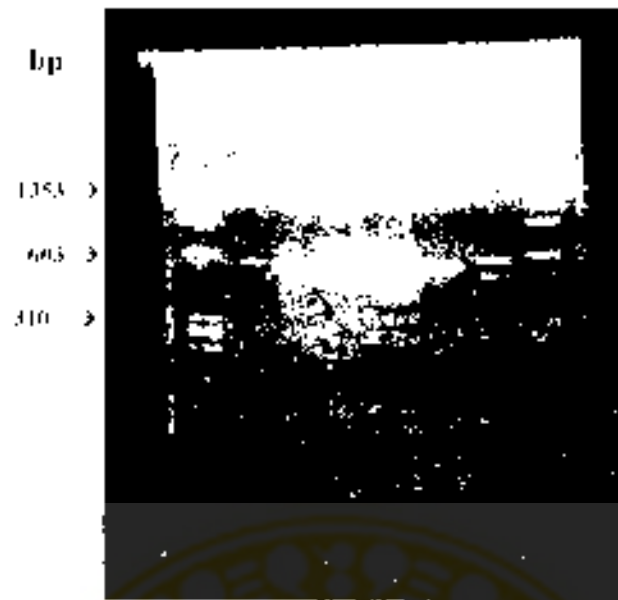
Pada golongan umur 9 bulan - <6 tahun, diasumsikan mereka sudah pernah mendapat 1x imunisasi Campak, terdapat 6 dan 7 anak (85,7%) dengan IgG nya negatif, berarti terjadi kegagalan respons imun *primer* dan hanya satu dari tujuh anak (14,3%) dengan IgG positif.

Pada golongan umur 6 - 13 tahun, dimana diasumsikan mereka sudah mendapat 2x imunisasi campak (satu kali pada waktu umur 9 bulan, satu kali pada waktu di SD pada waktu BIAS), didapatkan 9 anak (64,4%) IgG nya positif. Berarti dengan 2x pemberian imunisasi campak dapat menaikkan respons imun cukup tinggi. Sedangkan 5 di antara mereka (35,7%) IgM nya negatif. Hal ini mungkin disebabkan pengambilan sampel yang dilakukan pada waktu hari pertama atau hari kedua memang masih memberi hasil negatif pada 30% penderita, sehingga diduga hasil ini adalah hasil negatif palsu (*false-negative results*) (BHO 2002).

Hasil pemeriksaan IgG dan IgM (*Evaluation Results*) dari komputer *Organon Teknika Reader 530 Version 1.24* dapat dilihat pada Lampiran 8, sedangkan hasil pemeriksaan IgM dan IgG selengkapnya pada semua sampel penelitian dapat dilihat pada Lampiran 8.

5.6. Hasil pemeriksaan PCR dan sekuensing DNA.

Untuk keberhasilan pemeriksaan sekuensing DNA di Laboratorium *Tropical Disease Center* (TDC, Surabaya), ternyata memerlukan waktu yang cukup lama. Walaupun semua prosedur yang direkomendasikan oleh WHO (WHO, 2005) telah dilaksanakan, ternyata tidak langsung dapat memberikan hasil. Berbagai usaha telah dilakukan untuk mendapatkan hasil positif pemeriksaan PCR. Berbagai usaha dan cara yang telah dilaksanakan, di antaranya dengan menurunkan suhu *annealing* sampai 45°C, melakukan dua kali pemurnian hasil PCR, namun tetap belum memberi hasil yang memuaskan. Setelah didapatkan hasil sekuensing DNA dari virus campak yang jelas, kemudian dilanjutkan dengan pemeriksaan analisis homologi yang juga memberi hasil yang memuaskan. Contoh hasil pemeriksaan elektroforesis yang menunjukkan adanya *band* yang diinginkan dari sampel MV-7-Solo, MV-14-Solo, MV-16-Pct, MV-25-Bdg dan MV-26-Bdg dapat dilihat pada gambar 5.1



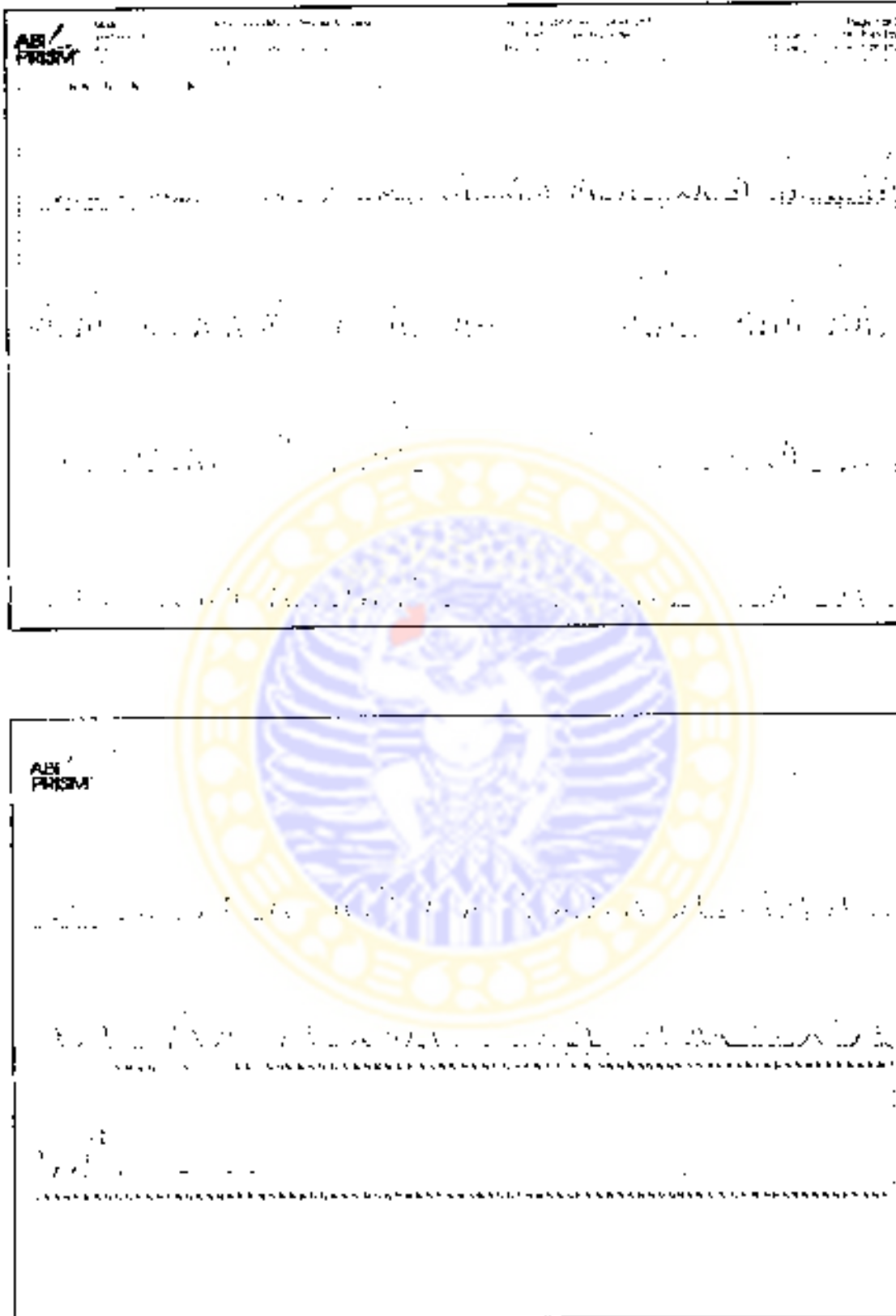
Gambar 5. Gambar elektroforesis hasil pemeriksaan PCR. Sampel MX 1, sampel MX 14, sampel MX 15, dan sampel MX 20. Keterangan: M: Marker, K: Kontrol negatif, T: PCR 25 de ramer sampel

Adapun jumlah PCR positif dan selanjutnya sampel yang terdapat pada tabel 5.6 di bawah ini. Hasil pemeriksaan PCR semua penderita dapat dilihat pada Lampiran 9.

Tabel 5.6. Hasil PCR penderita

No.	Golongan Umur	Hasil PCR	Jumlah
1	5- 9 tahun	3	3
2	9 bln - 6 tahun	6	7
3	6 - 13 tahun	4	14
	Jumlah	13	24

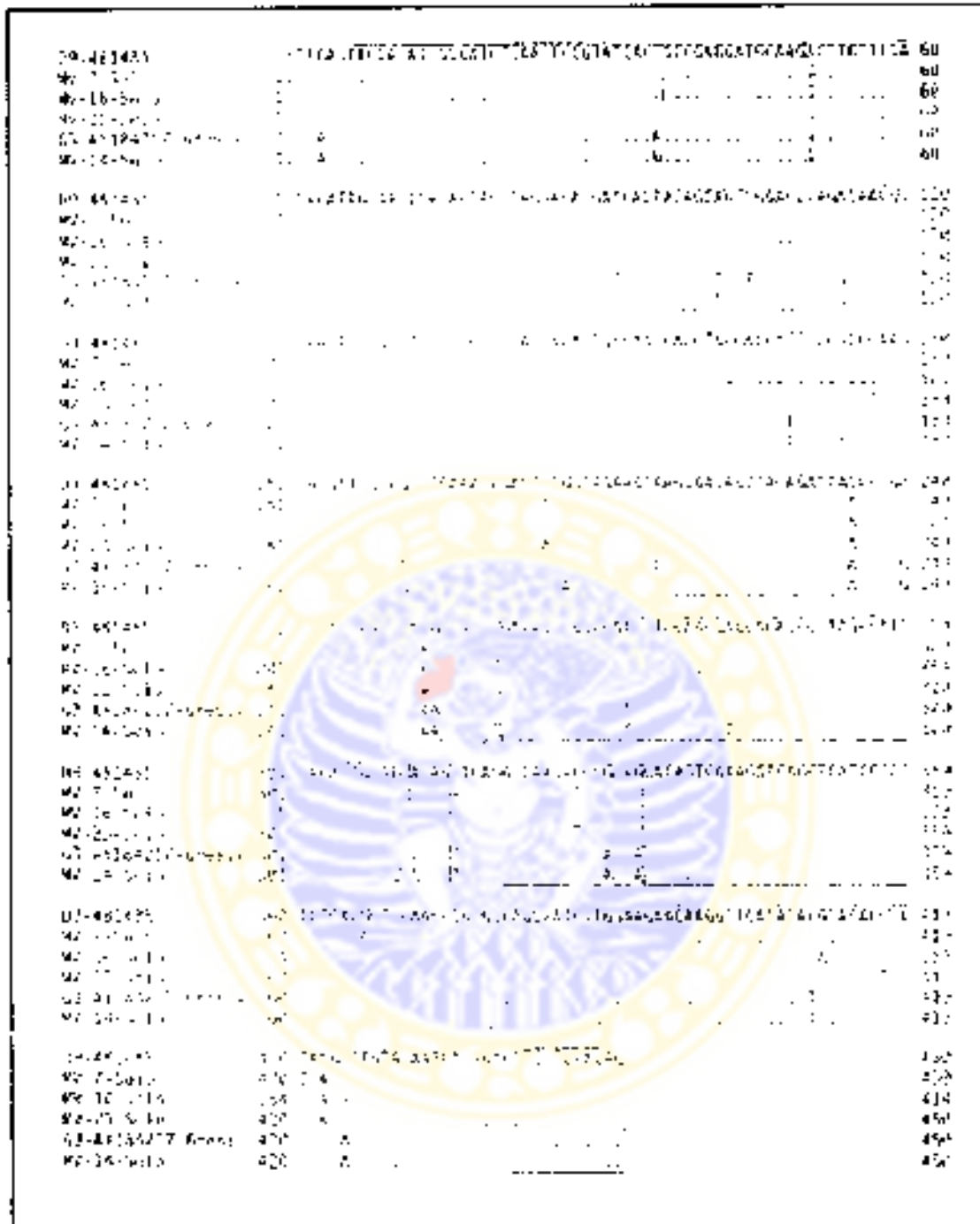
Semua sampel yang memberi hasil PCR positif dilakukan penurnian dan selanjutnya dilakukan pemeriksaan sekuensing DNA. Contoh hasil pemeriksaan sekuensing DNA dapat dilihat pada Gambar 5.2.



Gambar 5.2 Menunjukkan contoh hasil sekuening DNA dari penderita campak yang ditemukan pada penelitian ini. Dalam hal ini yang diambil adalah sampel penderita MV-25-Solo

Setelah berhasil dilakukan sekuensing DNA, dilakukan pembuatan *multiple alignment* keseluruhan serta dibuat pohon filogenetik. *Multiple alignment* sekuens nukleotida virus campak hasil penelitian ini dapat dilihat pada Gambar 5.3. Dari pohon filogenetik ini dapat diketahui genotip dari virus campak yang diperoleh pada penelitian ini dengan dibandingkan sekuensing DNA virus campak berbagai genotip yang telah dipublikasi sebelumnya (WHO, 2003).



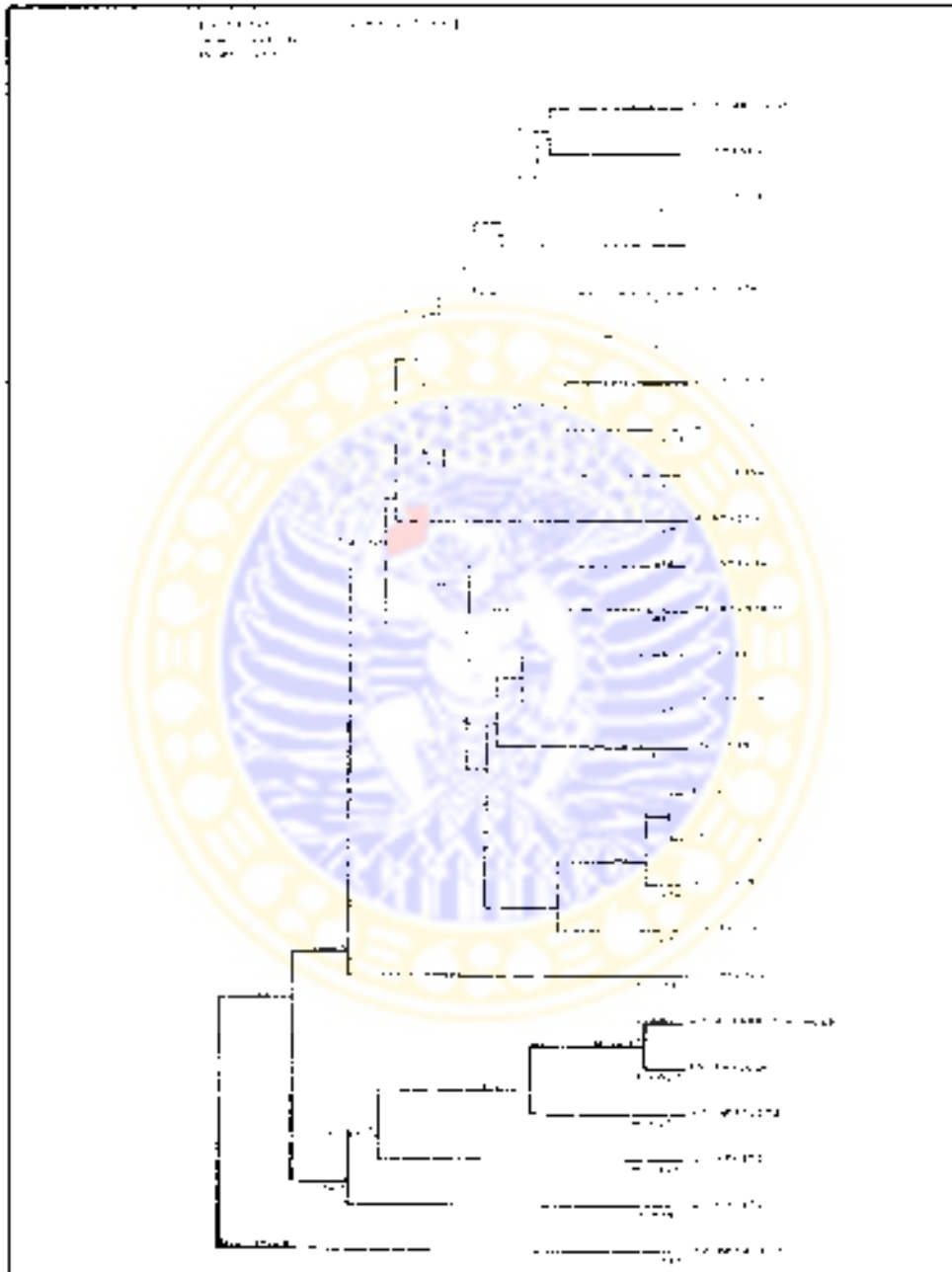


Gambar 5.3 Multiple alignment nukleotida campak MV-7, MV-14, MV-16, dan MV-25

Hasil *multiple alignment* dengan seluruh genotip rujukan standard terkait, sesuai dengan rekomendasi *WHO* (*WHO* 2005) dapat dilihat pada Lampiran 12.

