

DISERTASI

POLA DISTRIBUSI SEROTIPE VIRUS DENGUE PADA BEBERAPA DAERAH ENDEMIK DI JAWA TIMUR DENGAN KONDISI GEOGRAFI BERBEDA

Dia K 13/06

*Har
P*



SOEDJOKO HARIADHI

**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2005**



**POLA DISTRIBUSI SEROTIPE VIRUS DENGUE
PADA BEBERAPA DAERAH ENDEMIK DI JAWA TIMUR
DENGAN KONDISI GEOGRAFI BERBEDA**

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 : Selasa
Tanggal : 22 November 2006
Pukul 10.00 WIB

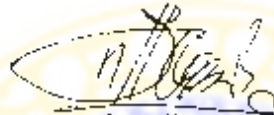
Oleh :

SOEDJOKO HARIADHI
NIM. 009913643

Lembar pengesahan

DISERTASI INI TELAH DISETUJUI
TANGGAL 22 Nopember 2005

Oleh :
Promotor



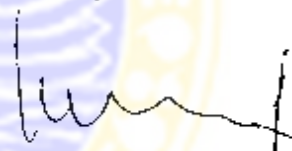
Prof Dr Soegeng Soegijanto, dr, DTM&H, SpA(K)
NIP 140047022

Ko promotor I



Prof Soetjipto, dr, MS, PhD
NIP 130687606

Ko promotor II



Dr Fedik Abdul Rantam, drh
NIP 131653434

Mengetahui,
KPS Ilmu Kedokteran




Prof Dr Mandojo Rukmo, drg, MSc, SpKG
NIP 130675839

Telah diuji pada Ujian Doktor Tahap I (Tertutup)

Tanggal 29 Agustus 2005

PANITIA PENGUJI DISERTASI

- Ketua** : Prof Soedarto, dr, DTM&H, PhD
- Anggota** : Prof Dr Soegeng Soegijanto, dr, DTM&H, SpA(K)
Prof Soetjipto, dr, MS, PhD
Dr Fedik Abdul Rantam, drh
Dr Florentina Sustini, dr, MS
Prof Kuntoro, dr, MPH, Dr. PH
Prof Dr Sri Subekti B.S., drh
Dr Andriansyah Arifin, dr, MPH



Ditetapkan dengan Surat Keputusan
Rektor Universitas Airlangga
Nomor : 7096/JO3/PP/2005
Tanggal: 12 September 2005

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur saya panjatkan kehadirat Allah SWT, Tuhan Yang Maha Kuasa atas segala Rahmat dan Karunia-Nya sehingga saya dapat menyelesaikan disertasi ini. Tanpa pertolongan Allah SWT saya sebagai makhluk yang lemah tidak akan mungkin dapat menyelesaikan pendidikan pada Program Pasca Sarjana Universitas Airlangga.

Terima kasih tak terhingga serta penghargaan yang setinggi-tingginya saya sampaikan kepada :

Prof Eddy Pranowo Soedibjo, dr, MPH (Alm) yang bersedia menjadi Promotor saya, dan telah banyak memberikan perhatian, bimbingan dan dorongan. Namun sebelum disertasi saya selesai beliau telah wafat. Semoga arwah beliau diterima disisi Allah SWT dan diampuni dosa-dosanya. Amin.

Prof Dr Soegeng Soegijanto, dr, DTM&H, SpA(K) yang bersedia melanjutkan tugas sebagai Promotor, dimana sebelumnya adalah Ko promotor, dengan penuh kebijakan dan kesabaran telah membimbing dan mengembangkan wawasan dan pengetahuan tentang penyakit Demam Berdarah Dengue dari aspek Epidemiologi Klinik.

Prof Soetjipto, dr, MS, PhD, sebagai Ko promotor yang disela-sela kesibukan beliau telah banyak memberi bimbingan dan arahan tentang proses penelitian di laboratorium *Tropical Disease Center* Universitas Airlangga di bidang Biologi Molekuler khususnya pemeriksaan *PCR* virus Dengue.

Dr Fedik Abdul Rantam, drh, sebagai Ko promotor yang telah banyak memberi bimbingan dan arahan tentang metodologi penelitian serta ilmu pengetahuan tentang virologi, khususnya virus Dengue serta cara-cara isolasi dan pemeriksaan laboratorium di *Tropical Disease Center* Universitas Airlangga. Juga berkat himbingan beliau usulan penelitian Hibah Pasca tahun 2003 dapat diterima, yang tentu saja sangat membantu proses penelitian disertasi saya.

Menteri Kesehatan R.I melalui Kepala Kantor Wilayah Departemen Kesehatan Propinsi Jawa Timur, yang telah memberi ijin untuk mengikuti pendidikan pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga.

Rektor Universitas Airlangga, Prof Dr Med H Puruhito, dr, SpB, TKV, juga mantan Rektor Universitas Airlangga, Prof H Soedarto, dr, DTM&H, PhD, atas kesempatan yang diberikan kepada saya mengikuti pendidikan Program Pascasarjana Universitas Airlangga.

Direktur Program Pasca Sarjana Universitas Airlangga, Prof Dr H Muhammad Amin, dr, SpP(K), juga mantan Direktur Program Pasca Sarjana Unair Prof Dr H Soedijono Tirtowidardjo, dr, SpIHT (K) yang telah memberi kesempatan kepada saya menjadi mahasiswa Program Pascasarjana Unair serta menggunakan fasilitas untuk menyelesaikan studi Program Doktor.

Ketua Program Studi Ilmu Kedokteran Program Pascasarjana Universitas Airlangga, Prof Dr Mandojo Rukmo, drg, MSc, SpKG dan mantan Ketua Program Studi Ilmu Kedokteran Prof Dr Hj. Juliati Hood Alsagaff, dr, MS, SpPA, FIAC, atas perhatian, arahan, dorongan serta kemudahan dalam penyelesaian administrasi sehingga sangat memperlancar studi saya.

Ketua *Tropical Disease Center* Universitas Airlangga, Prof Dr Joes Priyatna Dachlan, dr, MSc, atas ijin penggunaan fasilitas laboratorium *TDC* untuk penelitian saya.

Para pengajar Program Pasca Sarjana Universitas Airlangga :

Prof H Bambang Rahino Seto Koesoemo, dr : Prof H Eddy Pranowo Soedibjo, dr, MPH (Alm) ; Prof Soetandyo Wignyosoebroto, MPA : Prof Dr H J Glingka SVD ; Prof Dr Koento Wibisono : H Fuad Amsyari, dr, MPH, PhD ; Prof Dr Sarmanu, drh, MS ; Prof Dr Suhartono Taat Putra, dr, MS ; Siti Pariani, dr, MS, PhD ; Dr I. Dyson, drs, MA ; Prof Dr Kuntoro, dr, MPH ; Widodo J Pudjirahardjo, dr, MS, MPH, DrPH ; Prof Dr Sri Subekti, drh, MS ; Dr F M Judayana, dr, SpPK ; Dr Fedik Abdul Rantam, drh ; Prof Soetjipto, dr, MS, PhD yang telah menambah dan meningkatkan wawasan keilmuan saya selama saya menempuh pendidikan pada Program Pascasarjana Unair.

Para dosen penguji usulan penelitian disertasi : Prof H Eddy Pranowo Soedibjo, dr, MPH (Alm); Prof Dr Soegeng Soegijanto, dr, SpA(K), DTM&H ; Prof Soetjipto, dr, MS, PhD ; Prof Dr Sri Subekti, drh, MS ; Dr Fedik Abdul Rantam, drh ; Prof Kuntoro, dr, MPH, Dr PH ; Dr Andriansyah Arifin, dr, MPH atas segala koreksi serta asupan perbaikan sehingga penelitian disertasi ini dapat diteruskan.