5.7. Hasil analisis filogenetik

Hasil analisis filogenetik terhadap virus MV-7-Solo, MV-14-Solo, MV-16-Pct dan MV-25-Bdg, dapat dilihat pada gambar 5.4



Gambar 5.4 Hasil analisis filogenetik virus campak yang ditemukan pada penelitian ini yaitu MV-14-Solo termasuk dalam genotip G3; MV-7-Solo, MV-16-Solo, MV-25-Bandung termasuk dalam genotip

Dari analisis filogenetik tersebut terlihat bahwa MV-14-Solo termasuk dalam kelompok yang sama dengan genotip G3 yang berasal dari isolat virus asal Gresik, Jawa Timur. Sampel yang lain, MV-7-Solo, MV-16-Pct, dan MV-25-Bandung termasuk dalam kelompok yang sama dengan genotip D9 yang sebelumnya ditemukan dari isolat virus penderita campak asal Bali (WHO 2003). Jadi ternyata keempat spesimen virus campak yang berhasil ditemukan dalam penelitian ini termasuk dalam kelompok yang sama dengan isolat virus campak yang telah dipublikasikan oleh WHO (WHO 2001, WHO 2003) sebelumnya, yaitu genotip G3 yang berasal dari Gresik dan genotip D9 yang berasal dari Bali.

Pada tampilan pohon filogenetik penelitian lain, genotip A (Edmonston) yang pada penelitian lain tersebut terpisah dari kelompok lainnya, dengan alat yang ada di Laboratorium TDC (*Program Genex Mac Version 10.1.2*) terletak berdekatan dengan genotip B1, B2 dan B3. Hal ini dapat disebabkan karena perbedaan program yang digunakan.

Hasil analisis filogenetik dapat dilihat pada Tabel 5.7.

Tabel 5.7. Hasil pemeriksaan analisis filogenetik

NO	NOMOR SAMPEL	GENOTIP
1	MV-7-SOLO	D9
2	MV-14-SOLO	G3
3	MV-16-PCT	D9
4	MV-25-BDG	D9

Dalam pelaksanaan penelitian ternyata bahwa walaupun dengan pemeriksaan PCR dan elektroforesis memberi hasil adanya *band*, tetapi pada waktu dilakukan sekuensing DNA tidak bisa semuanya memberi hasil yang baik. Data nomor sampel dan hasil pemeriksaian sekuensing DNA dapat dilihat pada Lampiran 11.

Gambar 5.5 menunjukkan genotip virus campak yang ditemukan pada penelitian ini, yaitu D9 di Bandung, D9 dan G3 di Solo, dan D9 di Pacitan.



Gambar 5.5 Genotip virus campak yang ditemukan pada penelitian ini:
D9: MV-7-Solo, MV-16-Pct, MV-25-Bdg; dan G3: MV-14-Solo

BAB 6

PEMBAHASAN

6.1. Pembahasan.

Pada penelitian ini, populasi penelitian adalah bayi dan anak sampai umur 18 tahun yang tinggal di daerah penelitian dan sampel penelitian adalah penderita campak yang tinggal ditokasi penelitian baik yang dirawat dirumah sakit, berobat ke Puskesmas atau yang datang ditempat dokter praktek swasta, baik dokter umum atau dokter spesialis anak. Dari data hasil penelitian, sampel termuda yang didapat adalah bayi berusia 5 bulan (dua bayi) dan yang tertua anak berumur 13 tahun. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Heriyanto (Heriyanto 2000) yang mendapatkan sebaran umur pada hasil penelitiannya adalah umur 5 bulan sampai 15 tahun.

Pada penelitian ini, saat pengambilan sampel dimulai sejak bulan Desember 2005 dan berlangsung sampai bulan April 2006. Hal itu disebabkan oleh karena pada saat tersebut sedang musim hujan dan juga pada puncak musim hujan, sehingga dalam waktu yang relatif tidak terlalu lama dapat terkumpul sejumlah sampel yang diperlukan. Setelah bulan April 2005 dimana hujan sudah mulai jarang, penderita juga jarang atau tidak dijumpai lagi. Hal ini sesuai dengan hampir semua data yang ada di kepustakaan, bahwa terjadinya wabah atau penularan yang paling sering pada waktu musim hujan (Ismail 1991, Rima 1995, Griffin 1996, Maldonado 2003). Diasumsikan hal ini disebabkan oleh karena kelembaban udara yang memungkinkan virus campak bisa hidup lebih lama diudara bebas. Hal itu juga terlihat pada penelitian ini, yakni setelah bulan April 2006 pada saat sudah tidak terjadi hujan, tidak dijumpai lagi penderita campak.

Mengenai lokasi penelitian, diambil sampel dari provinsi Jawa Barat (Kota Bandung), provinsi Jawa Tengah (Kota Surakarta, Kabupaten Semarang, Kabupaten Boyolali, Kabupaten Karanganyar, Kabupaten Sragen dan Kabupaten Sukoharjo), dan provinsi Jawa Timur (Kabupaten Pacitan). Dipilih daerah tersebut, oleh karena : (1) di daerah tersebut ada dokter spesialis anak (SpA) yang mempunyai minat pada masalah penyakit campak, (2) terdapat fasilitas laboratorium yang memadai untuk penyimpanan sementara sampel serum penderita campak sebelum dikirim ke *Laboratorium Tropical Disease Centre* Surabaya dan (3) didapat kasus campak yang relatif banyak sehingga bisa mencapai jumlah sampel yang diinginkan.

Semua penderita yang didapat telah memenuhi kriteria klinis yang diajukan oleh *WHO* (*WHO*, 1983), yaitu semua anak dengan : (1) adanya ruam makulopapuler yang merata paling tidak selama 3 hari, (2) demam paling tidak 38.3°C , dan (3) paling tidak ada satu dari gejala-gejala klinik berikut : batuk, pilek dan konjungtivitis. Peneliti mengambil kriteria *WHO* 1983 oleh karena memang belum ada kriteria yang lebih baru dan kriteria tersebut memang masih dapat memberikan validitas yang baik untuk menentukan diagnosis penderita campak. Memang pernah diusulkan untuk memodifikasi kriteria tersebut berhubung adanya kesulitan untuk mendiagnosis klinis penyakit campak (Ferson, 1995). Tetapi usulan tersebut tidak ada kelanjutannya. Pada penelitian ini, semua sampel yang didapat telah memenuhi kriteria tersebut, tetapi terdapat perbedaan dalam hal ringan dan beratnya perjalanan klinisnya. Misalnya dalam hal lamanya demam. Pada golongan bayi umur 5 - <9 bulan didapatkan lama demam hanya sampai hari keenam. Tapi pada anak berumur 13 tahun, lamanya demam sampai lebih dari 7 hari dengan keadaan umum yang lebih berat sehingga memerlukan perawatan yang lebih lama di rumah sakit.

Pada penelitian ini, pembagian golongan umur didasarkan pada pemberian imunisasinya. Golongan umur 5 - <9 bulan adalah bayi yang belum mendapat imunisasi campak, oleh karena jadwal pemberian imunisasi yang dilakukan di Indonesia untuk pemberian imunisasi campak adalah pada umur 9 bulan. Golongan umur 9 bulan - <6 tahun adalah golongan bayi dan anak sampai umur 5 tahun yang sudah mendapat imunisasi campak satu kali, yaitu pada waktu mereka berumur 9 bulan. Golongan umur 6-13 tahun adalah mereka yang sudah mendapat imunisasi campak dua kali, pertama pada waktu imunisasi dasar umur 9 bulan dan kedua pada waktu di sekolah dasar dengan melalui Program BIAS. Pada golongan umur 5 - <9 bulan didapatkan 2 bayi yang menderita campak modifikasi, yaitu dengan adanya gejala campak yang lebih ringan berupa timbulnya demam berlangsung dalam jangka waktu yang lebih pendek, timbulnya ruam juga ringan. Pada dua bayi ini, pemeriksaan serologis menunjukkan hasil IgG(-)/IgM(+). Berarti pada kedua bayi tersebut yang berumur 7 bulan, sudah tidak mempunyai antibodi *maternal* lagi. Hal ini sesuai dengan penelitian Soegijanto (Soegijanto, 1992) yang mendapatkan kadar antibodi *maternal* mulai menurun sejak umur 3 bulan dan pada umur 6 bulan kadar antibodi *maternal* sudah mulai menghilang. Pemeriksaan IgM menunjukkan hasil IgM(+), yang menunjukkan bahwa keduanya memang sedang terkena infeksi akut campak. Pada pemeriksaan elektroforesis dari hasil pemeriksaan PCR juga tidak menunjukkan hasil positif. Kemungkinan hal ini disebabkan oleh karena pasangan primer yang dipakai tidak bisa melekat karena adanya variasi nukleotida, atau kemungkinan kedua, telah terjadi mutasi.

Semua penderita memang diperiksa pada hari ketiga, keempat atau kelima timbulnya panas. Dan beberapa penderita, pengambilan sampel darahnya dilakukan pada waktu hari kedua timbulnya ruam. Namun mereka tetap diobservasi sampai 3

atau 4 hari kemudian untuk memastikan lama timbulnya ruam sampai 3 hari. Memang untuk pemeriksaan serologis terdapat kekurangan bila pengambilan sampel dilakukan pada hari kedua atau ketiga timbulnya ruam. Disatu pihak, pada hari kedua atau ketiga timbulnya ruam masih terdapat pada fase viremia, jadi kesempatan untuk bisa mendapatkan virus campak lebih besar.

WHO (WHO, 2000) menyatakan bahwa untuk pemeriksaan serologis IgG dan IgM, bila pengambilan sampel dilakukan pada hari ketiga atau sebelumnya, pemeriksaan IgM dapat memberikan hasil negatif palsu (*false negative*) sebesar 30%. Hal ini disebabkan oleh karena pada saat tersebut antibodi IgM belum terbentuk. Tetapi untuk keperluan epidemiologi, WHO tetap merekomendasikan pengambilan sampel hendaknya dilakukan pada saat kontak pertama dengan penderita. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian ini, dimana pada golongan umur 6-13 tahun ada 7 penderita yang hasil pemeriksaan IgM-nya negatif, tetapi pada pemeriksaan elektroforesis hasil PCR menunjukkan adanya *band*, yang berarti didapatkannya virus. Hasil pemeriksaan IgM pada 7 penderita (50%) menunjukkan hasil pemeriksaan IgM positif.

Hasil pemeriksaan klinis derajat batuk, pilek dan konjungtivitis juga menunjukkan variasi. Ada penderita yang batuk dan pilek hanya ringan saja. Demikian juga konjungtivitisnya juga ringan. Walaupun demikian, pada kasus yang dirawat dirumah sakit atau yang rawat jalan ditemukan kasus dengan gejala klinis batuk, pilek yang berat. Pada penelitian ini ditemukan dua penderita yang dirawat dirumah sakit menunjukkan tanda-tanda adanya komplikasi bronkhopneumonia. Pada umumnya, pada golongan bayi (umur 5 - <9 bulan) menunjukkan gejala klinis yang ringan. Hal ini diasumsikan karena masih adanya antibodi *maternal*, sesuai dengan hasil pemeriksaan bayi MV-27-Bdg (umur 5 bulan) yang menunjukkan hasil

pemeriksaan IgG-nya positif. Keadaan ini sesuai dengan hasil penelitian pendahuluan (*preliminary study*) dari peneliti (Salimo 2006) yang mendapatkan hasil 95% bayi baru lahir di Rumah Sakit Dr Muwardi Surakarta menunjukkan hasil pemeriksaan IgG positif. Tapi pada bayi MV-5-Solo dan MV-9-Solo didapatkan hasil pemeriksaan IgG yang negatif. Berarti memang sudah tidak didapatkan lagi antibodi *maternal* sehingga kedua bayi tersebut bisa terkena campak. Hasil pemeriksaan IgM kedua bayi tersebut juga negatif. Hasil pemeriksaan elektroforesis menunjukkan adanya *band* dan pemeriksaan sekuensing DNA belum menunjukkan hasil. Hal ini mungkin disebabkan oleh karena terjadinya mutasi pada virus, atau *primer* yang digunakan pada waktu pemeriksaan RT-PCR tidak bisa melekat pada virus.

Dari pembagian menurut gejala klinisnya, 18 penderita (75%) termasuk dalam campak klasik dan sisanya 6 penderita (25%) termasuk dalam campak modifikasi. Tidak ada yang memenuhi kriteria untuk campak a-tipikal, walaupun terdapat dua penderita menunjukkan gejala-gejala klinik cukup berat seperti gambaran gejala klinik pada penderita campak a-tipikal, yaitu adanya gejala klinik yang berat, panas tinggi sampai 6 hari dan adanya komplikasi bronkhopneumonia. Tetapi pada kedua penderita tersebut tidak didapatkan riwayat pemberian imunisasi dengan vaksin yang berasal dari virus campak yang dimatikan (*killed measles vaccine - KMV*).

Semua sampel dilakukan pemeriksaan serologi IgM dan IgG. Kecuali sampel MV-4-Solo, bayi berumur 9 bulan, tidak dilakukan pemeriksaan serologis karena jumlah serumnya terlalu sedikit. Dari hasil pemeriksaan serologis, empat belas penderita (58,3%) menunjukkan hasil IgM positif, sedangkan sisanya IgM negatif. Namun ini tidak berarti bahwa mereka tidak menderita campak aktif. Hal ini dapat disebabkan oleh karena pada penelitian ini saat pengambilan sampel adalah pada hari ketiga atau keempat dari mulai timbulnya gejala-gejala klinik, sehingga pada saat

tersebut IgM belum terdeteksi. Hal ini sesuai dengan hasil rekomendasi WHO (WHO 2003) bahwa hasil pemeriksaan IgM bila pengambilan sampel dilakukan pada hari ketiga hanya akan memberi hasil 70% positif. Seharusnya, pada penderita campak dengan hasil pemeriksaan IgM negatif, dilakukan pemeriksaan serologis ulang satu minggu kemudian. Namun pada penelitian ini tidak dilakukan pemeriksaan ulang tersebut berhubung adanya hambatan teknis. Hasil pemeriksaan IgG pada penelitian ini menunjukkan 13 sampel (54.2%) hasilnya negatif. Dua di antaranya adalah pada bayi umur 7 bulan. Berarti bahwa kedua bayi tersebut memang sudah tidak mempunyai antibodi *maternal* lagi. Pada golongan umur 9 bulan sampai 5 tahun didapatkan 6 anak (87.1%) menunjukkan hasil pemeriksaan IgG negatif. Hal ini menunjukkan bahwa pada golongan umur tersebut sudah tidak didapatkan kekebalan lagi terhadap campak. Juga pada golongan umur 6 – 13 tahun didapatkan 5 anak (35.7%) menunjukkan hasil pemeriksaan IgG negatif, berarti mereka sudah tidak mempunyai kekebalan lagi terhadap infeksi campak. Hal ini mendukung usaha Departemen Kesehatan untuk melakukan imunisasi ulang campak dengan melalui Program BIAS (Bulan Imunisasi Anak Sekolah) untuk menimbulkan kembali perlindungan mereka terhadap infeksi campak.