Pembimbing penelitian : Prof Soetjipto, dr, MS, PhD ; Dr Fedik Abdul Rantam, drh ; Ibu Koen Pujiati ; Ibu Helen S ; Bapak Muhammad Amin, yang telah meluangkan waktu memberikan arahan dan bantuan dalam melaksanakan penelitian di laboratorium *TDC* Unair.

Direktur RSUD Dr Soetomo Surabaya, Direktur RSUD Dr Syaiful Anwar Malang, Direktur RSUD Dr Subandi Jember, Kepala Dinas Kabupaten Jember, yang telah membantu dan mengizinkan saya mengambil sampel darah penderita yang dirawat disana:

Semua penderita yang telah bersedia berpartisipasi menjadi subyek penelitian disertasi saya, tanpa kerelaan Saudara tidak mungkin penelitian ini berhasil. Semoga budi baik Saudara mendapat balasan dari Allah SWT. Amin.

Teman-teman peserta Program Pascasarjana Universitas Airlangga Program Studi Ilmu Kedokteran Angkatan 1999/2000 aas kerjasama dan saling memberi dorongan dan motivasi.

Teman-teman sekerja saya di Prodi Keperawatan Anestesi Politeknik Kesehatan Surabaya, yang telah membantu dan memberikan dorongan semangat. khususnya Saudara Mudjiati, SE, yang membantu mencatat pembukuan keuangan. Saudara Soegeng Hadiwidjojo T, yang membantu pengetikan naskah sejak awal hingga akhir disertasi.

Kedua orang tua saya Bapak Soegijono Martodihardjo (Alm), Ibu Soedarmi (Alm), sembah sujud saya haturkan atas segala kasih sayanginya dalam mengasuh, membesarkan dan mendidik saya ; Kedua Mertua saya Bapak M. Widagdo (Alm) dan Ibu Siti Rochaya (Alm) atas segala bimbingan dan arahnya.

Istri saya tercinta S.Ng. Widajati, SH, yang dengan tulus telah mendampingi, mendoakan dan memberi dorongan semangat hingga hingga saya berhasil menyelesaikan pendidikan doktor. Anak Pertama saya Arifi Wideasmani, SH, dan menantu Mufriadi Jazuli, SH, serta cucu Safira Oktaviana, anak kedua Cahyani Prapti Andari, S.Psi dan menantu IGN Mantra, S Kom, MKom., serta cucu-cucu Maulana Bintang Putra Dhani, Bima Saktya Pramanta Syahwali, anak ketiga Endang Tri Nugrahini, S Sos. yang telah mendoakan dan memberi dorongan semangat belajar.

Ketua dan seluruh anggota Badan Pengurus Yayasan Rumah Sakit Delta Surya Sidoarjo yang telah mengizinkan saya untuk meneruskan studi serta seluruh teman

sekerja yang memberi dorongan semangat dan khususnya saudara M Subakir H. ST yang telah membantu penyelesaian pengetikan naskah disertasi.

Seluruh handai taulan dan semua pihak yang tidak dapat saya sebutkan satu-persatu yang telah banyak membantu proses pendidikan doktor saya.

Akhirnya dari lubuk hati yang dalam dan tulus saya mohonkan kepada Allah SWT semoga membalaskan budi baik yang telah diberikan kepada saya. Amin.



RINGKASAN

**POLA DISTRIBUSI SEROTIPE VIRUS DENGUE
PADA BEBERAPA DAERAH ENDEMIK DI JAWA TIMUR
DENGAN KONDISI GEOGRAFI BERBEDA****Soedjoko Hariadhi**

Infeksi virus Dengue telah menjadi masalah kesehatan yang serius pada banyak negara tropis dan subtropis, oleh karena terjadi peningkatan jumlah penderita, menyebar luasnya daerah yang terkena wabah dan manifestasi klinis berat yang merupakan keadaan gawat darurat yaitu *Dengue Haemorrhagic Fever* (DHF) dan *Dengue Shock Syndrome* (DSS). Penyakit DBD di Indonesia telah menyebar ke seluruh Propinsi, tidak saja di daerah urban, tetapi sudah menyebar ke daerah rural, bersifat endemis dan cenderung mengalami kejadian luar biasa/(KLB).

Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari epidemiologi penyakit Demam Berdarah Dengue (DBD) dari sisi hubungan antara kondisi geografi suatu daerah terhadap serotipe virus Dengue dan tingkat keparahan penyakit, agar dapat digunakan sebagai strategi dalam pencegahan, pengobatan dan pemberantasan virus penyakit Demam Berdarah Dengue di Indonesia. Jenis penelitian ini adalah penelitian eksploratif laboratoris yaitu eksplorasi terhadap serotipe virus Dengue pada penderita DBD dari berbagai daerah yang berbeda kondisi geografinya dengan menggunakan teknik *reverse transcriptase-polymerase chain reaction* (RT-PCR) sekaligus dilakukan pemeriksaan DNA sequencing untuk mengetahui susunan nukleotidanya. Rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah *cross-sectional study*, dengan wilayah penelitian di Jawa Timur meliputi wilayah Surabaya, Malang, dan Jember yang berbeda kondisi geografinya (didasarkan data Badan Meteorologi dan Geofisika Wilayah III Juanda Surabaya).

Penelitian ini menggunakan sampel darah pasien yang telah didiagnosis positif menderita DBD di Wilayah Jawa Timur dengan mengambil tiga daerah penelitian yaitu Surabaya, Malang, dan Jember, dengan penegakan diagnosis yang didasarkan

pada kriteria WHO 1997. Pengumpulan sampel dilakukan di RSUD wilayah penelitian, dengan mengambil serum darah penderita DBD, kemudian dilakukan isolasi virus Dengue di laboratorium, dengan menggunakan teknik RT-PCR dilakukan identifikasi serotipe virusnya, selanjutnya dilakukan sequencing DNA untuk mengetahui susunan nukleotidanya. Hasil pengumpulan sampel, diperoleh 28 sampel dari Rumah Sakit Dr. Soetomo Surabaya, 21 sampel dari Rumah Sakit Dr. Syaiful Anwar Malang, dan 31 sampel dari Rumah Sakit Dr. Soebandi Jember.

Sebagai indikator untuk menetapkan adanya antibodi anti Dengue adalah hasil pemeriksaan kadar IgM dan IgG dengan metode *Captured ELISA*, indikator untuk menetapkan serotipe virus adalah hasil pemeriksaan *semi nested-Polymerase Chain Reaction (sn-PCR)* serum penderita, dan hasil pemeriksaan klinis oleh dokter di Rumah sakit wilayah penelitian sebagai indikator manifestasi klinis penderita DBD berdasar kriteria WHO 1997. Hasil penelitian ini dianalisis dengan menggunakan analisis deskriptif, yaitu analisis yang didasarkan pada deskripsi data hasil penelitian.

Berdasarkan hasil pemeriksaan IgM dan IgG dan *sn-PCR* pada penderita DBD dari wilayah Surabaya, Malang, dan Jember, menunjukkan bahwa infeksi sekunder dengan jenis virus Dengue serotipe Den-2 mendominasi kasus DBD di wilayah penelitian, sehingga dapat dinyatakan bahwa endemisitas di tiga wilayah daerah tersebut cukup tinggi. Sementara ditemukan seorang penderita DBD dari Surabaya terinfeksi virus ganda, Den-2 dan Den-3. Berdasarkan hasil sekuensing dapat dilihat bahwa isolat dari Jawa Timur yaitu dari Surabaya, Malang, Jember dan Pacitan terdapat homologi lebih dari 80% dan bila dibandingkan dengan isolat dari Jakarta, USA dan Jamaica homologinya kurang dari 73%. Artinya bahwa virus Dengue serotipe Den-2 di Jawa Timur masih tinggi kesamaannya, sedangkan bila dibanding serotipe Den-2 Jakarta, USA dan Jamaica kesamaannya berkurang. Untuk menentukan pola kekerabatan serotipe virus Dengue tersebut perlu penelitian lanjutan berupa "*Phylogenetic analysis*".