Penderita MV-7-Solo, seorang anak laki-laki umur 4 ½ tahun masuk rumah sakit RS KI dengan diagnosis observasi febris hari ketiga. Pada anamnesa didapatkan gejala batuk, pilek, sedikit muntah dan penderita tidak mau minum. Status gizi sedang. Keesokan harinya mulai timbul sedikit ruam makulopapuler di daerah dahi. Pada mata sudah mulai kelihatan gejala konjungtivitis. Hari kelima menunjukkan gejala demam yang lebih tinggi, batuk dan pilek lebih meningkat, ruam makulopapuler lebih nampak dan mulai merata di daerah muka, sehingga dapat ditegakkan diagnosis campak. Hari keenam suhu tubuhnya mencapai 39,8°C, kemudian dilakukan pengambilan serum

untuk pemeriksaan serologis dan PCR. Tidak didapatkan manifestasi *Koplik's spot*. Hasil pemeriksaan darah rutin menunjukkan kadar Hb 12.9 gr% dan jumlah leukosit 2.600. Pada hari berikutnya ruam makulopapuler menyebar kearah dada dan punggung. Sehari kemudian ruam sudah merata diseluruh tubuhnya, termasuk di kedua lengan dan kakinya. Hari kesembilan suhu tubuhnya mulai menurun, tapi gejala batuk, pilek dan konjungtivitis masih menonjol. Hari kesepuluh suhu tubuhnya sudah normal, sudah mulai mau minum dan sedikit makan. Hari kesebelas penderita dipulangkan. Pemeriksaan serologis menunjukkan hasil IgM (+) dengan kadar tinggi, yaitu 3 01, dan IgG (+), dan pada pemeriksaan analisis filogenetik menunjukkan genotip D9. Jadi pada penderita ini menunjukkan gejala klinik campak klasik derajat sedang, dengan hasil pemeriksaan serologis IgM (+), IgG (+), dan termasuk dalam genotip D9. Pada anamnesa, kedua orangtuanya mengatakan bahwa penderita belum mendapatkan imunisasi campak, tetapi dilihat dari hasil pemeriksaan IgG (+) kemungkinan penderita sudah mendapatkan imunisasi campak pada waktu masih umur 9 bulan sehingga kemungkinan kedua orangtuanya sudah tidak ingat lagi.

Penderita MV-14-Solo, seorang anak perempuan berumur 5 tahun masuk rumah sakit RS DM dengan diagnosis observasi febris hari keempat. Pada anamnesa didapatkan juga gejala batuk dan pilek. Status gizi sedang. Keesokan harinya demam lebih tinggi, mencapai 40,0°C dan mulai timbul sedikit ruam makulopapuler. Hari berikutnya ruam bertambah banyak, suhu tubuh masih tinggi dan diagnosis campak ditegakkan. Hasil pemeriksaan darah rutin menunjukkan kadar Hb 14 gr% dan jumlah leukosit 4.500. Hasil pemeriksaan serologis IgM (+) dengan kadar 4,4 dan IgG (-), dan termasuk dalam genotip G3. Dari anamnesa, orangtuanya mengatakan bahwa penderita sudah mendapatkan imunisasi campak pada waktu masih bayi. Tetapi bila dilihat dari hasil pemeriksaan IgG (-) berarti penderita ini sudah tidak mempunyai

kekebalan, sehingga penderita bisa terkena campak. Dilihat dari genotipnya, penderita termasuk dalam genotip G3, sama dengan genotip penderita dari Gresik. Memang sejak zaman dulu terdapat hubungan ekonomi antara Solo dengan Gresik melewati jalur Bengawan Solo, apalagi pada saat ini transportasi yang menghubungkan kedua daerah tersebut sangat mudah dicapai.

Penderita MV-16-Pct, seorang anak perempuan berumur 7 tahun, berasal dari Kabupaten Pacitan (termasuk Provinsi Jawa Timur) berjarak kurang lebih 90 km dari Solo. Penderita sudah demam 5 hari dan sudah periksa kedokter setempat, demam tidak turun, bahkan meningkat. Pagi hari sebelum dibawa ke Solo timbul bercak berwarna merah. Karena orangtua penderita khawatir akan kemungkinan terkena demam berdarah, sore harinya diperiksakan ke seorang dokter spesialis anak di Solo (peneliti). Pada saat diperiksa, penderita masih demam, suhu tubuh 39.8^oC, batuk pilek, konjungtivitis dan didapatkan ruam makulopapuler di daerah dahi, muka, belakang telinga dan pada muka penderita tampak gejala *facies morbilli*. Status gizi penderita baik dan berasal dari etnis Tionghoa. Hasil pemeriksaan IgM (+) dengan konsentrasi 3,3 dan IgG (-). Pemeriksaan genotip menunjukkan penderita termasuk dalam genotip D9. Menurut penuturan orangtuanya, penderita sudah mendapatkan imunisasi lengkap pada masa bayinya, termasuk imunisasi campak. Tapi dilihat dari hasil IgG nya yang negatif, berarti penderita sudah tidak mempunyai kekebalan terhadap campak. Pada kunjungan 5 hari berikutnya, tampak hiperpigmentasi pada kulitnya dan pada beberapa tempat terdapat gejala deskuamasi. Jadi pada penderita ini menunjukkan gejala klinis campak klasik, dengan derajat sedang dan tidak menunjukkan gejala komplikasi.

Penderita MV-25-Bdg, seorang anak perempuan berumur 6 tahun, dari Bandung, masuk rumah sakit dengan diagnosis observasi febris hari ke empat. Pada

follow-up selanjutnya penderita menunjukkan gejala klinis campak klasik dengan derajat sedang. Status gizi sedang Hasil pemeriksaan serologis menunjukkan hasil IgM (+) dan IgG (-), dan hasil pemeriksaan analisis filogenetik termasuk dalam genotip D9. Penderita sudah mendapatkan imunisasi lengkap pada waktu masih bayi, termasuk imunisasi campak. Tapi dari hasil pemeriksaan IgG (-), berarti penderita sudah tidak mempunyai kekebalan lagi terhadap campak. Tidak seperti ketiga penderita sebelumnya yang menunjukkan hasil pemeriksaan IgM dengan kadar tinggi, pada penderita ini kadar IgM nya tidak terlalu tinggi, yaitu 17. Kemungkinan hal ini disebabkan waktu pengambilan sampel pada hari kedua timbulnya ruam, sehingga kadar IgM belum terlalu tinggi.

Menurut data publikasi WHO (WHO 2003, WHO 2005), saat ini genotip campak yang beredar di Indonesia ada 3 yaitu G2, G3 dan D9. Genotip G2, MV/Amsterdam NET/49/97, didapat dari penderita dari Jakarta yang berobat ke Belanda pada 1997. Kejadian ini sempat menimbulkan penularan dikalangan personel rumah sakit tempat anak tersebut dirawat. Bahkan sampai semua personel rumah sakit dilakukan skrining pemeriksaan IgG dan IgM spesifik campak (de Swart 2000). Genotip G3, MV/Gresik INO/17/02 berasal dari Gresik, sesuai dengan publikasi WHO (WHO 2003) dan D9 adalah penderita dari Bali yang diperiksa di Australia pada 1999, MV/Victoria, AUS/12/99. Untuk genotip G2, pada tahun 2001 WHO (WHO, 2001) telah mempublikasikan genotip yang beredar di Indonesia dan Malaysia adalah genotip G2.

Untuk genotip G3, sesuai dengan publikasi WHO (WHO, 2005), didapatkan genotip MV-14-Solo yang berasal dari Solo, termasuk dalam genotip G3. Hal ini sesuai dengan *population dynamic mobilization*, dimana telah terjadi arus mobilisasi penduduk pada kegiatan perdagangan sejak zaman dulu melewati aliran Bengawan

Solo, dari Solo sampai Gresik, sehingga virus yang beredar di Gresik bisa sampai di Solo. Juga disebutkan bahwa sebelumnya didapatkan genotip G3 dari penderita (pengungsi) yang berasal dari Timor Timur (sekarang Timor Leste) yang bermigrasi ke Australia pada tahun 1999. Virus tersebut berasal dari bahan sampel spesimen klinis. Namun pada 2002 didapatkan isolat virus genotip G3, Mvi/Gresik INO/17/02 dari Gresik, Jawa Timur dan ini yang kemudian oleh WHO menjadi acuan galur genotip G3 (WHO, 2003).

Pada kegiatan surveilans virologis terakhir, telah didapatkan genotip baru di Indonesia, yaitu D9. Galur acuan genotip ini adalah MVi/Victoria A1.S/12/99, diisolasi dari kasus campak yang di-impor ke Australia dan berasal dari Bali. Dalam publikasinya, WHO menyebutkan bahwa genotip D9 juga telah di-isolasi di pulau Jawa, Indonesia (WHO, 2003). Dari hasil penelitian ini didapatkan, virus campak yang menginfeksi penderita MV-16-Pct yang berasal dari Kabupaten Pacitan (provinsi Jawa Timur) adalah genotip D9. Walaupun berasal dari provinsi Jawa Timur, namun karena Kabupaten Pacitan berdekatan dengan Solo, penderita tersebut berobat ke Solo. Penderita MV-25-Bdg yang berasal dari Bandung, juga termasuk dalam genotip D9 (lihat Gambar 5.3 pohon filogenetik). Berarti sebaran atau distribusi genotip D9 telah merata di Indonesia.

Gambar 6.1. Pada peta grafik menunjukkan genotip virus campak yang ditemukan pada penelitian ini yaitu genotip D9 dan G3, dan genotip yang telah dipublikasi oleh WHO beredar di Indonesia yaitu genotip D9, G2, dan G3.



Gambar 6.1 Genotip virus campak yang diteliti pada penelitian ini ditunjukkan dengan huruf berwarna merah yaitu genotip D9 di Bandung, Solo, dan Pacitan dan genotip G3 di Solo. Genotip yang beredar di Indonesia yang dipublikasi oleh WHO ditunjukkan dengan huruf berwarna biru yaitu genotip D9 di Bali, G2 di Jakarta, dan G3 di Gresik.

Evaluasi hasil pemeriksaan manifestasi klinis dengan genotip dapat dilihat pada Tabel 6.1.

Tabel 6.1. Evaluasi manifestasi klinis dengan genotip.

No	Nomor Sampel	Usia	Campak Klinik			Genotip
			Ringan	Sedang	Berat	
1	MV-7-Solo	4,6 th		(+)		D9
2	MV-14-Solo	5 th		(+)		G3
3	MV-16-Pct	7 th			(+)	D9
4	MV-25-Bdg	6 th		(+)		D9

Tabel 6.1. menunjukkan kaitan antara manifestasi gejala klinis dengan jenis genotip. Penderita MV-7-Solo dan MV-25-Bdg dengan gejala klinis sedang disebabkan genotip D9, sedang penderita MV-16-Pct walaupun genotip D9

menunjukkan manifestasi klinis berat. Penderita MV-14-Solo dengan genotip G3 menunjukkan manifestasi klinis sedang. Keempat penderita campak tersebut dilihat dari status gizi dan umur menunjukkan keadaan yang hampir bersamaan, keadaan status gizi cukup dan umur sekitar 4,6 – 7 tahun. Dari uraian tersebut, belum dapat disimpulkan ada atau tidaknya kaitan antara manifestasi klinis dengan jenis genotip. Hal tersebut juga mengingat jumlah sampel yang dianalisis hanya sedikit.

Evaluasi hasil pemeriksaan profil serologis dan jenis genotip dapat dilihat pada Tabel 6.2.

Tabel 6.2. Evaluasi profil serologis dan genotip

NO	Nomor Sampel	Profil serologis		Genotip
		IgG	IgM	
1	MV-7-Solo	(+)	3.0	D9
2	MV-14-Solo	(-)	4.4	G3
3	MV-16-Pct	(-)	3.3	D9
4	MV-25-Bdg	(-)	1.7	D9

Dari temuan penelitian terdahulu telah dikemukakan bahwa di Indonesia terdapat beberapa atau paling sedikit tiga genotip campak, yaitu D9, G2 dan G3. Ini bisa menjawab pertanyaan mengapa seorang anak yang telah terkena penyakit campak, bisa terkena penyakit campak lagi apabila terinfeksi dengan virus campak dengan genotip yang berbeda. Misalnya pada waktu terkena campak pertama dengan genotip G2, kemudian bisa terkena campak lagi dengan genotip G3 dan D9 atau yang lain. Laporan dari beberapa negara lain menyebutkan seringnya terjadinya kasus impor. Misalnya di Amerika Serikat (Hutchins, 1996) menyebutkan terjadinya wabah di Amerika Serikat akibat adanya kasus impor dari negara Afrika dan Asia

Tenggara. Di Belanda, pada tahun 1997 terjadi wabah kecil dikalangan personel rumah sakit akibat adanya penderita dengan keadaan *immunocompromized* dari Jakarta, Indonesia, yang berobat ke rumah sakit tersebut (de Swart, 2000). Hasil pemeriksaan genotip menunjukkan penderita tersebut adalah genotip G2 Chibo (Chibo, 2002) melaporkan terjadinya kasus campak di Australia yang berasal dari penderita dari Timor Timur yang mencari suaka politik ke Australia dengan genotip G3. Dari hasil kajian epidemiologi molekuler tersebut bisa mendapatkan data adanya penyebaran virus campak dari Indonesia ke negara Belanda dan Australia. Oleh karena itu, pendekatan epidemiologi molekuler sangat penting untuk mengetahui pola penyebaran dan distribusi global virus campak diberbagai negara. Selanjutnya dapat dilakukan usaha untuk mencegah bahkan menghilangkan distribusi global dari virus campak ini (Jin, 1997, Katayama, 1997, Bellini, 1998; de Swart, 2001; MMWR, 2002, Mbogua, 2003, MMWR, 2004)

6.2. Temuan baru

Sebagian besar penderita (75%) penderita masih menunjukkan gejala klinis campak klasik dengan keadaan umum tampak sakit sedang. Tapi dua penderita menunjukkan gejala klinis yang agak berat sehingga perlu perawatan di rumah sakit. Sedang sisanya (25%) menunjukkan gejala klinis campak modifikasi, terutama terdapat pada bayi di bawah 9 bulan. Hal ini disebabkan karena pengaruh ada tidaknya antibodi *maternal*

Pemeriksaan IgG dan IgM menunjukkan hasil yang bervariasi, sehingga perlu dicermati dengan baik. Pemeriksaan IgG pada dua bayi menunjukkan hasil IgG(-), berarti pada kedua bayi tersebut sudah tidak mempunyai antibodi *maternal* lagi

Pemeriksaan IgM pada sebagian penderita (42%) menunjukkan hasil IgM negatif oleh karena pengambilan spesimen dilakukan pada hari kedua atau ketiga sehingga sesuai dengan rekomendasi WHO (WHO 2000) bahwa pengambilan spesimen pada waktu kurang dua hari setelah timbulnya ruam akan memberi hasil negatif palsu sebesar 30%

Dari hasil pemeriksaan sekuen DNA, diperoleh sekuen nukleotida dari 4 spesimen klinis, dan analisis filogenetik didapatkan dua genotip, yaitu genotip D9 dan G3. Dua penderita asal Solo (MV-7-Solo dan MV-16-Solo) dan satu penderita asal Bandung (MV-25-Bandung) termasuk dalam genotip D9. Satu penderita dari Solo (MV-14-Solo) termasuk dalam genotip G3. Sebelum itu, WHO (WHO 2001) menyatakan bahwa terdapat genotip G2 yang berasal dari penderita dari Jakarta (MV/Amsterdam.NET/49.97). Jadi berarti sekurang-kurangnya ada tiga genotip virus campak yang beredar di Indonesia, yaitu D9, G2 dan G3.