Diagnosis klinis penderita DBD pada penelitian ini dilakukan oleh dokter yang merawat di tiga daerah penelitian dengan menggunakan kriteria WHO 1997 untuk mengurangi terjadinya *over diagnosis*. Tingkat keparahan penyakit

diklasifikasikan menjadi 4 grade mulai dari yang paling ringan ke yang paling berat yaitu grade-1, grade-2, grade-3 dan grade-4.

Hasil pemeriksaan terhadap 28 penderita DBD dari daerah penelitian Surabaya, menunjukkan hasil diagnosis klinis grade-1 sebanyak 14 penderita (50%), grade-2 sebanyak 11 penderita (39,3%), grade-3 sebanyak 2 penderita (7,1%) dan grade-4 sebanyak 1 penderita (3,6%). Hasil pemeriksaan serologi terhadap 14 penderita dengan diagnosis klinis grade-1 menunjukkan positif 3 penderita (21,4%), equivocal 2 penderita (14,3%) dan negatif 9 penderita (64,3%). Pada 11 penderita grade-2 menunjukkan positif 7 penderita (63,6%), negatif 4 penderita (36,4%). Dari 2 penderita grade-3 menunjukkan positif semuanya (100%). Pada seorang penderita grade-4 menunjukkan positif semuanya (100%). Hasil pemeriksaan PCR terhadap 14 penderita dengan diagnosis klinis grade-1 menunjukkan positif 5 penderita (35,7%) virus Den-2 dan 9 penderita (64,3%) negatif. Pada 11 penderita dengan diagnosis klinis grade-2 menunjukkan 2 penderita (18,2%) positif virus Den-2 dan 9 penderita (81,8%) negatif. Pada 2 penderita grade-3 menunjukkan seluruhnya (100%) positif virus Den-2. Pada seorang penderita dengan diagnosis klinis grade-4 menunjukkan positif (100%) virus Den-2 dan Den-3 (infeksi ganda). Hasil temuan ini menunjukkan bahwa penderita yang didiagnosis klinis grade-1 dan grade-2 tingkat positifnya ditemukan virus Dengue rendah yaitu 71% dan 82%, sedangkan penderita dengan diagnosis klinis grade-3 dan grade-4 100% positif bahkan 1 kasus grade-4 mengalami infeksi ganda dengan virus Den-2 dan Den-3, artinya infeksi ganda tersebut memperparah perjalanan penyakit DBD sampai terjadi DSS dan mayoritas ditemukan virus Dengue serotipe Den-2, serotipe Den-3 pada satu penderita yang mengalami infeksi ganda Den-2 dan Den-3.

Hasil pemeriksaan terhadap 21 penderita DBD dari daerah penelitian Malang menunjukkan hasil diagnosis klinis dengan grade-1 sebanyak 3 penderita (14,3%), grade-2 sebanyak 15 penderita (71,4%), grade-3 sebanyak 1 penderita (4,8%) dan grade-4 sebanyak 2 penderita (9,5%). Hasil pemeriksaan serologi terhadap 3 penderita dengan diagnosis klinis grade-1 menunjukkan semuanya (100%) positif. Pada 15 penderita grade-2 menunjukkan 12 penderita (80%) positif, 2 penderita

(13,3%) equivocal dan 1 penderita (6,7%) negatif. Pada seorang penderita grade-3 menunjukkan semuanya (100%) positif. Pada 2 penderita grade-4 menunjukkan semuanya (100%) positif. Hasil pemeriksaan PCR terhadap 3 penderita dengan diagnosis klinis grade-1 menunjukkan seluruhnya (100%) negatif. Pada 15 penderita grade-2 menunjukkan 7 penderita (46,7%) positif virus Den-2 dan 8 penderita (53,3%) negatif. Pada 1 penderita grade-3 menunjukkan negatif (100%). Pada 2 penderita grade-4 menunjukkan 1 penderita (50%) positif virus Den-2 dan 1 penderita (50%) negatif. Virus yang ditemukan ternyata seluruhnya serotipe Den-2.

Hasil pemeriksaan terhadap 31 penderita DBD dari daerah penelitian Jember menunjukkan hasil diagnosis klinis dengan grade-1 sebanyak 15 penderita (48,4%), grade-2 sebanyak 12 penderita (38,7%), grade-3 sebanyak 3 penderita (9,7%) dan grade-4 sebanyak 1 penderita (3,2%). Hasil pemeriksaan serologi terhadap 15 penderita dengan diagnosis klinis grade-1 menunjukkan 5 penderita (33,3%) positif, equivocal 1 penderita (6,7%) dan 9 penderita (60%) negatif. Pada 12 penderita dengan diagnosis klinis grade-2 menunjukkan 10 penderita (83,3%) positif dan 2 penderita (16,8%) negatif. Pada 3 penderita grade-3 menunjukkan semuanya (100%) positif, grade-4 sebanyak 1 penderita menunjukkan positif (100%). Hasil temuan ini menunjukkan bahwa mayoritas diagnosis klinis penderita adalah grade-1 (48,4%) dan grade-2 (38,7%) dan hasil pemeriksaan serologi grade-2 ditemukan 83,3% positif, sedang grade-3 dan grade-4 100% positif. Hasil pemeriksaan PCR terhadap 15 penderita dengan diagnosis klinis grade-1 menunjukkan 1 penderita (6,7%) positif virus Den-2, 14 penderita (93,3%) negatif. Pada 12 penderita grade-2 menunjukkan 5 penderita (41,7%) positif virus Den-2 dan 7 penderita (58,3%) negatif. Pada 3 penderita grade-3 semuanya negatif (100%). Pada seorang penderita grade-4 juga negatif (100%). Virus yang ditemukan seluruhnya serotipe Den-2.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa: 1) Daerah Surabaya, Malang dan Jember yang secara geografis berbeda ternyata ditemukan semuanya virus Dengue serotipe Den-2 kecuali Surabaya ditemukan satu kasus infeksi ganda dengan serotipe Den-2 dan Den-3. 2) Infeksi ganda oleh Den-2 dan Den-3 menyebabkan DSS (grade-4). 3) Karakterisasi molekuler serotipe Den-2 yang ditemukan di daerah Surabaya,

Malang dan Jember ternyata memiliki homologi lebih dari 80%, sedangkan bila dibandingkan dengan isolat Den-2 dari Jakarta, USA dan Jamaica homologinya kurang dari 73%. 4) Pola serologi menggunakan *Captured* ELISA menunjukkan mayoritas adalah infeksi sekunder bila dibanding infeksi primer yaitu di Surabaya 35,7% . Malang 76,2% dan Jember 54,8%. Artinya di ketiga daerah tersebut menunjukkan endemis penyakit DBD. Didapatkan hasil serologi negatif, namun pada pemeriksaan PCR ditemukan adanya virus Dengue, artinya meskipun hasil serologi negatif tidak menyingkirkan adanya infeksi virus Dengue.

Berdasarkan hasil penelitian ini, maka dapat disampaikan beberapa saran: 1) Untuk menurunkan angka kesakitan dan kematian penyakit DBD perlu kerjasama lintas sektor. 2) Perlu dilakukan penelitian berkesinambungan tentang penyakit DBD ini antara lain untuk menemukan metoda yang efektif untuk pemberantasan vektor, menemukan metoda untuk diagnosis dini yang lebih tepat, menemukan kandidat vaksin Dengue yang lebih sesuai dengan karakteristik virus Dengue di masing masing daerah, mempelajari patogenesis dan imunologi penyakit DBD yang hingga saat ini masih belum jelas benar, termasuk biologi molekuler tentang kemungkinan adanya mutasi genetik virus.

SUMMARY
DISTRIBUTION PATTERN OF DENGUE VIRUS SEROTYPE IN SOME
ENDEMIC AREAS IN EAST JAVA WITH DIFFERENT
GEOGRAPHICAL CONDITION

Soedjoko Hariadhi

Dengue virus infection has become a serious health problem in many tropical and sub-tropical countries, due to the increasing number of victims, the spreading of endemic areas and severe clinical manifestation which can be categorized as emergency case that is Dengue Haemorrhagic Fever (DHF) and Dengue Shock syndrome (DSS). Dengue Haemorrhagic Fever disease in Indonesia has been spread out all over provinces, not only in urban areas, but also in rural areas, having endemic nature and tends to provoke unusual event.

The objective of this research was to study DHF epidemiology seeing from the correlation between geographical condition of an area with Dengue virus serotype and the illness degree, so that it can be used as a strategy for DHF prevention, treatment, and recovery in Indonesia. This research was a laboratory explorative study, exploring the serotype of Dengue virus in DHF patients from several regions with different geographical condition by using reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR) technique. The design used in this research was cross-sectional study. The research covered areas in East Java from Surabaya, Malang and Jember, that are different in their geographical condition (based on the data of Meteorology and Geography Institution Regional III Juanda Surabaya).

This research used blood samples from patients diagnosised with DHF positive in East Java regions consisting of Surabaya, Malang, and Jember, with diagnosis reference based on WHO criteria 1997. Sample collecting was conducted at Regional Hospital of each research region, by taking blood serum of DHF patient, then isolating dengue virus in laboratory, followed by using RT-PCR technique to identify the virus serotype. Afterwards, the DNA sequencing was conducted in order to find the nucleotide form. Based on the data taken from the samples, we obtained 28 samples from Dr. Soetomo

Hospital Surabaya, 21 samples from Dr. Syaiful Anwar Hospital Malang, and 31 samples from Dr. Soebandi Hospital Jember.

Indicator to determine the existence of anti Dengue antibody was the result of IgM and IgG scale with captured ELISA method. Indicator to determine virus serotype was the result of *Semi nested*-Polymerase Chain Reaction (*sn-PCR*) from the patients' serum, and clinical examination result conducted by clinicians at the hospital in each region as indicator of clinical manifestation of DHF in the patients was based on WHO criteria 1997. These results were analyzed by using descriptive analysis, an analysis that was based upon the description of results data.

Based on the examination of IgM and IgG and *sn-PCR* on DHF patients from Surabaya, Malang and Jember, it was shown that secondary infection with Dengue virus serotype Den-2 predominated DHF cases in these regions. Therefore, it could be concluded that endemic status in those three regions were high enough. Meanwhile, we found a DHF patient from Surabaya who has been infected by double viruses, Den-2 and Den-3. Based on sequencing result, it could be seen that isolates from East Java (Surabaya, Malang, and Jember) contained homology of more than 80% compared to isolates from Jakarta, USA and Jamaica which was less than 73%. It means Dengue virus serotype Den-2 in East Java was high in its equality compared to serotype Den-2 Jakarta, USA and Jamaica, which had lower level of equality. To determine to the brotherhood pattern of Dengue virus serotype, it needs further research in the form "phylogenetic analysis". Sequencing from many regions of genome Den was meant to determine genetic variation of Dengue virus and to characterize the sub-type in each serotype. Sub-type characterization is useful in molecular epidemiology that it may be used to monitor the distribution of serotype and sub-type circulating in endemic area.

Clinical diagnosis of DHF patient in this research was conducted by clinician who carried out the treatment in three research areas using the WHO criteria 1997 to reduce overdiagnosis. Illness degree was classified into 4 grade starting from mild to severe, i.e., grade-1, grade-2, grade-3 and grade-4.

Examination result on 28 DHF patients from Surabaya showed clinical diagnosis grade-1 for 14 patients (50%), grade-2 for 11 patients (39.3%), grade-3 for 2 patients (7.1%) and grade-4 for 1 patient (3.6%). Serology examination to 14 patients with clinical diagnosis grade-1 showed positive for 3 patients (21.4%), equivocal 2 patients (14.3%) and negative 9 patients (64.3%). Eleven grade-2 patients showed 7 patients (63.6%) positive and, 4 patients (36.4%) negative. Two grade-3 patients were all positive (100%). One grade-4 patient was positive (100%). PCR examination to 14 patients with clinical diagnosis grade-1 showed 5 patients (35.7%) was positive having Den-2 virus, and 9 patients (64.3%) negative. Among eleven patients with clinical diagnosis grade-2, 2 patients (18.2%) were positively having Den-2 virus and 9 patients (81.8%) negative. Two patients of grade-3 were all (100%) positive having Den-2 virus. One grade-4 patient (100%) was found to have Den-2 and Den-3 virus (double infection). These findings showed patients with clinical diagnosis grade-1 and grade-2. It was noticed that the positive degree for Dengue virus was found to be low, 71% and 82%, while patients with clinical diagnosis grade-3 and grade-4 were found to be all positive, and even 1 grade-4 case was found to have double infection with Den-2 and Den-3 virus, which means that the double infection had worsened DHF to become DSS occurred and in majority Dengue virus serotype Den-2, serotype Den-3 were found in one patient having double infection with Den-2 and Den-3.

Examination results in 21 DHF patients from Malang showed clinical diagnosis grade-1 in 3 patients (14.3%), grade-2 in 15 patients (71.4%), grade-3 in 1 patient (4.8%) and grade-4 in 2 patients (9.5%). Serology examination result in 3 patients with clinical diagnosis grade-1 showed all positive (100%). Among fifteen grade-2 patients, 12 patients (80%) were positive, 2 patients (13.3%) equivocal and 1 patient (6.7%) negative. One patient of Grade-3 showed (100%) positive. Two grade-4 patients showed all (100%) positive. Majority of clinical diagnosis in Malang revealed grade-2 (71.4%) and in fact serological results showed that majority (80%) was positive. It was also happened to patient with clinical diagnosis grade-1, grade-3 and grade-4. In

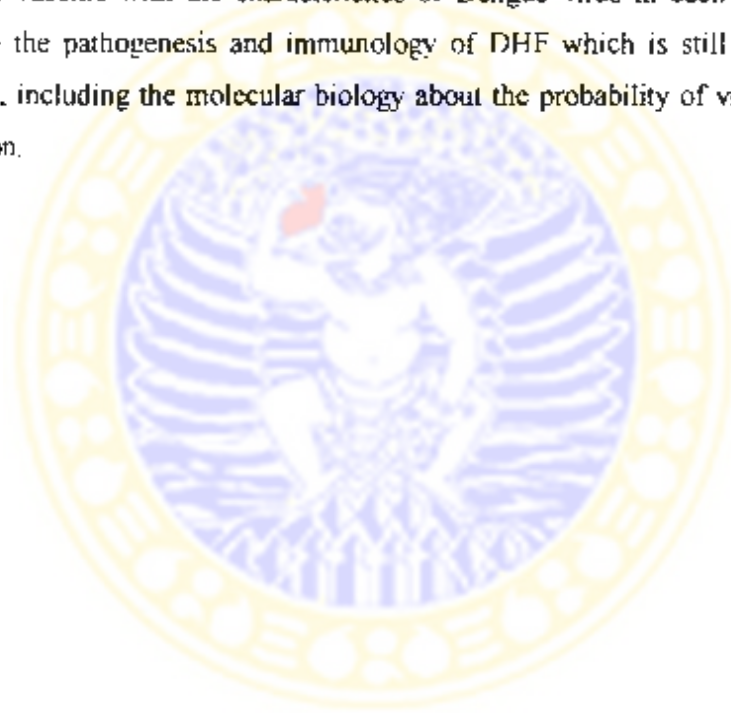
fact, all of them (100%) had positive serology. PCR examination on 3 patients with clinical diagnosis grade-1 showed all of them (100%) were negative. In 15 patients of grade-2, 7 patients (46.7%) had positive virus den-2 and 8 patients (53.3%) negative. One patient of grade-3 was negative (100%). Two patients of grade-4 showed that 1 patient (50%) positively having virus Den-2 and 1 patient (50%) negative.