Pada penderita yang telah diketahui genotipnya, profil serologisnya menunjukkan hasil IgM semuanya positif dengan konsentrasi yang lebih tinggi ($M=3,2$, *cut-off points*=0.8). Sedangkan pemeriksaan serologis menghasilkan 3 penderita dengan IgG negatif dan 1 penderita IgG positif.

Dengan demikian ini bisa menjawab pertanyaan mengapa seorang anak yang telah menderita campak, bisa menderita campak lagi apabila terinfeksi dengan virus campak dengan genotip yang berbeda.

BAB 7

PENUTUP

7.1. Kesimpulan

1. Dilihat dari jenis gejala klinisnya, data sampel penelitian menunjukkan 18 penderita (75%) termasuk pada jenis campak klasik, dan sisanya 6 penderita (25%) termasuk pada jenis campak modifikasi. Tidak didapatkan penderita dengan gejala klinis campak atipikal.
2. Hasil pemeriksaan IgG dan IgM anti measles mendapatkan beberapa variasi hasil, tergantung pada umur anak, status imunisasi (belum mendapatkan imunisasi, sudah mendapat imunisasi satu kali, dan sudah mendapat imunisasi dua kali, pertama pada umur 9 bulan kedua pada waktu disekolah dasar dengan program BIAS). Dari golongan umur 5-<9 bulan didapatkan 2 bayi dengan IgG(-)/IgM(-) dan satu bayi dengan IgG(+)/IgM(+). Hal ini menunjukkan bahwa pada 3 bayi umur 5-<9 bulan, dua bayi sudah tidak mempunyai kekebalan terhadap campak dan hanya 1 bayi saja yang masih mempunyai kekebalan antibodi *maternal*. Dari golongan umur 9 bulan - <6 tahun didapatkan 1 anak dengan IgG(-)/IgM(-), satu anak dengan IgG(+)/IgM(+), dan 5 anak dengan IgG(-)/IgM(+). Sedangkan dari golongan umur 6-13 tahun, yang sudah mendapat 2 kali imunisasi (pertama pada waktu umur 9 bulan dan kedua pada di sekolah dasar dengan program BIAS), didapatkan 2 anak dengan IgG(+)/IgM(+), 5 anak dengan IgG(-)/IgM(+), dan 7 anak dengan IgG(+)/IgM(-).
3. Dari hasil pemeriksaan sekuensing DNA didapatkan 3 virus campak dengan genotip D9 (MV-7-Solo, MV-16-Pct dan MV-25-Bandung) dan 1

hasil yang dipublikasikan *WHO* (*WHO* 2003, *WHO* 2005) sebelumnya, bahwa di Indonesia terdapat 3 genotip, yakni D9, G3 dan G2. Genotip D9 sesuai dengan isolat asal penderita dari Bali (MVi/Victoria.AUS/24.99) dan genotip G3 sesuai dengan isolat dari Gresik (MVi/Gresik.INO/17.02). Dengan adanya 3 genotip yang beredar di Indonesia, dapat menjawab pertanyaan mengapa anak yang sudah pernah menderita campak, bisa menderita campak lagi apabila terinfeksi dengan virus campak yang berbeda.

Tidak didapatkan kaitan antara jenis manifestasi klinis dengan jenis genotip, sehingga kedua genotip yang ditemukan memberi manifestasi klinis yang hampir sama. Dari profil serologis didapatkan kenyataan bahwa pada kedua genotip yang ditemukan menimbulkan infeksi pada anak yang sudah tidak mempunyai kekebalan. Namun dalam waktu yang 2-3 hari setelah timbulnya ruam, timbul antibodi IgM dalam kadar yang cukup tinggi. Hal ini menandakan bahwa kedua genotip yang ditemukan termasuk virus yang cukup tinggi virulensinya.

7.2. Saran

1. Sesuai dengan hasil sekuensing DNA yang diperoleh pada penelitian ini, untuk Program Pemberantasan Campak atau Reduksi Campak, sebaiknya mempergunakan vaksin yang berasal dari virus yang beredar di Indonesia (virus lokal), sehingga dapat memberi tingkat perlindungan yang lebih baik. Untuk ini, diperlukan penelitian lebih lanjut untuk melakukan isolasi dan kultur virus campak, untuk mendapatkan kandidat vaksin campak yang lebih sesuai dengan virus yang beredar di Indonesia.

2. Mengingat masih sering terjadinya kasus campak dan Kejadian Luar Biasa (KLB) campak, diperlukan jumlah sampel yang lebih banyak dan wilayah yang lebih luas untuk mendapatkan gambaran genotip yang ada dan kemungkinan adanya genotip virus campak lainnya oleh karena adanya mutasi dari virus campak yang beredar di Indonesia.
3. Diperlukan pula pemeriksaan PCR dan sekuensing DNA yang lebih lanjut untuk menentukan apakah ada genotip lainnya atau virus campak lain yang mengadakan mutasi, insersi maupun delesi yang tidak dapat terdeteksi pada penelitian ini, dengan menggunakan pasangan *primer* yang lain atau optimasi suhu *annealing* pada waktu pemeriksaan RT-PCR.
4. Untuk mencegah terjadinya kasus *import* dari negara lain, disarankan pengawasan yang lebih ketat pada pihak Imigrasi terhadap pendatang yang masuk ke Indonesia, agar tidak terjadi kasus campak baru dengan genotip yang lain. Untuk hal ini diperlukan pengetahuan yang lebih baik dalam hal epidemiologi molekuler, dengan cara meningkatkan kerjasama dengan negara lain dan dengan *WHO*.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas AK and Lichtman AH. 2005. Antibodies and antigen in Cellular and Molecular Immunology fifth ed Elsevier Saunders, International Edition page 43-65
- Afzal MA, Osterhaus ADME, Cosby SL, Jin L, Beeler J, Takeuchi K, Kawashima H 2003. Comparative evaluation of measles virus-specific RT-PCR methods through an international collaborative study. *J Med Virol* 70:1, 171-176
- Albrecht P, Ennis FA, Saltzman EJ and Krugman S 1977 Persistence of maternal antibody in infants beyond 12 months mechanism of measles vaccine failure *J Pediatr* 91(5) 715-8
- Alcami A, Koszinowski UH. 2000. Viral mechanism of immune evasion. *Immunol today* 21(9) 447-55
- Alla A, Liffick SL, Newton BRElaouad R, Rota PA, Bellini WJ. 2002. Genetic analysis of measles viruses in Morocco. *J Med Virol* 68 441-4
- Allan SL, Alan U, Lehman D. 2002. Measles in : RudolphAM, Kamei, RK, Overby KJ Rudolph's Fundamental of Pediatrics. Thord ed. McGrawHill New York, 2002
- Baczko K, Brinckmann U, Pardowitz I, Rima BK, ter Meulen V. 1991. Nucleotide sequence of the genes encoding the matrix protein of two wild-type measles virus strains. *J Gen Virol* 72 (Pt 9):2279 - 82
- Bankamp B, Bellini WJ and Rota PA. 1999. Comparison of L proteins of vaccine and wild-type measles viruses. *J Gen Virol* 80 . 1617-1625.
- Barrero PR, de Wolff CD, Passegi CA and Mitschenko AS. 2000. Sequence analysis of measles virus hemagglutinin isolated in Argentina during the 1997-1998 outbreak. *J Med Virol* 60(1) 91-6
- Barrero PR, Zandomeni RO, Mitschenko AS.2001. Measles virus circulation in Argentina 1991-1999 *Arch Virol* 146 815-823
- Bellini WJ, Rota JS, Rota PA 1994. Virology of measles virus. *J Infect Dis* 170 Suppl 1 . S 15-23.
- Bellini WJ, Rota PA. 1998. Genetic diversity of wild type measles viruses : implication for global measles elimination programs. *Emerg Infect dis* 4(1) 29-35
- Bolt G. 2001. The measles virus (MV) glycoproteins interact with cellular chaperones in the endoplasmic reticulum and MV infection upregulates chaperone expression *Arch Virol* 146 (11) 2055-68

- British Medical Journal :Editorial 1998 : Informed Consent : edging forwards (and backwards). BMJ 316 : 949-951.**
- Budiarto E. 2001 Biostatistika untuk kedokteran dan kesehatan masyarakat. Penerbit buku kedokteran EGC edisi kedua Jakarta**
- Cardoso AI, Sixt N, Vallier A, Fayolle J, Buckland R and Wild F. 1998. Measles virus DNA Vaccination : Antibody isotype is determined by the method of immunization and by the nature of both the antigen and the coimmunized antigen J Virol 72:2516-2518**
- Center for Disease Control. 1983. Classification of measles cases and categorization of measles elimination program MMWR 1983;31:707-711.**
- Center for Disease Control and Prevention (CDC) 2005. Standard Protocols for RT-PCR for Molecular Epidemiology Measles Virus Section, CDC. January, 2005.**
- Center for Disease Control and Prevention (CDC) 2006. National Immunization Program .The Pink Book. 9 edition. Global Laboratory Networks.**
- Chibo D, Birch JB, Rota PA and Catton MG. 2000. Molecular characterization of measles viruses isolated in Victoria, Australia, between 1973 and 1998. J Gen Virol 81:2511-2518.**
- Chibo D, Ridell M, Catton M, Birch C 2002 Novel measles virus genotype, East Timor and Australia Emerg Infect Dis 8:735-737**
- Christensen LS, Scholler S, Schieru M, Vestergard BF, and Mordhorst, C.H. 2002. Sequence analysis of measles virus strain collected during the pre-and early-vaccination era in Denmark reveals a considerable diversity of ancient. APMIS 110 (2): 113-22.**
- Clements CJ and Cutts FT., 1995. The epidemiology of measles : thirty years of vaccination Curr Top Microbiol Immunol. 191 : 13-33.**
- Committee on Bioethics, American Academy of Pediatrics 1995. Informed consent, parental permission , and assent in pediatric practice. Pediatrics 95: 314-317.**
- Committee on Infectious Diseases, American Academy of Pediatrics 1998. Age for routine administration of the second dose of Measles-Mumps-Rubella vaccine. Pediatr 101 (1) 129-33.**
- Committee on Infectious Diseases 2000 Red Book. American Academy of Pediatrics PO Box 927, Elk Grove Village, Illionis**
- Cutts FT, Henderson RH, Clements CJ, Chen RT, Patriarca PA. 1991. Principles of Measles control Bull World Health Organ 69(1).1-7.**

- Cutts FT, Markowitz LE. 1994. Successes and failures in measles control. *J Infect Dis* 170 Suppl 1:S32-41.
- Cutts FT and Steinglass R., 1998. Should measles be eradicated? *BMJ* 316 765-767 (March).
- Cutts FT, Henao-Restrepo A, Olive JM. 1999 Measles elimination : progress and challenges. *Vaccine* 17(suppl)3:S47-52.
- Debre R and Celers J 1970. Measles : Pathogenesis and epidemiology. In *Clinical Virology*. WB Saunders Company. Philadelphia.
- De Swart RL, Wertheim-van Dillen PM, van Binnendijk RS et al. 2000 Measles in Dutch hospital introduced by an immunocompromized infant from Indonesia infected with a new virus genotype. *Lancet* 355(9199) 1557-8
- De Swart RL, El Mubarak HS, Vos HW, Mustofa OM, Abdallah A, Groen J, Mukhtar MM, Zijlstra EE, El Hassan AM, Wild TF, Ibrahim SA, Osterhaus AD. 2001. Prevention of measles in Sudan: a prospective study on vaccination, diagnosis and epidemiology. *Vaccine* 19:2254-7.
- De Swart RL, Nur Y, Abdallah A, Kruijing H, El Mubarak HS, Ibrahim SA, van den Hoogen B, Groen J and Osterhaus ADME. 2001a Combination of reverse transcriptase PCR analysis and immunoglobulin M detection on filter paper blood samples allows diagnostic and epidemiological studies of measles. *J Clin Microbiol*39:270-3.
- Duke T, Mgone CS. 2003. Measles : not just another viral exanthem. *Lancet* 361 (9359) : 763-73.
- El Mubarak HS, Van de Bildt MWG, Mustofa OA, Vos HW, Mukhtar MM, Groe J, Hasan AME, Niesters HGM, Ibrahim SA, Zijlstra EE, Wild TF, Osterhaus DME and De Swart RL. 2000. Serological and virological characterization of clinically diagnosed cases of measles in Suburban Khartoum. *J Clin Microb.* 38:987-991.
- El Mubarak HS, van de Bildt MWG, Mustafa OA, Vos HW Mukhtar MM et al. 2002. Genetic characterization of wild-type measles viruses circulating in suburban Khartoum, 1997-2000. *J Gen Virol* 83:1437-1443.
- El Mubarak HS, Ibrahim SA, Vos HW, Mukhtar MM, Mustofa OA, Wild TF, Osterhaus ADME, de Swart RL. 2003. Measles virus protein-specific IdM, IgA and IgG subclass responses during the acute and convalescent phase of infection. *J Med Virol* 72:290-298.
- El Mubarak HS, Yuksel S, Mustafa OM, Ibrahim SA, Osterhaus ADME, de Swart RL. 2004. Surveillance of measles in the Sudan using filter paper blood samples *J Med Virol* 73. 624-630

- El Mubarak HS, de Swart RL, Osterhaus ADME, Schutten M. 2004 Development of a semi-Quantitative real-time RT-PCR for the detection of measles virus. *J Clin Virol* 32 313-317
- Erdman DE, Heath JL, Watson JC, Markowitz LE, Bellini WJ. 1993 Immunoglobulin M antibody response to measles virus following primary and secondary vaccination and natural virus infection. *J Med Virol*, 41 44-8
- Featherstone D, Brown D, Sanders R. 2003 Development of the global measles laboratory network. *J Infect Dis* 187(Suppl) 264-269
- Ferson MJ, Young LC, Robertson PW and Whybin LR. 1995 Difficulties in clinical diagnosis of measles - proposal for modified clinical case definition. *Med J Aust* 163 364-366
- Garoff H, Hewson R and Opstelten DJE. 1998 Virus maturation by budding. *Microb and Mol Biol Rev* 62(4) 1171-1190
- Grenfell BE, Pybus OG, Gog JR, Wood JLN, Daly JM, Munford JA, Holmes EC, 2004 Unifying the epidemiological and evolutionary dynamics of pathogens. *Science*, 303 327-332
- Griffin HG, Griffin AM. 1993. DNA sequencing. Recent innovations and future trends. *Appl Biochem Biotechnol* 38 147-59
- Griffin DE and Bellini WJ. 1996 Measles virus. In: *Fields Virology* Ed. . B N Fields, DM Knippe, P M Howley et al. Third ed., Lippincott - Raven Publishers, Philadelphia
- Gurs D, Bayazit Y, Ozdemirer O, Buyurgan V, Yalniz C, Toprak I, Aycan S. 2003 Measles epidemiology and elimination strategies in Turkey. *J. Infect Dis* 187 (Suppl.) 230-34
- Hall AJ, Cutts FT. 1993. Lessons from measles vaccination in developing countries. *BMJ* 307(6915), 1294-5
- Handajani R, Soetjipto, Lusida MI, Nidom CA, Aksono B. 2000. Pemurnian "PCR product" pro "DNA sequencing". Lokakarya Biologi Molekuler. TDC Unair, 26-27 Juni 2000.
- Handajani R. 2003. DNA sequencing. Kursus Biologi Molekuler. Gramak FK Unair, Surabaya 7 Juni 1-12.
- Hansen F, Truong AT, Ammerlaan W, Kusika O, Adu F, Oyefolu AO, Omilabu SA and Muller CP. 1999 Molecular epidemiology of Nigerian and Ghanaian measles viruses isolates reveals a genotype circulating widely in western and central Africa. *J Gen Virol* 80 871-77
- Harun S. 2001 Genotyping dan karakterisasi antigenik virus liar Campak di Indonesia. Badan Litbang Kesehatan, Jakarta