Examination results on 31 DHF patients in Jember showed clinical diagnosis grade-1 was in 15 patients (48.4%), grade-2 in 12 patients (38.7%), grade-3 in 3 patients (9.7%) and grade-4 in 1 patient (3.2%). Serological examination in 15 patients with clinical diagnosis grade-1 showed 5 patients (33.3%) positive, 1 patient (6.7%) equivocal and 9 patients (60%) negative. In 12 patients with clinical diagnosis grade-2, 10 patients (83.3%) positive and 2 patients (16.8%) negative. Three patients of grade-3 were all (100%) positive, and 1 patient of grade-4 was also positive (100%). These findings showed that majority of the patients' clinical diagnosis were grade-1 (48.4%) and grade-2 (38.7%) and the result of grade to serological examination was found to be 83.3% positive, while grade-3 and grade-4 were all positive. PCR examination result in 15 patients with clinical diagnosis grade-1 showed 1 patient (6.7%) had positive Den-2 virus, and 14 patients (93.3%) negative. In 12 grade-2 patients 5 patients (41.7%) had positive Den-2 virus and 7 patients (58.3%) negative. In 3 grade-3 patients all were negative (100%). In one grade-4 patient it was also negative (100%). The virus found were all Den-2 serotype.

This research result showed that : 1) Surabaya, Malang and Jember, which are different in geographical condition had Dengue virus of serotype Den-2, except for Surabaya where there was one double infection case with serotype Den-2 and Den-3. 2) The existence of double infection of Den-2 and Den-3 caused DSS (grade-4). 3) Molecular characterization of Den-2 serotype found in Surabaya, Malang and Jember in fact had homology more than 80%, compared to Den-2 isolate from Jakarta, USA and Jamaica which had homology of less than 73%. 4) Serological pattern using *Captured ELISA* showed that the majority was secondary infection as compared to primary infection, which was

in Surabaya 35.7%, Malang 76.2% and Jember 54.8%. It means the three areas showed an endemic of DHF disease. It was found a negative serological result, yet PCR examination revealed the existence of Dengue virus. This indicated that even if the serological result was negative, it did not get rid off Dengue virus infection.

Based on the research result, we would like to convey several suggestions: 1) to reduce the incidence and morbidity rates of DHF, we need intersectoral coordination 2) It is necessary to conduct further research on this DHF disease with the purpose to find effective method on vector control, to find method for early appropriate diagnosis, to find a more suitable candidate Dengue vaccine with the characteristics of Dengue virus in each region, to explore the pathogenesis and immunology of DHF which is still not clearly defined, including the molecular biology about the probability of virus genetic mutation.



DAFTAR ISI

	Halaman
Sampul Depan	
Sampul Dalam	i
Prasyarat Gelar	ii
Persetujuan	iii
Ucapan Terima Kasih	iv
Ringkasan	ix
Summary	xiv
Abstract	xix
DAFTAR ISI	xx
DAFTAR TABEL	xxv
DAFTAR GAMBAR	xxvi
DAFTAR LAMPIRAN	xxvii
DAFTAR SINGKATAN	xxviii
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.3.1 Tujuan Umum	4

1.3.2 Tujuan Khusus	5
1.4 Manfaat Penelitian	5
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Virus Demam Berdarah Dengue	6
2.1.1 Vektor	7
2.1.2 Hubungan antara nyamuk Aedes Aegypti dan virus dengue.....	8
2.2 Manifestasi Klinis Penyakit Demam Berdarah Dengue	9
2.2.1 Demam Dengue (Dengue Fever)	9
2.2.2 Demam Berdarah Dengue (DBD/DHF)	11
2.2.3 Dengue Shock Syndrome (DSS)	12
2.2.4 Kriteria Diagnosis DBD Menurut WHO 1997	12
a. Kriteria Klinis	12
b. Kriteria Laboratoris	13
c. Derajat Penyakit	13
2.3 Patogenesis Demam Berdarah Dengue.....	14
2.4 Pemeriksaan Laboratoris Demam Berdarah Dengue	20
2.4.1 Isolasi Virus	20
2.4.2 Uji Serologis	21
2.4.3 Deteksi RNA Virus	23
2.5 Epidemiologi Demam Berdarah Dengue	23
2.5.1 Situasi Dunia	23

2.5.2	Situasi di Asia Tenggara	24
2.5.3	Situasi di Indonesia	26
BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL PENELITIAN		28
3.1	Kerangka Konseptual	28
3.2	Penjelasan Kerangka Konseptual	29
BAB 4 METODE PENELITIAN		30
4.1	Jenis Penelitian	30
4.2	Rancangan Penelitian	30
4.3	Kerangka Operasional Penelitian	32
4.4	Populasi dan Sampel Penelitian	33
4.4.1	Kriteria Penderita	33
4.4.2	Kriteria Daerah Penelitian	33
4.4.3	Pengambilan Sampel Penderita	37
4.5	Pemriksaan Laboratorium	37
4.6	Metode Analisis Data	38
4.7	Persyaratan Etik	40
4.8	Waktu Penelitian	41
BAB 5 HASIL DAN ANALISIS HASIL PENELITIAN		42
5.1	Hasil Penelitian	42
5.1.1	Distribusi Gradasi Penyakit Pada Penderita DBD di Wilayah Surabaya, Malang, dan Jember Tahun 2004	42

5.1.2 Hasil Pemeriksaan IgM, IgG Pada Penderita DBD di Wilayah Surabaya, Malang, dan Jember Tahun 2004	43
5.1.3 Hasil Pemeriksaan Serologi Pada Penderita DBD di Wilayah Surabaya, Malang, dan Jember Tahun 2004	47
5.1.4 Hasil Pemeriksaan PCR Pada Penderita DBD di Wilayah Surabaya, Malang, dan Jember Tahun 2004	49
5.1.5 Hasil Pemeriksaan Serotipe Virus Dengue Pada Penderita DBD di Wilayah Surabaya, Malang, dan Jember Tahun 2004	50
5.2 Analisis Perbedaan Hasil Pemeriksaan Klinis Antar Hasil Pemeriksaan IgM, IgG, Serologi dan PCR	53
5.3 Analisis Perbedaan Hasil Pemeriksaan IgM, IgG, Serologi Antar Hasil Pemeriksaan PCR	59
5.4 Analisis Keselarasan Hasil Pemeriksaan Klinis, IgM, IgG dan PCR	64
5.4 Analisis Homologi Nukleotida	65
BAB 6 PEMBAHASAN	67
6.1 Distribusi Gradasi Penyakit DBD	68
6.2 Pemeriksaan Serologi	71
6.3 Hasil Pemeriksaan PCR	74
6.4 Hubungan Diagnosis Klinis Dengan Hasil Pemeriksaan Serologis dan PCR	76

6.5 Analisis Homologi Nukleotida	77
6.6 Upaya Menurunkan Angka Kesakitan dan Angka Kematian Penyakit DBD	77
BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN	80
7.1 Kesimpulan	80
7.2 Saran	81
Daftar Pustaka	82
Lampiran	89



DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 4.1 Parameter Ketinggian Rata-rata	34
Tabel 4.2 Parameter Rata-rata Curah Hujan	34
Tabel 4.3 Parameter Rata-rata Suhu Udara	35
Tabel 4.4 Parameter Kecepatan Rata-rata dan Arah Angin	35
Tabel 4.5 Parameter Kelembahn Udara Rata-rata	36
Tabel 5.1 Distribusi Penderita DBD di Wilayah Surabaya, Malang & Jember ..	43
Tabel 5.2 Hasil Pemeriksaan IgM Penderita DBD di Wilayah Surabaya, Malang & Jember	44
Tabel 5.3 Hasil Pemeriksaan IgG Penderita DBD di Wilayah Surabaya, Malang & Jember	46
Tabel 5.4 Hasil Pemeriksaan Serologi Penderita DBD di Wilayah Surabaya, Malang & Jember	48
Tabel 5.5 Hasil Pemeriksaan PCR Penderita DBD di Wilayah Surabaya, Malang & Jember	49
Tabel 5.6 Distribusi Serotipe Virus Dengue Pada Penderita DBD di Wilayah Surabaya, Malang & Jember	52
Tabel 5.7 Hubungan Gradasi Penyakit DBD dengan Hasil Pemeriksaan IgM ...	54
Tabel 5.8 Hubungan Gradasi Penyakit DBD dengan Hasil Pemeriksaan IgG ...	55
Tabel 5.9 Hubungan Gradasi Penyakit DBD dengan Hasil Pemeriksaan Serologi	56
Tabel 5.10 Hubungan Gradasi Penyakit DBD dengan Hasil Pemeriksaan PCR ...	58
Tabel 5.11 Perbandingan Hasil Pemeriksaan IgM dengan PCR	59
Tabel 5.12 Perbandingan Hasil Pemeriksaan IgG dengan PCR	61
Tabel 5.13 Perbandingan Hasil Pemeriksaan Serologi dengan PCR	63
Tabel 5.14 Analisis Keselarasan Hasil Pemeriksaan Klinis, IgM, IgG & PCR	65
Tabel 5.15 Analisis Homologi Nukleotida	66

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 3.1 Kerangka Konseptual Penelitian	29
Gambar 4.1 Rancangan Penelitian	31
Gambar 4.2 Kerangka Operasional	32
Gambar 5.1 Hasil Pemeriksaan sn-PCR Pada 3 sampel Penderita dari Surabaya (S1) dan Jember (J1,J2)	51
Gambar 6.1 Skema Perjalanan Penyakit Dengue	69
Gambar 6.2 Respon Imun Infeksi Virus Dengue	73



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Ethical Clearance	89
Lampiran 2. Persetujuan Tindakan Medis.....	90
Lampiran 3. Penolakan Tindakan Medis	91
Lampiran 4. Prosedur Tetap Pengambilan Darah	92
Lampiran 5. Catatan Medis Penderita DBD	97
Lampiran 6. Pemeriksaan ELISA untuk Dengue	98
Lampiran 7. Analisis Molekuler Virus Dengue	105
Lampiran 8. Hasil Pemeriksaan Serologi IgM & IgG Anti Dengue	109
Lampiran 9. Analisis Hubungan Diagnosis Klinis dengan Hasil Pemeriksaan Serologi dan PCR	112
Lampiran 10. Analisis Hubungan Serologi dengan PCR	128
Lampiran 11. Distribusi Frekuensi Hasil Pemeriksaan Serologi dan PCR	143
Lampiran 12. Analisis Homologi Nukleotida	146
Lampiran 13 Hasil Sekuensing Nukleotida	147
Lampiran 14 Data Kondisi Geografis Daerah Penelitian	166
Lampiran 15 Hasil Analisis Perbandingan Klimatologi Antar Wilayah Penelitian	184
Lampiran 16 Hasil Sekuensing DNA	195
Lampiran 17 Hasil Sekuensing DNA	196

DAFTAR SINGKATAN



Ab	: Antibodi
Ae	: Aedes
Ag	: Antigen
ADE	: Antibody Dependent Enhancement
CFR	: Case Fatality Rate
DBD	: Demam Berdarah Dengue
DD	: Demam Dengue
Den	: Dengue
DF	: Dengue Fever
DHF	: Dengue Haemorrhagic Fever
DNA	: Deoxy Ribo Nucleic Acid
DSS	: Dengue Shock Syndrome
ELISA	: Enzyme Linked Immunosorbent Assay
HI	: Haemagglutination Inhibition
KLB	: Kejadian Luar Biasa
LIF	: Leukemia Inhibiting Factor
PCR	: Polymerase Chain Reaction
PSN	: Peniadaan Sarang Nyamuk
RNA	: Ribo Nucleic Acid
RT-PCR	: Reverse Transcriptase - Polymerase Chain Reaction
Sn-PCR	: Semi nested - Polymerase Chain Reaction
SPSS	: Statistical Product and Service Solution
RSUD	: Rumah Sakit Umum Daerah
TDC	: Tropical Disease Center
TNF	: Tumor Necrotic Factor
WHO	: World Health Organization

Bab 1

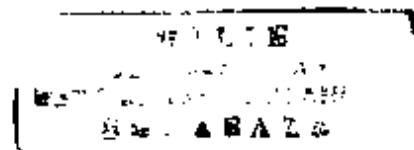
PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Infeksi virus Dengue telah menjadi masalah kesehatan yang serius pada banyak negara tropis dan subtropis oleh karena peningkatan jumlah penderita, menyebar luasnya daerah yang terkena wabah dan manifestasi klinis berat yang merupakan keadaan gawat darurat yaitu *Dengue Hemorrhagic Fever* (DHF) dan *Dengue Shock Syndrome* (DSS) (Igarashi A,1999;Dachlan YP,1999).

Demam Berdarah Dengue (DBD) di Indonesia saat ini merupakan masalah kesehatan nasional, hal ini disebabkan karena penyakit ini telah menyebar keseluruh propinsi di Indonesia tidak saja di daerah urban tetapi sudah menjalar ke daerah rural bersifat endemis dan cenderung mengalami kejadian luar biasa (KLB) (Sungkar S,2005).

Seluruh wilayah di Propinsi Jawa Timur mempunyai resiko untuk terjangkit penyakit Demam Berdarah Dengue oleh karena virus penyebab dan nyamuk sebagai vektor perantaranya yaitu *Aedes aegypti* tersebar luas baik di dalam rumah-rumah maupun di tempat umum, kecuali daerah dengan ketinggian lebih dari 1000 meter di atas permukaan laut, serta meningkatnya mobilitas dan kepadatan penduduk. Penyakit Demam Berdarah Dengue di Jawa Timur tercatat pertama kali terjadi di Surabaya tahun 1968 dengan penderita 58 dan 24 orang meninggal dunia (CFR sebesar 41,3%). Pada tahun 1993 tercatat jumlah kasus 4.376 orang (insidens 12,82 per 100.000 penduduk) dengan jumlah kematian sebanyak 74 orang (CFR sebesar 1,69%). Pada tahun 1997 telah meningkat menjadi 7.622 orang (insidens 12,19 per



100.000 penduduk) dengan jumlah kematian 138 orang atau CFR sebesar 1,81% (Kuntarjanto, 1998).

Sejak Januari sampai dengan 5 Maret 2004 total kasus DBD diseluruh Propinsi di Indonesia sudah mencapai 26.015, dengan jumlah kematian sebanyak 389 orang (CFR sebesar 1,53%). Kasus tertinggi terdapat di Propinsi DKI Jakarta sebesar 11.534 orang, sedangkan CFR tertinggi terdapat di Propinsi Nusa Tenggara Timur sebesar 3,96% (Badan Litbangkes Depkes RI, 2004).

Manifestasi klinis infeksi virus Dengue termasuk di dalamnya Demam Berdarah Dengue sangat bervariasi. Spektrum variasinya begitu luas mulai dari asimtomatik, demam ringan yang tidak spesifik, Demam Dengue, Demam Berdarah Dengue, hingga yang paling berat yaitu *Dengue Shock Syndrome* (Tumbelaka AR,1999). Dalam praktek sehari-hari, pada saat pertama kali penderita masuk rumah sakit tidaklah mudah untuk memprediksikan apakah penderita Demam Berdarah Dengue tersebut akan bermanifestasi menjadi ringan atau berat. Infeksi sekunder dengan strain virus Dengue yang berbeda dari sebelumnya merupakan faktor resiko terjadinya manifestasi Demam Berdarah Dengue yang berat atau *Dengue Shock Syndrome*, (Soegijanto S,2000;Sutaryo,2000). Namun sampai saat ini mekanisme respons imun pada infeksi oleh virus Dengue masih belum jelas (Sazaly A,1999).