- Henao-Restrepo AM, Strebel P, John Hockstra E, Birmingham M, Bilous J. 2003. Experience in global measles control, 1990-2001. *J Infect Dis* 187 Suppl 1:S15-21
- Heriyanto, B. 1998. Penelitian KLB Campak di Jawa dan Luar Jawa. Badan Litbang Kesehatan, Jakarta.
- Heriyanto B. 1999. Penelitian Campak di Jawa dan Luar Jawa. Badan Litbang Kesehatan, Jakarta
- Heriyanto B. 1999. Respon antibodi anak pasca pemberian Booster Campak. Badan Litbang Kesehatan, Jakarta
- Heriyanto B. 2000. Model pemberian imunisasi ulang Campak pada anak. Badan Litbang Kesehatan, Jakarta
- Horikami SM, Moyer SA. 1995. Structure, transcription, and replication of measles virus. *Curr Top Microbiol Immunol* 191: 35-50
- Hutchins SS, Markowitz L, Atkinson W. 1996. Measles outbreak in the United States, 1987 through 1990. *Ped Inf Dis J* 15:31-38
- Hutchins SS, Dezayas A, Le Blond K et al. 2001. Evaluation of an early two-dose measles vaccination schedule. *Am J Epidemiol* 154(11):1064-71.
- Ibrahim SA, Mustafa OM, Mukhtar MM, Saleh EA, El Mubarak HS, Abdallah A, El Hasan AM, Osterhaus ADME, Groen J, de Swart RI, Zijlstra EE. 2002. Measles in suburban Khartoum: an epidemiological and clinical study. *Trop Med and Intern Health* 7:442-449
- Ismail D. 1991. Measles in Indonesia. *Epidemiology and Prevention. Dissertation. Vrije Universiteit, Amsterdam.*
- Jin L, Brown DWG, Ramsay MEB, Rota PA and Bellini WJ. 1997. The diversity of measles virus in the United Kingdom, 1992-1995. *J Gen Virol* 78:1287-94
- Jin L, Sun YJ Ge L, Brown DW. 1998. Characterization of a new genotype of measles virus detected in China and England. *Epidemiol Infect* 121(3):691-7.
- Katayama Y, Shibahara K, Kohama T, Homma M and Hotta H. 1997. Molecular epidemiology and changing distribution of genotypes of measles virus field strain in Japan. *J Clin Microb* 35:2651-3.
- Korukluoglu G, Liffick S, Guris D, Kobune F, Rota PA, Bellini WJ, Ceylan A and Ertem M. 2005. Genetic characterization of measles viruses isolated in Turkey during 2000 and 2001. *Virology* 332:58
- Kreis S, Vardas E and Whistler T. 1997. Sequence analysis of the nucleocapsid gene of measles virus isolates from South Africa identifies a new genotype. *J Gen Virol* 78:1581-1587

- Krugman S and Ward R., 1973. Measles. In : *Infectious diseases in children and adults*. 5th ed. The CV Mosby Company, Saint Louis. Pp 106-122.
- Lau AS, Uba A, Lilman D. 2002. Measles. In *Rudolphs Fundamental Pediatrics*. Third ed International ed. Medical Publishing Division. Pp. 379-380.
- Linnemann CC, Dine MS, Roselle GA and Askey PA. 1982. Measles immunity after revaccination : results in children vaccinated before 10 months of age. *Pediatrics* 69:332-335
- Liflick SL, Thong NT, Xu W, Li Y, Lien HP, Bellini WJ and Rota PA. 2001. Genetic characterization of contemporary wild-type measles viruses from Vietnam and the People's Republic of China : identification of two genotype within clade H. *Virus research*. 77:81-87
- Lee MS, Nokes DJ, Hsu HM and Lu CF m, 2000. Protective titres of measles neutralising antibody. *J Med Virol* 62 : 544-547
- Levinson W and Jawetz E. 2003. RNA Enveloped Virus. in *Medical Microbiology & Immunology*, seventh ed aLange medical book McGrawHill page 235-250.
- Maldonado Y, 2003. Measles. In : Behrman RE, Kliegman RM, Jenson IIB *TextBook of Pediatrics*. 17 ed. Philadelphia. WB Saunders Company pp 1026-1031.
- Mathias RG, Meckison WG, Areand TA, Scheechter MT. 1989. The role of secondary vaccine failures in measles outbreaks. *Am J Public Health* 79:475-478
- Marttila J, Ilonen J, Norrby ER, Salmi A. 1999. Characterization of T cell epitopes in measles virus nucleoprotein. *J Gen Virol* 80 (Pt &): 1609-15.
- May-Lill Gary and Peter Aaby. 2003. The challenge of improving the efficacy of measles vaccine. *Acta Tropica* 85 : 1-17.
- Mbogua FM, Okoth FA Gray M et al. 2003. Molecular epidemiology of measles virus in Kenya. *J Med Virol*. 71(4):599-604.
- Minnich LL, Goodenough F and Ray CG 1991. Use of immunofluorescence to identify measles virus infections. *J Clin Microb* 29(6):1148-1150.
- Mizuta K, Abiko C, Murata T, Yamada K, Abiko T, Sakamoto M, Tsuchida s, Matsuzaki Y, Hongo S, Sunagawa T, Kudo K. 2005. An outbreak of measles virus infection due to a Genotype D9 at a Junior High School in Yamagata, Japan in 2004. *Jpn J Infect Dis* 58: 98-100.
- McChesney MB, Miller CJ, Rota PA, Zhu YD, Antipa L, Lerche NW, Ahmed R, Bellini WJ 1997. Experimental measles I Pathogenesis in the normal and immunized host. *Virology* 233(1): 74-84.
- McLean AR, Anderson RM 1988. Measles in developing countries Part II. The predicted impact of mass vaccination. *Epidemiol Infect* 100(3):419-42

- MMWR 1983. Classification of measles cases and categorization of Measles Elimination Program Morb Mortal Wkly Rep 31:707-11.
- MMWR 1998. Advances in Global Measles Control and Elimination; Summary of the 1997 International Meeting Morb Mortal Wkly Rep July 24, 47:1-23
- MMWR 2002. Measles United States, 2000, 2002. Morb Mortal Wkly Rep. 51: 120-123.
- MMWR 2003 Update global measles control and mortality reduction-worldwide,1991-2001 Morb Mortal Wkly Rep. May 23;52(20):471-5
- MMWR 2004. Epidemiology of Measles, United States 2001-2003 Morb Mortal Wkly Rep. August 13,53(31) 713-716.
- Mori T, Sasaki K, Hashimoto H, Makino S. 1993 Molecular cloning and complete nucleotide sequence of genomic RNA of the A1K-C strain of attenuated measles virus. *Virus gene* 7 67-81.
- Muwonge A, Nanyunja M, Rota PA, Bwogi J, Lowe L, Lifflick SL, Bellini WJ, Sylvester S. 2005 New measles genotype. Uganda *Emerg Infect Dis* 11
- Na BK, Lee JS, Shin GC, Shin JM, Lee JY, Chung JK, Ha DR, Lee Jsh, Cho HW, Kang C, Kim WJ. 2001. Sequence analyses of hemagglutinin and nucleoprotein genes measles viruses isolated in Korea during the 2000 epidemics *Virus Resp* 81 143-9
- Nokes DJ, McLean AR, Anderson RM Grabowsky M. 1990. Measles immunization strategies for countries with high transmission rates : interim guidelines predicted using a mathematical model. *Int J Epidemiol.* 19(3):703-10.
- Norby EC. 1976. Measles vaccination. *Bull Pan Am Health Organ* 10(3) : 196-7
- Nugraha Putra VE 2005 Genotipe dan subtipe virus Hepatitis B pada pendonor darah dengan Hepatitis surface antigen (HbsAg) positif di Jayapura, Provinsi Papua, Indonesia. Tesis Program Pasca Sarjana Universitas Airlangga Surabaya..
- Oliveira MJ, Rota PA, Curti SP at al. 2002 Genetic homogeneity of measles viruses associated with a measles outbreak . Sao Paulo, Brazil, 1997. *Emerg Infect Dis* 8 808-813
- Ome Ml 1999. Measles : a disease that has to be eradicated *Ann Trop Paedr* 19(2) 125-34
- Orenstein WA, Marekowitz LE, Atkinson WL, Hinman AR 1994 Worldwide measles prevention. *Isr J Med Sci* 30(5-6) 469-81

- Otten MW Jr, Okwo-Bele JM, Kezaala R, Biellik R, Eggers R, Nsimirimana D. 2003. Impact of alternative approaches to accelerated measles control : experience in the African region, 1996-2002. *J Infect Dis* 187 Suppl 1: S36-43.
- Papania M, Baughman AL, Lee S et al. 1999. Increased susceptibility to measles in infants in the United States. *Pediatrics* 104:59-70
- Parker A A, Staggs W, Dayan G H, Ortega-Sanchez I R, Rota P A, Lowe L, Boardman P, Teclaw R, Graves C, LeBaron C W. 2006. Implications of a 2005 measles outbreak in Indiana for sustained elimination of measles in the United States. *NEJM* 355 : 447 -445
- Parks CL, Lerch RA, Walpita P, Wang HP, Sidhu MS and Udem SA. 2001. Comparison of predicted amino acid sequences of measles virus strains in the Edmonston Vaccine lineage. *J Virol* 75:910-920
- Parks CL, Lerch RA, Walpita P, Wang HP, Sidhu MS, Udem SA. 2001. Analysis of the noncoding regions of measles virus strains in the Edmonston vaccine lineage. *J Virol* 75(2) 921-33
- Rawls WE, Rawls ML, Chernesky MA. 1975. Analysis of a measles epidemic, possible role of vaccine failures. *Can Med Assoc J* 113 941-944
- Riddell MA, Chibo D, Kelly HA, Catton MG and Birch CH. 2001. Investigation of optimal specimen type and sampling time for detection of measles virus RNA during a measles epidemic. *J Clin Microb* 40 5-9
- Riddell MA, Leydon JA, Catton MG and Kelly HA. 2002. Detection of Measles virus specific immunoglobulin M in dried venous blood samples by using a commercial enzyme immunoassay. *J Clin Microb* 40 (1) 5-9
- Rima BK, Earle JA, Baczko K, Rota PA and Bellini WJ., 1995. Measles virus strain variations. *Curr Top Microbiol Immunol* 191 : 65-83
- Rima BK, Earle JA, YeoRP, Herlihy L, Baczko K, ter Meulen V, Carabana J, Calabero M, Celma ML, Fernandez-Munoz R. 1995a. Temporal and geographical distribution of measles virus genotypes. *J Gen Virol* 76:1173-80.
- Rima BK, Davidson WB, Martin SJ. 1977. The role of defective interfering particles in persistent infection of Vero cells by measles virus. *J Gen Virol* 35:89-97
- Rima BK, Earle JAP, Baczko K, ter Meulen V, Liebert UG, Carsten C, Carabana J, Caballero M, Celma ML, Fernandez-Munoz R. 1997a. Sequence divergence of measles virus haemagglutinin during natural evolution and adaptation to cell culture. *J Gen Virol* 78 97-106
- Rima BK. 2001. Measles virus. *Encyclopedia of Life sciences*. Nature Publishing group

- Roitt I, Brostoff J, Male D 2001 *Immunology* Sixth ed Mosby Edinburgh. Pp 105 – 127.
- Rosenthal SR, Clements CJ 1993 Two-dose measles vaccination schedules. *Bull World Health Organ* 71(3-4):421-8.
- Rota JS, Humel KB, Rota PA, Bellini WJ. 1992 Genetic variability of the glycoprotein genes of current wild type measles isolates. *Virology* 188:135-142
- Rota PA, Bloom AE, Vanchiere JA, Bellini WJ 1994. Evolution of the nucleoprotein and matrix gene of wild-type strains of measles virus isolated from recent epidemics. *Virology* 198(2):724-30.
- Rota PA, Khan AS, Durigon E, Yuran T, Villamarzo YS and Bellini WJ. 1995. Detection of measles virus RNA in urine specimens from vaccine recipients. *J Clin Microbiol* 33 2485-88
- Rota PA, Rota JS Bellini WJ. 1995 Molecular epidemiology of measles viruses. *Semin Virol.* 6: 379-386
- Rota PA, Liffick S, Rosenthal S, Heriyanto B, Chua KB. 2000. Measles genotype G2 in Indonesia and Malaysia. *Lancet* 355:1557-8
- Rota JS, Heath JL, Rota PA, King GE, Celma ML, Carabana J, Fernandez-Munoz R, Brown D, Jin L, Bellini WJ, 1996 Molecular epidemiology of measles virus : identification of pathways of transmission and implications for measles elimination. *J Infect Dis* 173(1):32-7.
- Rota PA, Liffick SL, Rota JS, et al 2002. Molecular epidemiology of measles viruses in the United States, 1997-2001. *Emerg Infect Dis*
- Rota PA, Bellini WJ. 2003. Update on the global distribution of genotype of wild type measles viruses. *J Infect Dis* 187 Suppl 1 .S270-6.
- Rozenblatt S, Eizenberg O, Ben-Levy R, Lavie V, Bellini WJ. 1995. Sequence homology within the morbillivirus. *J Virol* 53:684-690
- Salimo H. 2006. Kadar IgG pada bayi baru lahir di RSUD Dr Muwardi Surakarta (sedang dalam penerbitan)
- Salimo H. 2006a. Kadar IgG pada anak usia sekolah di Sekolah Dasar di Surakarta. (sedang dalam penerbitan)
- Samuelson J. 1999. Measles. In : Cotran RS, Kumar V, Collins T. *Robbins Pathologic Basis of Disease*. Sixth ed. WB Saunders Co. Philadelphia. Pp 370.
- Santibanez S, Tischer A, Heider A, Siedler A and Hengel H., 2002. Rapid replacement of endemic measles virus genotypes. *J Gen Virol* 83 : 2699-2708.