Banyak faktor yang mempengaruhi kejadian penyakit Demam Berdarah Dengue antara lain faktor *host*, lingkungan (*environment*) dan faktor virusnya sendiri.

Faktor *host* yaitu kerentanan (*susceptability*), dan respon imun. Faktor lingkungan (*environment*) yaitu kondisi geografi (ketinggian dari permukaan laut, curah hujan, angin, kelembaban, musim), kondisi demografi (kepadatan, mobilitas, perilaku, adat

istiadat, sosial ekonomi penduduk), jenis dan kepadatan nyamuk sebagai vektor penular penyakit. Faktor *agent* yaitu sifat virus Dengue yang hingga saat ini telah diketahui ada 4 jenis serotipe virus Dengue yaitu Dengue 1, 2, 3 dan 4. Dari berbagai penelitian yang telah dilakukan di India telah terjadi pergeseran genotipe virus Dengue strain Den-2. Demikian pula kejadian di 4 negara di Amerika Latin dan Srilangka menunjukkan bahwa timbul genotipe baru dari Den-2 yang berhubungan dengan terjadinya DHF/DSS (Singh UB,2001). Di Indonesia khususnya Jawa Timur belum pernah dilakukan penelitian tentang pengaruh geografi terhadap karakteristik virus Dengue yang mengakibatkan perubahan pola klinis penyakit Demam Berdarah Dengue.

Mengingat manifestasi klinis infeksi virus Dengue sangat bervariasi, mulai dari asimtomatik, demam ringan yang tidak spesifik, demam Dengue, Demam Berdarah Dengue, hingga yang paling berat yaitu *Dengue Shock Syndrome*, maka penegakan diagnosis penyakit ini sangat penting. Untuk menegakkan diagnosis infeksi virus Dengue diperlukan dua kriteria yaitu kriteria klinis dan kriteria laboratoris (WHO, 1997) Pengembangan teknologi laboratorium untuk mendiagnosis infeksi virus Dengue terus berlanjut hingga sensitivitas dan spesifitasnya lebih bagus dengan waktu yang lebih cepat pula. Ada 4 jenis pemeriksaan laboratoris yang digunakan yaitu : uji serologi, isolasi virus, deteksi antigen dan deteksi RNA/DNA menggunakan teknik : *Polymerase Chain Reaction* (Marijam Purwanto,1999).

Dengan mencermati interaksi antara *Host-Agent-Environment* dan perkembangan teknologi laboratorium maka dirasa perlu melakukan penelitian epidemiologi infeksi virus Dengue yang saat ini masih menjadi problema kesehatan masyarakat yang

serius pada sisi hubungan antara kondisi geografi suatu daerah dengan tipe virus Dengue yaitu adanya perbedaan serotipe dan genotipenya menggunakan teknik *RT-PCR*. selanjutnya apakah keadaan tersebut mempengaruhi tingkat keparahan maupun timbulnya epidemi penyakit Demam Berdarah Dengue pada daerah tertentu.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasar latar belakang di atas, maka rumusan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Apakah ada perbedaan serotipe virus Dengue pada berbagai daerah di Jawa Timur yang berbeda kondisi geografisnya ?
2. Apakah serotipe virus Dengue di suatu daerah mempunyai korelasi dengan derajat keparahan penyakit Demam Berdarah Dengue ?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Secara umum penelitian ini bertujuan untuk mempelajari epidemiologi penyakit Demam Berdarah Dengue dari sisi hubungan antara kondisi geografi suatu daerah dengan serotipe virus Dengue dan tingkat keparahan penyakit, sehingga dapat digunakan sebagai strategi dalam penata laksanaan penyakit DBD.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Menemukan hubungan kondisi geografis daerah dengan serotipe virus Dengue
2. Menemukan hubungan antara serotipe virus Dengue dengan gejala klinis/tingkat keparahan penyakit Demam Berdarah Dengue

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat teoritis

Sebagai dasar pengembangan teori tentang penyakit Demam Berdarah Dengue dari bidang epidemiologi molekuler terutama karakteristik molekuler virus Dengue pada daerah yang berbeda kondisi geografinya.

1.4.2 Manfaat praktis

1. Untuk memberikan gambaran peta pola distribusi serotipe virus Dengue berdasar geografi daerah yang berbeda di Jawa Timur
2. Untuk penyempurnaan penatalaksanaan penyakit Demam Berdarah Dengue bila telah diketahui serotipe dominan yang berkaitan dengan KLB maupun tingkat keparahan penyakit DBD

Bab 2**TINJAUAN PUSTAKA****2.1 Virus Demam Berdarah Dengue**

Virus Dengue merupakan virus RNA untai tunggal, genus flavivirus, terdiri dari 4 serotipe yaitu Den-1, Den-2, Den-3 dan Den-4. Struktur antigen dari keempat serotipe ini sangat mirip satu dengan yang lain, namun antibodi terhadap masing-masing serotipe tidak dapat saling memberikan perlindungan silang (Aryati, 2000).

Struktur virus Dengue sferikal dengan diameter kurang lebih 60 nm, nukleokapsidnya helikal. Komposisi virionnya terdiri dari 6% RNA, 66% Protein, 9% Karbohidrat dan 17% lipid. Secara garis besar virus terdiri atas *enveloped virion* dan nukleokapsid. *Enveloped virion* terdiri atas protein struktural E (*envelope*) dan M (*membrane*). Nukleokapsid terdiri atas protein kapsid dan genome. Virus ini dapat memproduksi poliprotein yang panjang, produksinya berupa 10 protein virus. Tiga protein merupakan protein struktural yaitu : protein C (*core*), protein M (*membrane*) yang diproduksi dalam bentuk protein prekursor (pM) dan protein E (*envelope*). Tujuh protein non struktural (NS) adalah NS1, NS2a, NS2b, NS3, NS4a, NS4b dan NS5 (Sutaryo;2004). Partikel virus yang imature mengandung pM dan sedikit infeksius daripada virion. Virus Dengue mudah dinaktifkan dengan larutan organik dan detergent. Dengan demikian sisa sampel sebaiknya dibuang pada tempat yang mengandung bahan tersebut di atas (Rantam FA. 1998).

2.1.1 Vektor

Dilaporkan ada tiga jenis nyamuk vektor DBD di Indonesia yaitu *Aedes aegypti*, *Aedes albopictus* dan *Aedes scutellaris*, tetapi sampai saat ini *Aedes aegypti* yang dianggap sebagai vektor utama (Suroso, 1990; Soegiyanto S, 2004; Tandon N, 2000). Nyamuk *Aedes aegypti* disebut *black-white mosquito*, karena tubuhnya ditandai dengan pita atau garis-garis putih keperakan diatas dasar hitam. Masa pertumbuhan dan perkembangan nyamuk *Aedes aegypti* dapat dibagi menjadi 4 tahap, yaitu telur, larva, pupa dan dewasa, sehingga termasuk meta morfosis sempurna (Salamun, 1998).