- Santos PR, Azevedo ML, Borges MB, Freire MS, Nascimento JP, Moraes MT. 2003 Comparative sequence analysis of the P-,M- and L-coding region of the measles virus CAM-70 live attenuated vaccine strain. *Braz J Med Biol Res* 36(11):1475-84
- Sastroasmoro S, Ismail S. 1995 *Dasar dasar Metodologi penelitian Klinis Edisi-1* Penerbit Binarupa Aksara, Jakarta
- Schneider-Schaulies J, ter Meulen V and Schneider Schaulies S, 2001. Measles virus interactions with cellular receptors: consequences for viral pathogenesis. *J NeuroVirology* 7: 391-399
- Schneider-Schaulies S and ter Meulen V., 2002 Measles virus and immunomodulation: molecular bases and perspectives. *Expert Reviews* 1-18
- Schrag SJ, Rota PA and Bellini WJ 1999. Spontaneous mutation rate of measles virus: direct estimation based on mutations conferring monoclonal antibody resistance. *J Virol* 73(1):51-54
- Shepard DS. 1994 Economic analysis of investment priorities for measles control. *J Infect Dis* 170 Suppl 1: S56-62
- Sheshberadaran H, Chen SN, Norby E. 1983 Monoclonal antibodies against five structural components of virus. *Virology* 128: 341-353
- Shimizu H, McCarthy CA, Smaron MF and Burns JC. 1993. Polymerase chain reaction for detection of measles virus in clinical samples. *J Clin Microb* 31(5):1034-1039
- Soegiyanto S. 1992. *Imunisasi dini vaksin campuran Campak DPT: suatu upaya peningkatan cakupan imunisasi dan penurunan angka kesakitan penyakit Campak*. Disertasi Universitas Airlangga.
- Soegijanto S. 2001 *Campak Dalam Rangka IGN*. Hadinegoro SS, Soeyitno H, Kartasasmita C. *Buku Imunisasi di Indonesia Edisi 1* Penerbit Pengurus Pusat IDAI, Jakarta. Hal. 19-33
- Soeparto P, Soedibyo EP, Soeroso J. 1998 *Epidemiologi Klinis, Edisi 1* Penerbit Graha Masyarakat Ilmiah Kedokteran (Gramik), Surabaya.
- Sonoda S, Kitabara M, and Nakayama T. 2002 Detection of measles genome in bone-marrow aspirates from adults. *J Gen Virol* 83: 2485-88
- Strebel P, Guris D, Papania M, Cochi S. 1999 Invited commentary: vaccine failure or failure to vaccinate? *Am J Epidemiol* 149(4): 302-3
- Strebel P, Cochi S, Grabowsky M, Bilous J, Hersh BS, Okwa-Bele JM, Hoekstra E, Wright P, Katz S. 2003 The unfinished measles immunization agenda. *J Infect Dis* 187 Suppl 1: S4-7

- Takeuchi K, Tanabayashi K and Tashiro M. 2000. Comparative nucleotide sequence analyses of the entire genome of B95a cell-isolated and vero cell-isolated measles virus from the same patient. *Virus gene* 20 (3): 253-257
- Takeuchi K, Takeda M and Miyajima N. 2002. Toward understanding the pathogenicity of Wild-Type measles virus by reverse genetics. *Jpn J Infect Dis.* 55 : 143-49.
- Taufiqurahman MA. 2003. Metodologi Penelitian Kedokteran dan Kesehatan Penerbit CSGF (*The community of Self Help Group Forum*), Klaten. Hal 66-71
- Taylor MJ, Godfrey K, Baczko K, ter Meulen Wild TF and Rima BK. 1991. Identification of several different lineages of measles virus. *J Gen Virol* 72:83-88.
- Truong AT, Mulders MN, Gautam DC, Ammerlaan W, de Swart RL, Osterhaus AD, Muller CP. 2001. Genetic analyses of Asian measles virus strain-new endemic genotype in Nepal. *Virus res* 76:71-8
- Tulchinsky TH, Ginsberg GM, Abed Y, Angeles MT, Akukwe C, Bonn J. 1993. Measles control in developing and developed countries : the case for a two-dose policy. *Bull World Health Organ* 71(1):93-103.
- Van den Hof S, Conya -von Spaendonck MA, van Steenverger JE. 2002. Measles epidemic in the Netherlands, 1999-2000. *J Inf Dis* 186:1483-6.
- Varsanyi TM, Utter G, Norrby E. 1984. Purification, morphology and antigenic characterization of measles virus envelope components. *J Gen Virol* 65:355-366.
- Vincent O'Brien, 1998. Viruses and apoptosis. *J Gen Virol.* 79. 1833-1845.
- Wairagkar N, Rota PA, Liffick S, Shaikh N, Padbiri VS, Bellini WJ 2002. Characterization of measles sequences from Pune, India. *J Med Virol* 68 611-614
- Waku-Kuoumou D, Alla A, Blanquier B, Jeantet D, Caidi H, Rguig A, Freymuth F, Wild FT. 2006. Genotyping measles virus by real-time amplification refractory mutation system PCR represent a rapid approach for measles outbreak investigations. *J Clin Microbiol* 44: 487-494.
- Weaver R. 2005. *The Polymerase Chain Reaction in Molecular Biology*, third ed McGraw-Hill International Edition page 72-76.
- Williams BG, Cutts FT, Dye C. 1995. Measles vaccination policy. *Epidemiol Infect* 115(3) 603-21
- World Health Organization 2000. Manual for the laboratory diagnosis of measles virus infection. Department of Vaccines and Biologicals

- World Health Organization. 2001. Nomenclature for describing the genetic characteristics of wild-type measles viruses (update) – Part I Wkly Epidemiol Rec 76:241-7
- World Health Organization. 2001a Nomenclature for describing the genetic characteristics of wild-type measles viruses (update). Part II. Wkly Epidemiol Rec 76:249-56
- World Health Organization-Unicef 2001 Joint Statement on strategies to reduce measles mortality worldwide December 2001
- World Health Organization 2002. Manual for the laboratory diagnosis of measles virus infection. Departments of vaccine and Biologicals. Geneva
- World Health Assembly 2003. Reducing global measles mortality. Fifty-sixth World Health Assembly 28 May 2003
- World Health Organization 2003. Update of the nomenclature for describing the genetic characteristics of wild-type measles viruses : new genotype and reference strains. Wkly Epidemiol Rec 78. 229-240
- World Health organization 2005. New genotype of measles virus and update on global distribution of measles genotype. Wkly Epidemiol Rec 80:341-352.
- World Health Organization 2005a. Global measles and rubella laboratory network – update. Wkly Epidemiol Rec 80: 384-388
- Xiang JZ, Chen ZH 1983. Measles vaccine in the People's Republic of China. Rev Infect Dis 5:506-510
- Xu W, Tamin A, Rota JS, Zhang L, Bellini WJ, and Rota PA 1998. New genetic group of measles virus isolated in the People's Republic of China. Virus research 54:2, 147-156
- Yan J, Lu Y, Feng Y, Zhou M, Gong L, Shi W and Ge Q 2004. Sequence analysis of hemagglutinin and nucleoprotein genes of Measles virus isolated in Zhejiang Province of China during 1999 to 2003. Institut of Virology, China.
- Yuwono D 1998. Deteksi Interleukin-12 pada respon imun seluler terhadap beberapa jenis antigen Campak untuk menentukan tingkat imunogenik antigen. Badan Litbang Kesehatan, Jakarta
- Yuwono D 2008. Uji coba vaksin Campak CAM-70 buatan PT Bio Farma pada kelompok anak umur 8 – 11 bulan. Badan Litbang Kesehatan, Jakarta

Lampiran 1.**Jadwal Pelaksanaan Penelitian**

No	Pelaksanaan	12 04	01 05	02 05	03 05	04 05	05 05	06 05	07 05	08 05	09 05	10 05	11 05	12 05
1	Pemberita huan Ke Lokasi Peneli Tian													
2	Pengiriman form dan tabung reaksi													
3	Pengumpulan Sample													
4	Pengiriman Sample ke Lab BioKim/TDC													
5	Peperiksaan PCR Sequencing Analisis homologi													
6	Analisis Homologi													
7	Pemlisan Hasil peelitian													

Lampiran 2.**Catatan Medis Penderita Campak****dr. Harsono Salimo SpA(K), FK UNS/RSUD Dr Muwardi, Surakarta**

Nomer urut register :

Asal daerah/propinsi :

Rumah sakit :

Nama dokter yang memeriksa :

I. Identitas Pribadi :

1. Nama :

2. Tanggal lahir/Umur :

3. Jenis kelamin :

4. Nama orangtua :

5. Alamat :

6. Pekerjaan orangtua :

7. Suku bangsa :

II. Gejala klinis :

1. Keadaan umum : tampak sakit ringan/ sedang/ berat

2. Pada waktu diperiksa ini, :
panas hari ke

3. Suhu tubuh :

4. Batuk :

5. Pilek :

6. Konjungtivitis

7. Facies morbilli

8. Koplik's spot

9. Timbulnya ruam hari ke .
berapa dari panas

10. Ruam mulai timbul dari :

11. Ruam menyebar ke :

III. Riwayat imunisasi :

- belum pernah imunisasi :
- sudah pernah, kapan

IV. Komplikasi :

1. Bronkhopneumonia
2. Diare
3. Kejang

V. Pemeriksaan laboratorium :

1. Hb :
2. Jumlah leukosit
3. IgM/IgM Campak

VI. Pemeriksaan genotip :

2006

Dokter pemeriksa,

Lampiran 3. Ethical Clearance.



**ETHICAL REVIEW COMMITTEE
PANITIA KELAIKAN ETIK**

School of Medicine Sebelas Maret University,
Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret

Moewardi Hospital of Sukarno
RS. dr. Moewardi Sukarno



**ETHICAL CLEARANCE
KELAIKAN ETIK**

No. 001.1177/106 /

The Ethical Review Committee School of Medicine Sebelas Maret University, Moewardi
Panitia Kelakuan Etik Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret, RSUD. Moewardi

Hospital of Sukarno, after reviewing the proposed design, herewith to certify
Sukarno, setelah menilai rancangan penelitian yang diusulkan, dengan ini menyatakan

that the research proposal
bahwa usulan penelitian

topic
berjudul

CLINICAL PROFILE OF BILIRUBIN AND SEROLOGICAL PROFILE
DI IGD RSUD

principal investigator
peneliti utama

Dr. Harsono Salimo, Sp.A, Sp.S

location of research
tempat penelitian

RS. dr. Moewardi, Sukarno

is ethically approved.
dinyatakan laik etik.

Issued on
Gedung
Kantor

Harsono Salimo
Dr. Harsono Salimo, Sp.A, Sp.S
KORPORASI KESEHATAN SEBELAS MARET

Lampiran 4. Informed Consent.

**SURAT PERNYATAAN
PERSETUJUAN MENGIKUTI PENELITIAN
(INFORMED CONSENT)**

Yang bertanda tangan dibawah ini

Nama

Umur/Jenis Kelamin tahun. Laki-laki/Perempuan

Alamat

Orangtua dan nama anak

Umur

Dengan ini menyatakan secara sukarela bersedia untuk berpartisipasi dalam penelitian yang dilakukan oleh dr. Harsono Salimo SpA(K) dengan judul : Gejala klinik dan genotip campak di Indonesia, yang tujuan, sifat dan manfaat penelitian tersebut , serta risiko yang dapat ditimbulkannya telah cukup dijelaskan oleh dokter, dan saya telah mengerti sepenuhnya.

Demikian pernyataan persetujuan ini saya buat dengan penuh kesadaran tanpa paksaan.

Surakarta,

2005

Pelaksana Penelitian

Yang membuat pernyataan,

(
Nama Jelas)

(
Nama Jelas)

Lampiran 5. Persetujuan Tindakan Medis**SURAT PERNYATAAN
PERSETUJUAN TINDAKAN MEDIS**

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama :

Umur/Jenis Kelamin : tahun. Laki-laki/Perempuan

Alamat :

Orangtua dari nama anak :

Umur :

Dengan ini menyatakan secara sukarela bersedia untuk dilakukan tindakan medis berupa pengambilan sampel darah sebanyak 5 (lima) cc kepada anak saya, dalam rangka berpartisipasi dalam penelitian yang dilakukan oleh : dr. Harsono Salimo SpA(K) dengan judul : Gejala klinik dan genotip campak di Indonesia, yang tujuan, sifat dan manfaat penelitian tersebut , serta risiko yang dapat ditimbulkannya telah cukup dijelaskan oleh dokter, dan saya telah mengerti sepenuhnya

Demikian pemyataan persetujuan ini saya buat dengan penuh kesadaran tanpa paksaan.

Surakarta,

2005

Pelaksana Penelitian

Yang membuat pernyataan.

(.....)
Nama Jelas

(.....)
Nama Jelas

Lampiran 6.

DAFTAR NAMA, UMUR, JENIS KELAMIN DAN ALAMAT SAMPEL PENELITIAN.

NO	NAMA	UMUR	JENIS KELAMIN	ALAMAT	NO. SAMPEL
1	FE	11 th	Lk	Jateng/Ska	MV-1-SOLO
2	ME	7 bl	Pr	Jateng/Smg	MV-2-SMG
3	RI	6 th	Lk	Jateng/Byll	MV-3-SOLO
4	MF	9 bl	Lk	Jateng/Kra	MV-4-SOLO
5	AR	13 th	Pr	Jateng/Kra	MV-5-SOLO
6	MN	13 th	Lk	Jateng/Byll	MV-6-SOLO
7	HO	4,6 th	Lk	Jateng/Ska	MV-7-SOLO
8	AN	7 bl	Lk	Jateng/Byll	MV-8-SOLO
9	DE	7 th	Lk	Jateng/Kra	MV-9-SOLO
10	DA	6 th	Lk	Jateng/Skh	MV-10-SOLO
11	VE	6 th	Pr	Jateng/Kra	MV-11-SOLO
12	AR	9 th	Pr	Jateng/Byll	MV-12-SOLO
13	YA	10 th	Pr	Jateng/Ska	MV-13-SOLO
14	TA	5 th	Pr	Jateng/Ska	MV-14-SOLO
15	NA	9 th	Pr	Jateng/Srg	MV-15-SOLO
16	EV	7 th	Pr	Jatim/Pct	MV-16-PCT
17	IK	6 th	Pr	Jateng/Ska	MV-17-SOLO
18	IM	5 th	Lk	Jateng/Ska	MV-18-SOLO
19	YA	3 th	Lk	Jateng/Ska	MV-19-SOLO
20	DW	13 th	Pr	Jateng/Kra	MV-20-SOLO
21	CA	2 th	Pr	Jateng/Ska	MV-21-SOLO
22	RA	6 th	Pr	Jabar/Bdg	MV-25-BDG
23	VE	5 th	Pr	Jabar/Bdg	MV-26-BDG
24	NA	5 bl	Pr	Jabar/Bdg	MV-27-BDG

Keterangan :

- Jateng = Jawa Tengah
- Jabar = Jawa Barat
- Jatim = Jawa Timur
- Smg = Kabupaten Semarang
- Ska = Kota Surakarta
- Byll = Kabupaten Boyolali
- Kra = Kabupaten Karanganyar
- Skh = Kabupaten Sukoharjo
- Srg = Kabupaten Sragen
- Pct = Kabupaten Pacitan
- Bjms = Kota Banjarmasin
- Bdg = Kota Bandung

Lampiran 7.

HASIL PEMERIKSAAN GEJALA KLINIS.

NO	NAMA	UMUR	NO. SAMPEL	GEJALA KLINIS		
				KLASIK	MODIFIKASI	A-TIPIKAL
1	FE	11 th	MV-1-SOLO		+	
2	ME	7 bl	MV-2-SOLO		+	
3	RI	6 th	MV-3-SOLO		+	
4	MF	9 bl	MV-4-SOLO		+	
5	AR	13 th	MV-5-SOLO		+	
6	MN	13 th	MV-6-SOLO	+		
7	HO	4,6 th	MV-7-SOLO	+		
8	AN	7 bl	MV-8-SOLO		+	
9	DE	7 th	MV-9-SOLO	+		
10	DA	6 th	MV-10-SOLO	+		
11	VE	6 th	MV-11-SOLO	+		
12	AR	9 th	MV-12-SOLO	+		
13	YA	10 th	MV-13-SOLO	+		
14	TA	5 th	MV-14-SOLO	+		
15	NA	9 th	MV-15-SOLO	+		
16	EV	7 th	MV-16-PCT	+		
17	IK	6 th	MV-17-SOLO	+		
18	IM	5 th	MV-18-SOLO	+		
19	YA	3 th	MV-19-SOLO	+		
20	DW	13 th	MV-20-SOLO	+		
21	CA	2 th	MV-21-SOLO	+		
22	RA	6 th	MV-25-BDG	+		
23	VE	5 th	MV-26-BDG	+		
24	NA	5 bl	MV-27-BDG	+		

Lampiran 8.

JENIS KOMPLIKASI

NO	NAMA	UMUR	NO. SAMPEL	KOMPLIKASI		
				BRONKHO PNEUMONIA	DIARE	KEJANG
1	FE	11 th	MV-1-SOLO	(-)	(-)	(-)
2	ME	7 bl	MV-2-SOLO	(-)	(+)	(-)
3	RJ	6 th	MV-3-SOLO	(-)	(+)	(-)
4	MF	9 bl	MV-4-SOLO	(-)	(-)	(-)
5	AR	13 th	MV-5-SOLO	(-)	(-)	(-)
6	MN	13 th	MV-6-SOLO	(+)	(+)	(-)
7	HO	4,6 th	MV-7-SOLO	(-)	(-)	(-)
8	AN	7 bl	MV-8-SOLO	(-)	(-)	(-)
9	DE	7 th	MV-9-SOLO	(-)	(-)	(-)
10	DA	6 th	MV-10-SOLO	(-)	(-)	(-)
11	VE	6 th	MV-11-SOLO	(-)	(-)	(-)
12	AR	9 th	MV-12-SOLO	(-)	(-)	(-)
13	YA	10 th	MV-13-SOLO	(-)	(-)	(-)
14	TA	5 th	MV-14-SOLO	(+)	(-)	(-)
15	NA	9 th	MV-15-SOLO	(-)	(-)	(-)
16	EV	7 th	MV-16-PCT	(-)	(-)	(-)
17	IK	6 th	MV-17-SOLO	(-)	(-)	(-)
18	IM	5 th	MV-18-SOLO	(-)	(-)	(-)
19	YA	3 th	MV-19-SOLO	(-)	(-)	(-)
20	DW	13 th	MV-20-SOLO	(-)	(+)	(-)
21	CA	2 th	MV-21-SOLO	(+)	(-)	(-)
22	RA	6 th	MV-25-BDG	(-)	(-)	(-)
23	VE	5 th	MV-26-BDG	(-)	(-)	(-)
24	NA	5 bl	MV-27-BDG	(-)	(-)	(-)

Lampiran 9,**Hasil pemeriksaan IgG dan IgM**

NO	NAMA	UMUR	NO. SAMPEL	IgG/IgM	
				IgG	IgM
1	FE	11 th	MV-1-SOLO	+	-
2	ME	7 bl	MV-2-SOLO	-	-
3	RI	6 th	MV-3-SOLO	+	-
4	MF	9 bl	MV-4-SOLO		
5	AR	13 th	MV-5-SOLO	+	-
6	MN	13 th	MV-6-SOLO	-	-
7	HO	4,6 th	MV-7-SOLO	+	+
8	AN	7 bl	MV-8-SOLO	-	-
9	DE	7 th	MV-9-SOLO	+	-
10	DA	6 th	MV-10-SOLO	-	+
11	VE	6 th	MV-11-SOLO	+	+
12	AR	9 th	MV-12-SOLO	+	-
13	YA	10 th	MV-13-SOLO	+	+
14	TA	5 th	MV-14-SOLO	-	+
15	NA	9 th	MV-15-SOLO	-	+
16	EV	7 th	MV-16-PCT	-	+
17	JK	6 th	MV-17-SOLO	+	-
18	IM	5 th	MV-18-SOLO	-	+
19	YA	3 th	MV-19-SOLO	-	+
20	DW	13 th	MV-20-SOLO	+	-
21	CA	2 th	MV-21-SOLO	-	+
22	RA	6 th	MV-22-BDG	-	+
23	VE	5 th	MV-26-BDG	-	+
24	NA	3 bl	MV-27-BDG	+	+

Lampiran 10.

Hasil pemeriksaan PCR

NO	NAMA	UMUR	NO. SAMPEL	PCR (+)		PCR (-)
				(+)	Tanggal	
1	FE	11 th	MV-1-SOLO	+	30 Juni 06	
2	ME	7 bl	MV-2-SOLO			-
3	RI	6 th	MV-3-SOLO			-
4	MF	9 bl	MV-4-SOLO			-
5	AR	13 th	MV-5-SOLO	+	30 Juni 06	
6	MN	13 th	MV-6-SOLO			-
7	HO	4,6 th	MV-7-SOLO	+	29 Juni 06	
8	AN	7 bl	MV-8-SOLO			-
9	DE	7 th	MV-9-SOLO			-
10	DA	6 th	MV-10-SOLO			-
11	VE	6 th	MV-11-SOLO			-
12	AR	9 th	MV-12-SOLO			-
13	YA	10 th	MV-13-SOLO			-
14	TA	5 th	MV-14-SOLO	+	29 Juni 06	
15	NA	9 th	MV-15-SOLO			-
16	EV	7 th	MV-16-PCT	+	29 Juni 06	
17	IK	6 th	MV-17-SOLO			-
18	IM	5 th	MV-18-SOLO	+	30 Juni 06	
19	YA	3 th	MV-19-SOLO	+	29 Juni 06	
20	DW	13 th	MV-20-SOLO			-
21	CA	2 th	MV-21-SOLO	+	29 Juni 06	
22	RA	6 th	MV-25-BDG	+	26 Juni 06	
23	VE	5 th	MV-26-BDG	+	29 Juni 06	
24	NA	5 bl	MV-27-BDG	+	29 Juni 06	

Lampiran 11.**Hasil pemeriksaan sekuensing DNA**

NO	NAMA	UMUR	NO. SAMPEL	Sekuensing DNA
1	FE	11 th	MV-1-SOLO	-
2	ME	7 bl	MV-2-SOLO	-
3	RI	6 th	MV-3-SOLO	-
4	MF	9 bl	MV-4-SOLO	-
5	AR	13 th	MV-5-SOLO	-
6	MN	13 th	MV-6-SOLO	-
7	HO	4,6 th	MV-7-SOLO	D9
8	AN	7 bl	MV-8-SOLO	-
9	DE	7 th	MV-9-SOLO	-
10	DA	6 th	MV-10-SOLO	-
11	VE	6 th	MV-11-SOLO	-
12	AR	9 th	MV-12-SOLO	-
13	YA	10 th	MV-13-SOLO	-
14	TA	5 th	MV-14-SOLO	G3
15	NA	9 th	MV-15-SOLO	-
16	EV	7 th	MV-16-PCT	D9
17	IK	6 th	MV-17-SOLO	-
18	IM	5 th	MV-18-SOLO	-
19	YA	3 th	MV-19-SOLO	-
20	DW	13 th	MV-20-SOLO	-
21	CA	2 th	MV-21-SOLO	-
22	RA	6 th	MV-25-BDG	D9
23	VE	5 th	MV-26-BDG	-
24	NA	5 bl	MV-27-BDG	-

Lampiran 12. Hasil pemeriksaan Multiple Alignment.

A-002987 (Lga)	1	..GTTACGCTTCATATTCGCTAATTCGATGACATTCGCTGAGGATGCAAGGTTCTTTC	54
B1-002998	1	..GTTACGCTTCATATTCGCTAATTCGATGACATTCGCTGAGGATGCAAGGTTCTTTC	54
B2-001994	1	..GTTACGCTTCATATTCGCTAATTCGATGACATTCGCTGAGGATGCAAGGTTCTTTC	54
B3-146752	1	..GTTACGCTTCATATTCGCTAATTCGATGACATTCGCTGAGGATGCAAGGTTCTTTC	54
C1-AY043459	1	..GTTACGCTTCATATTCGCTAATTCGATGACATTCGCTGAGGATGCAAGGTTCTTTC	54
C2-M83021	1	..GTTACGCTTCATATTCGCTAATTCGATGACATTCGCTGAGGATGCAAGGTTCTTTC	54
D1-001005	1	..GTTACGCTTCATATTCGCTAATTCGATGACATTCGCTGAGGATGCAAGGTTCTTTC	54
D2-064587	1	..GTTACGCTTCATATTCGCTAATTCGATGACATTCGCTGAGGATGCAAGGTTCTTTC	54
D3-001071	1	..GTTACGCTTCATATTCGCTAATTCGATGACATTCGCTGAGGATGCAAGGTTCTTTC	54
D4-001076	1	..GTTACGCTTCATATTCGCTAATTCGATGACATTCGCTGAGGATGCAAGGTTCTTTC	54
D5-146752	1	..GTTACGCTTCATATTCGCTAATTCGATGACATTCGCTGAGGATGCAAGGTTCTTTC	54
D6-146750	1	..GTTACGCTTCATATTCGCTAATTCGATGACATTCGCTGAGGATGCAAGGTTCTTTC	54
D7-AF243450	1	..GTTACGCTTCATATTCGCTAATTCGATGACATTCGCTGAGGATGCAAGGTTCTTTC	54
D8-AF280883	1	..GTTACGCTTCATATTCGCTAATTCGATGACATTCGCTGAGGATGCAAGGTTCTTTC	54
E-481485	1	..GTTACGCTTCATATTCGCTAATTCGATGACATTCGCTGAGGATGCAAGGTTCTTTC	54
D09-AY923155	1	..GTTACGCTTCATATTCGCTAATTCGATGACATTCGCTGAGGATGCAAGGTTCTTTC	54
F-481485	1	..GTTACGCTTCATATTCGCTAATTCGATGACATTCGCTGAGGATGCAAGGTTCTTTC	54
G-481485	1	..GTTACGCTTCATATTCGCTAATTCGATGACATTCGCTGAGGATGCAAGGTTCTTTC	54
G1-001974	1	..GTTACGCTTCATATTCGCTAATTCGATGACATTCGCTGAGGATGCAAGGTTCTTTC	54
H2-AF171232	1	..GTTACGCTTCATATTCGCTAATTCGATGACATTCGCTGAGGATGCAAGGTTCTTTC	54
H2-AY043459-Gresik	1	..GTTACGCTTCATATTCGCTAATTCGATGACATTCGCTGAGGATGCAAGGTTCTTTC	54
H1-AF045217	1	..GTTACGCTTCATATTCGCTAATTCGATGACATTCGCTGAGGATGCAAGGTTCTTTC	54
H2-AF045217	1	..GTTACGCTTCATATTCGCTAATTCGATGACATTCGCTGAGGATGCAAGGTTCTTTC	54
M-14-Solo	1	..GTTACGCTTCATATTCGCTAATTCGATGACATTCGCTGAGGATGCAAGGTTCTTTC	54
MV-25-Solo	1	..GTTACGCTTCATATTCGCTAATTCGATGACATTCGCTGAGGATGCAAGGTTCTTTC	54
MV-3E-Solo	1	..GTTACGCTTCATATTCGCTAATTCGATGACATTCGCTGAGGATGCAAGGTTCTTTC	54
A-001992 (Edw)	60	..GTTACGCTTCATATTCGCTAATTCGATGACATTCGCTGAGGATGCAAGGTTCTTTC	119
B1-001998	60	..GTTACGCTTCATATTCGCTAATTCGATGACATTCGCTGAGGATGCAAGGTTCTTTC	119
B2-001994	60	..GTTACGCTTCATATTCGCTAATTCGATGACATTCGCTGAGGATGCAAGGTTCTTTC	119
B3-46753	60	..GTTACGCTTCATATTCGCTAATTCGATGACATTCGCTGAGGATGCAAGGTTCTTTC	119
C1-AY043459	60	..GTTACGCTTCATATTCGCTAATTCGATGACATTCGCTGAGGATGCAAGGTTCTTTC	119
C2-M83021	60	..GTTACGCTTCATATTCGCTAATTCGATGACATTCGCTGAGGATGCAAGGTTCTTTC	119
D1-001005	60	..GTTACGCTTCATATTCGCTAATTCGATGACATTCGCTGAGGATGCAAGGTTCTTTC	119
D2-064587	60	..GTTACGCTTCATATTCGCTAATTCGATGACATTCGCTGAGGATGCAAGGTTCTTTC	119
D3-001071	60	..GTTACGCTTCATATTCGCTAATTCGATGACATTCGCTGAGGATGCAAGGTTCTTTC	119
D4-001076	60	..GTTACGCTTCATATTCGCTAATTCGATGACATTCGCTGAGGATGCAAGGTTCTTTC	119
D5-146752	60	..GTTACGCTTCATATTCGCTAATTCGATGACATTCGCTGAGGATGCAAGGTTCTTTC	119
D6-146750	60	..GTTACGCTTCATATTCGCTAATTCGATGACATTCGCTGAGGATGCAAGGTTCTTTC	119
D7-AF243450	60	..GTTACGCTTCATATTCGCTAATTCGATGACATTCGCTGAGGATGCAAGGTTCTTTC	119
D8-AF280883	60	..GTTACGCTTCATATTCGCTAATTCGATGACATTCGCTGAGGATGCAAGGTTCTTTC	119
D9-481485	60	..GTTACGCTTCATATTCGCTAATTCGATGACATTCGCTGAGGATGCAAGGTTCTTTC	119
D09-AY923165	60	..GTTACGCTTCATATTCGCTAATTCGATGACATTCGCTGAGGATGCAAGGTTCTTTC	119
F-481485	60	..GTTACGCTTCATATTCGCTAATTCGATGACATTCGCTGAGGATGCAAGGTTCTTTC	119
G-481485	60	..GTTACGCTTCATATTCGCTAATTCGATGACATTCGCTGAGGATGCAAGGTTCTTTC	119
G1-001974	60	..GTTACGCTTCATATTCGCTAATTCGATGACATTCGCTGAGGATGCAAGGTTCTTTC	119
G2-AF171232	60	..GTTACGCTTCATATTCGCTAATTCGATGACATTCGCTGAGGATGCAAGGTTCTTTC	119
H2-AY043459-Gresik	60	..GTTACGCTTCATATTCGCTAATTCGATGACATTCGCTGAGGATGCAAGGTTCTTTC	119
H1-AF045217	60	..GTTACGCTTCATATTCGCTAATTCGATGACATTCGCTGAGGATGCAAGGTTCTTTC	119
H2-AF045217	60	..GTTACGCTTCATATTCGCTAATTCGATGACATTCGCTGAGGATGCAAGGTTCTTTC	119
M-14-Solo	60	..GTTACGCTTCATATTCGCTAATTCGATGACATTCGCTGAGGATGCAAGGTTCTTTC	119
MV-25-Solo	60	..GTTACGCTTCATATTCGCTAATTCGATGACATTCGCTGAGGATGCAAGGTTCTTTC	119
MV-1E-Solo	60	..GTTACGCTTCATATTCGCTAATTCGATGACATTCGCTGAGGATGCAAGGTTCTTTC	119

01-001206	447	458
02-001402	447	458
03-002103	447	458
04-002404	447	458
05-002705	447	458
06-003006	447	458
07-003307	447	458
08-003608	447	458
09-003909	447	458
10-004210	447	458
11-004511	447	458
12-004812	447	458
13-005113	447	458
14-005414	447	458
15-005715	447	458
16-006016	447	458
17-006317	447	458
18-006618	447	458
19-006919	447	458
20-007220	447	458
21-007521	447	458
22-007822	447	458
23-008123	447	458
24-008424	447	458
25-008725	447	458
26-009026	447	458
27-009327	447	458
28-009628	447	458
29-009929	447	458
30-010230	447	458
31-010531	447	458
32-010832	447	458
33-011133	447	458
34-011434	447	458
35-011735	447	458
36-012036	447	458
37-012337	447	458
38-012638	447	458
39-012939	447	458
40-013240	447	458
41-013541	447	458
42-013842	447	458
43-014143	447	458
44-014444	447	458
45-014745	447	458
46-015046	447	458
47-015347	447	458
48-015648	447	458
49-015949	447	458
50-016250	447	458
51-016551	447	458
52-016852	447	458
53-017153	447	458
54-017454	447	458
55-017755	447	458
56-018056	447	458
57-018357	447	458
58-018658	447	458
59-018959	447	458
60-019260	447	458
61-019561	447	458
62-019862	447	458
63-020163	447	458
64-020464	447	458
65-020765	447	458
66-021066	447	458
67-021367	447	458
68-021668	447	458
69-021969	447	458
70-022270	447	458
71-022571	447	458
72-022872	447	458
73-023173	447	458
74-023474	447	458
75-023775	447	458
76-024076	447	458
77-024377	447	458
78-024678	447	458
79-024979	447	458
80-025280	447	458
81-025581	447	458
82-025882	447	458
83-026183	447	458
84-026484	447	458
85-026785	447	458
86-027086	447	458
87-027387	447	458
88-027688	447	458
89-027989	447	458
90-028290	447	458
91-028591	447	458
92-028892	447	458
93-029193	447	458
94-029494	447	458
95-029795	447	458
96-030096	447	458
97-030397	447	458
98-030698	447	458
99-030999	447	458
100-031300	447	458



Lampiran 13. Hasil Pemeriksaan Komputer IgM dan IgG

Lampiran 13. Hasil Pemeriksaan Komputer IgM dan IgG

No	Nama Pasien	Umur	Jenis Kelamin	Alamat	Diagnosa	Uji IgM	Uji IgG
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65
66
67
68
69
70
71
72
73
74
75
76
77
78
79
80
81
82
83
84
85
86
87
88
89
90
91
92
93
94
95
96
97
98
99
100

Organisasi: Teknika Reader 030
 Wawancara: 1994
 EVALUATION REPORT

Item	Author	Year	Volume	Page No.
1

STANDARDS

1. The standards for the evaluation of the program are as follows: ...

CONCLUSIONS

The results of the evaluation show that the program is effective in ...

RECOMMENDATIONS

It is recommended that the program be continued and ...

The following are the conclusions and recommendations of the evaluation: ...

1. The program is effective in ...

2. It is recommended that the program be continued and ...

3. The following are the conclusions and recommendations of the evaluation: ...

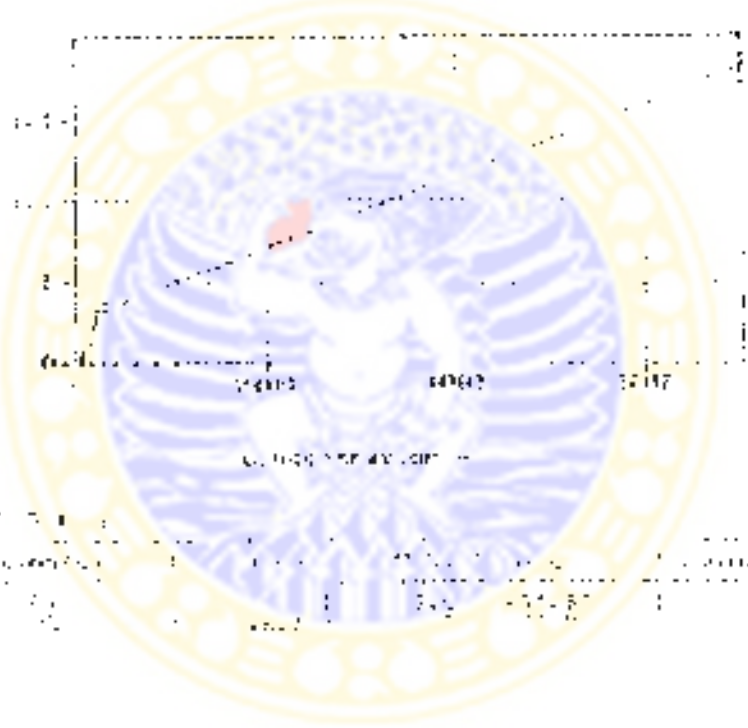
4. It is recommended that the program be continued and ...

5. The following are the conclusions and recommendations of the evaluation: ...

6. It is recommended that the program be continued and ...

Diagram Teknik Gender 330
 Versi 1.24
 EVALUASI HASIL

Uraian	Nilai	Bobot	Nilai Akhir	Bobot	Nilai Akhir
1. Kemampuan Berpikir Kritis	80	0,25	20	0,25	5
2. Kemampuan Berpikir Kreatif	80	0,25	20	0,25	5
3. Kemampuan Berpikir Logis	80	0,25	20	0,25	5
4. Kemampuan Berpikir Komprehensif	80	0,25	20	0,25	5
Jumlah					20



Uraian	Nilai	Bobot	Nilai Akhir	Bobot	Nilai Akhir
1. Kemampuan Berpikir Kritis	80	0,25	20	0,25	5
2. Kemampuan Berpikir Kreatif	80	0,25	20	0,25	5
3. Kemampuan Berpikir Logis	80	0,25	20	0,25	5
4. Kemampuan Berpikir Komprehensif	80	0,25	20	0,25	5
Jumlah					20

Ungenan Teknik Header 530
 Version 1.1.1
 EVALUATION RESULTS

Test ID	Test Name	Test Date	Test Result	Plate ID	Plate Date
---------	-----------	-----------	-------------	----------	------------

L U I D E F S / G R I D I L

Control 1: 100%
 Control 2: 100%

Target: 100%
 Range: 100%
 Range: 100%

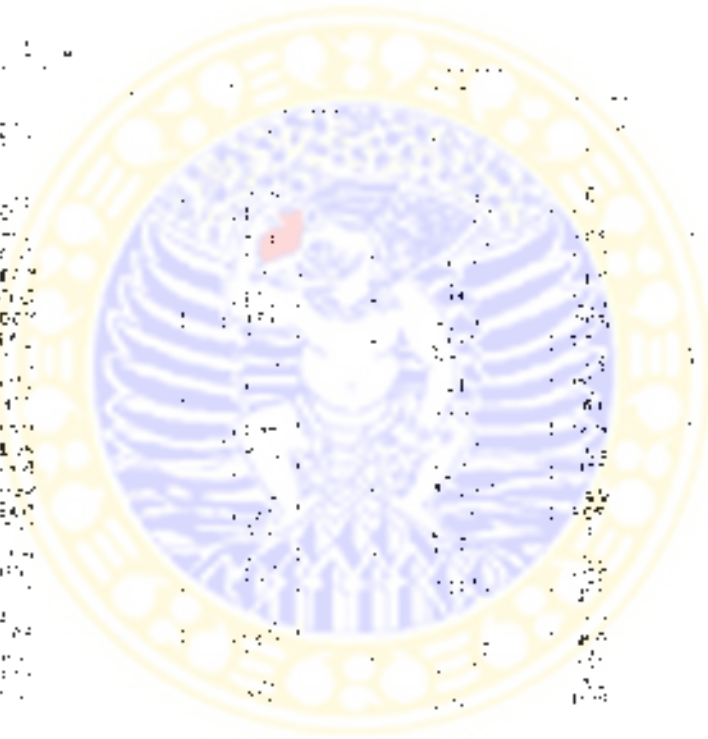
C O N T R O L

Control 1: 100%
 Control 2: 100%

E A M P L E

Sample 1:

1	100%	100%
2	100%	100%
3	100%	100%
4	100%	100%
5	100%	100%
6	100%	100%
7	100%	100%
8	100%	100%
9	100%	100%
10	100%	100%
11	100%	100%
12	100%	100%
13	100%	100%
14	100%	100%
15	100%	100%
16	100%	100%
17	100%	100%
18	100%	100%
19	100%	100%
20	100%	100%
21	100%	100%
22	100%	100%
23	100%	100%
24	100%	100%
25	100%	100%
26	100%	100%
27	100%	100%
28	100%	100%
29	100%	100%
30	100%	100%
31	100%	100%
32	100%	100%
33	100%	100%
34	100%	100%
35	100%	100%
36	100%	100%
37	100%	100%
38	100%	100%
39	100%	100%
40	100%	100%
41	100%	100%
42	100%	100%
43	100%	100%
44	100%	100%
45	100%	100%
46	100%	100%
47	100%	100%
48	100%	100%
49	100%	100%
50	100%	100%

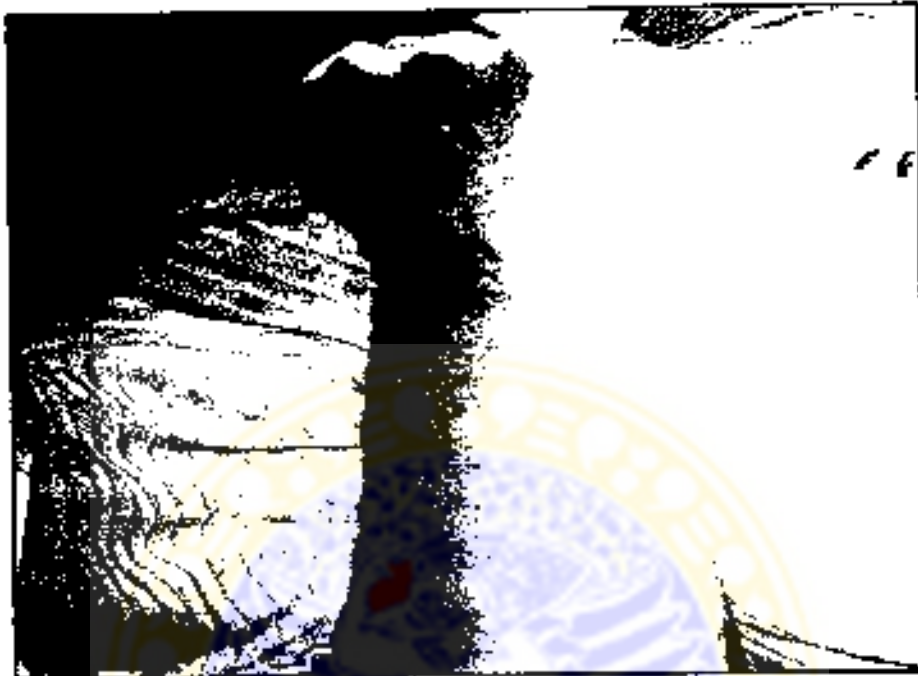


Daftar Isi

No. Urut	Judul	Penyusun	Halaman
1	1. PENDAHULUAN		1
2	2. TINJAUAN UMUM		2
3	3. MANIFESTASI KLINIS		3
4	4. PROFIL SEROLOGIS		4
5	5. PEMBAHASAN		5
6	6. PENUTUP		6
7	7. DAFTAR PUSTAKA		7
8	8. LAMPIRAN		8
9	9. DAFTAR ISI		9



LAMPIRAN 14. FOTO PENDERITA CAMPAK



Gambar atas : menunjukkan timbulnya ruam makulopapuler pada lengan kanan bawah penderita campak
Gambar bawah : menunjukkan timbulnya ruam makulopapuler pada dinding perut penderita campak

LAMPIRAN 15. DOKUMENTASI KEGIATAN SELAMA PENELITIAN



Kegiatan peneliti pada waktu melakukan pemeriksaan RT-PCR sekueensing DNA di Laboratorium Tropical Disease Center UNAIR Surabaya



Kegiatan peneliti pada waktu melakukan pemeriksaan RT-PCR, sekuensing DNA di Laboratorium Tropical Disease Center UNAIR Surabaya



Kegiatan peneliti pada waktu melakukan pemeriksaan serologis IgG dan IgM di Laboratorium Prodia Pusat, Jakarta

Sedangkan urutan nukleotida gen H dari genotip A Edmonston-WT.USA/54 adalah (Takeuchi, 1998):

```

1 atgtcaccac aacgagaccg gataaatgac ttctacaagc ataaccceca tcccaagggc
61 agtaggatag tcattaacag agaacatott atgattgata gaccttatgt ttgcctggct
121 cctctgttcg tcaagtctct gagcttgatc gggttgtag ccattgcagg ccttagactt
181 catcgggcag ccctctacac cgcagagatc cataaaagcc tcaqcaecaa tctaatgtra
241 accaactcaa tccagcator ggtcaaggat gngctgacac cactcttcaa aatcatcggt
301 gatgaagtgg gccctgaggac accttaguga ttcactgacc tagtgaattt cactctctgac
361 aagatttaat ccttcaatcc ggcagggagc taqgacttca gagatctcac ttggtgtatc
421 aancggccag agagatcaa attggattat gatcaactat gtcagatgtt ggtctctgaa
481 gagctcatga atgcatttgg gaactcaact ctactgqaga ccagaacaac caatcaqctc
541 ctagctgtct gaaagggaa ctgctcaggg ccactacaa tcagaggcca attctcaaac
601 atgtcctgtt cctgtctaga ctgttatcta agtcagaggtt acaatgtgct atctatagtc
661 actatgacat ccacaggaat gtatgqggga acttacctag tggaaaagcc taatctgagg
721 agcaaaaagg cagagctgic acaactgagc atgtaccgag tglitgaagt aggtgttacc
781 aqaacctccg gcttggnggc tccggtctcc cactgacaa actatcttga gcaaccagtc
841 agtaatgale tcagcaactg tatggtggct ttgggggagc tcaaacctgc agtcccttgt
901 cacgoggaag attctatcac aattccctat cacggatcac ggaagggtgt cagcttccag
961 ctuclcaagc taggtgtctg gaaatccca accgacatgc aatctgggtt cccctatcc
1021 acgcatgacc cagtgataga caggatcac ccttcatctc acagaggtgt tatcgtctgac
1081 aatcaagcac aalgggtgtt cctgacaaca cgaacagatg acaggttggc aatggagaca
1141 tgcctccaac aggcgtgta gggtaaaatc caagcactct cggagatcc ctagtgggca
1201 ccttgaaggc ataaccaggat tcttctatcc ggggtcttgt ttgttgatct gagtctgaca
1261 gttgagctta aatatcaaat tgcctcggga ttccggccat tgatcacaca cgggtccagg
1321 atggacctat acaaatccaa ccacacaact gtcctatggc tgactatccc gcaatgaaq
1381 aacttagctt taggtgtaat caacacatcg gagtggacac cagatccaa ggttagtccc
1441 aacctcttca ctgtctcaat taaggaagca ggcgaagact gcaatgccc aacatactta
1501 cctgcggagg tggatggta tctcaaacct adtccaatc tggctgattct acctggtcaa
1561 gatcccaant atgttttggc aacctaggat acttccaggg ttgaacatgc tgtggtttat
1621 taegtllada gcccaaggccg ctcaattctt tacttttate cttttaggtt cactataaag
1681 ggggtcccca tgaattaca agtggatgc ttcaatggg accaaaaact ctggtgocgl
1741 caetctctgt tgcctcggga ctcaqaact ggtggacana tcaactcactc tggatggtg
1801 gcaatgggag tcagctgac agtccaccgg gaagatggaa ccaatccgag atagggctgc
1861 tagtgaacca atctcatgat gtcacccaga catcaqccat acccactagt gtaaataga
1921 catcagaact aaaaaa

```

2.3.2. Distribusi global genotip virus campak

Analisis urutan menunjukkan bahwa strain vaksin campak berasal dari genotip A. Ini meliputi derivat vaksin dari isolat awal Edmonston 1954 (misalkan Moraten, Schwarz, Edmonston Zagreb, AIK-C) dan juga derivat dari virus campak tipe alam lainnya yang di-isolasi selama periode 1950 dan 1960 di China dan Jepang (misalkan Shanghai-191, Chanchun-47, CAM-70). Hal ini mengingatkan bahwa genotip A selain telah beredar secara luas pada era pra-vaksin, juga mungkin karena genotip A lebih sering dideteksi karena genotip A lebih sering dideteksi dengan kultur jaringan yang tersedia pada saat itu. Walaupun mungkin virus genotip A tipe alam masih