Nyamuk *Aedes aegypti* bersifat urban, hidup di perkotaan dan lebih sering hidup didalam dan disekitar rumah (domestik) dan sangat erat hubungannya dengan manusia (Tagaki M, 1999). Boleh dikatakan bahwa nyamuk betina sangat menyukai darah manusia (*antropophilic*) daripada darah binatang (Suharti C,2001). Kebiasaan menghisap darah terutama pada pagi hari jam 08.00 - 12.00 dan sore hari jam 15.00 - 17.00. Nyamuk betina mempunyai kebiasaan menghisap darah berpindah-pindah berkali-kali dari satu individu ke individu yang lain (*multiple biter*). Keadaan inilah yang menyebabkan penularan penyakit DBD menjadi lebih mudah terjadi. Nyamuk betina dapat terbang sejauh 2 kilometer, tetapi kemampuan normalnya adalah kira-kira 40 meter (Sumarmo, 1988).

2.1.2 Hubungan antara nyamuk *Aedes aegypti* dan virus Dengue

Nyamuk *Aedes aegypti* dapat mengandung virus Dengue bila menghisap darah seorang penderita DBD. Virus ini kemudian masuk kedalam intestinum selanjutnya masuk kedalam *hemocoelum* berreplikasi dan akhirnya masuk ke kelenjar liur. Dari sini sudah siap untuk ditularkan lagi. Fase ini disebut *extrinsic incubation period* yang memerlukan waktu 7 - 14 hari. Nyamuk *Aedes aegypti* ini akan infeksius seumur hidupnya.

Pengaruh lingkungan yaitu suhu udara dan kelembaban nisbi udara juga berpengaruh bagi viabilitas nyamuk *Aedes aegypti* maupun virus Dengue. Suhu yang relatif rendah dan relatif tinggi, serta kelembaban nisbi udara yang rendah dapat mengurangi viabilitas virus Dengue yang hidup didalam tubuh nyamuk maupun juga viabilitas nyamuknya sendiri. Sehingga pada waktu musim kemarau penularan DBD sangat rendah dibandingkan dengan pada waktu musim hujan.

Beberapa peneliti telah melaporkan adanya *transovarial transmission* virus Dengue yang ada didalam tubuh nyamuk betina *Aedes aegypti* kedalam telur-telurnya (Rohani, dkk, 1997 ; Lee *et al*, 1997 ; Aitken *et al*, 1979). Dilaporkan bahwa peneliti di Birma tahun 1983 telah berhasil menemukan virus Dengue tipe 2 yang berasal dari larva dan nyamuk dewasa *Aedes aegypti* yang ditangkap di lapangan.

Dengan telah dibuktikan adanya *transovarial transmission* virus Dengue dalam tubuh nyamuk *Aedes aegypti*, maka diduga kuat bahwa nyamuk *Aedes aegypti* di alam memegang peran penting yang bermakna dalam mempertahankan virus Dengue, khususnya pada keadaan dimana tidak ada hospes yang suseptibel atau kondisi iklim yang tidak menguntungkan bagi nyamuk (Subagyo, 2000; Rosen L, 1987).

2.2 Manifestasi Klinis Penyakit Demam Berdarah Dengue

Infeksi virus Dengue pada manusia mengakibatkan suatu spektrum manifestasi klinis yang bervariasi tergantung dari faktor yang mempengaruhi daya tahan tubuh dengan faktor-faktor yang mempengaruhi virulensi virus. Dengan demikian infeksi virus Dengue dapat menyebabkan keadaan yang bermacam-macam mulai dari tanpa gejala (asimtomatik), demam ringan yang tidak spesifik (*undifferentiated febrile illness*), demam Dengue (*Dengue fever*), atau bentuk yang lebih berat yaitu Demam Berdarah Dengue (DBD/DHF) dan *Dengue Shock Syndrome* (DSS) (Hadinegoro SR,1999). Gambaran manifestasi klinis yang bervariasi ini dapat disamakan dengan sebuah gunung es. DBD/DHF dan DSS sebagai kasus-kasus yang dirawat di rumah sakit merupakan puncak gunung es yang kelihatan diatas permukaan laut, sedangkan kasus-kasus Dengue ringan merupakan dasar gunung es yang tidak tampak di permukaan air (Soegijanto S,1999).

2.2.1 Demam Dengue (Dengue Fever)

Masa tunas berkisar antara 3 sampai 15 hari pada umumnya 5 sampai 8 hari. Permulaan penyakit biasanya mendadak. Gejala prodroma meliputi nyeri kepala, nyeri berbagai bagian tubuh, anoreksi, menggigil dan malaise (Parwati SB, 2002). Pada umumnya ditemukan sindroma trias, yaitu demam tinggi, nyeri pada anggota badan dan timbulnya ruam. Ruam biasanya timbul 6 sampai 12 jam sebelum naiknya suhu pertama kali, yaitu pada hari ke - 3 sampai hari ke - 5 dan biasanya berlangsung selama 3 sampai 4 hari. Ruam bersifat makulo papular yang menghilang pada

tekanan. Ruam mula-mula dilihat di dada, tubuh serta abdomen dan menyebar ke anggota gerak dan muka. Pada beberapa penderita dapat dilihat bentuk kurva suhu yang menyerupai pelana kuda (*saddle back fever*) atau *biphasik* (Hadinegoro SR, 1999). Anoreksi dan obstipasi sering dilaporkan, disamping itu perasaan tidak nyaman di daerah epigastrium disertai nyeri kolik. Gejala klinis lain yang sering terdapat ialah fotofobi, keringat yang bercucuran, suara serak, batuk, epistaksis dan disuri. Demam menghilang secara lisis, disertai keluarnya banyak keringat. Lama demam 3 - 5 hari. Kelenjar limfe servikal dilaporkan membesar pada 77% penderita ; beberapa sarjana menyebutnya sebagai *Castelani's sign*, sangat patognomonis dan merupakan patokan yang berguna untuk membuat diagnosis banding. Manifestasi perdarahan tidak sering dijumpai.

Kelainan darah tepi pada penderita Demam Dengue ialah leukopeni selama periode pra-demam dan demam, neutrofilia relatif dan limfopeni pada masa penyakit menular yang disusul oleh neutropeni relatif dan limfositosis pada periode memuncaknya penyakit dan pada masa konvalesen. Sel plasma meningkat pada periode memuncaknya penyakit dengan terdapatnya trombositopeni. Darah tepi menjadi normal kembali dalam waktu satu minggu.

Komplikasi demam Dengue walaupun jarang dilaporkan ialah orkhitis atau ovaritis, keratitis dan retinitis. Berbagai kelainan neurologis dilaporkan, diantaranya menurunnya kesadaran, paralisis sensorium yang bersifat sementara, meningismus dan ensefalopati. (Sumarmo, 1988).

2.2.2 Demam Berdarah Dengue (DBD/DHF)

Bentuk klasik dari DBD ditandai dengan demam tinggi, mendadak 2 - 7 hari, disertai dengan muka kemerahan. Keluhan seperti anoreksia, sakit kepala, nyeri otot, tulang, sendi, mual dan muntah sering ditemukan. Beberapa penderita mengeluh nyeri menelan, namun jarang ditemukan batuk pilek. Nyeri perut epigastrium dan dibawah tulang iga kanan sering ditemukan. Selain tanda dan gejala tersebut, demam tinggi mendadak dapat menimbulkan kejang terutama pada bayi.

Bentuk perdarahan yang paling sering adalah uji *tourniquet (Rumple Leeds)* positif, kulit mudah memar dan perdarahan pada bekas suntikan intravena atau pada bekas pengambilan darah. Pada kebanyakan kasus petekia halus ditemukan tersebar didaerah ekstremitas, aksila, wajah dan palatum mole, yang biasanya ditemukan pada fase awal dari demam. Epistaksis dan perdarahan gusi lebih jarang ditemukan, perdarahan saluran cerna ringan dapat ditemukan pada fase demam. Hati biasanya membesar dengan variasi dari *just palpable* sampai 2 - 4 cm dibawah *arcus costae* kanan. Sekalipun pembesaran hati tidak berhubungan dengan berat ringannya penyakit, namun pembesaran hati lebih sering ditemukan pada penderita syok (Hadinegoro SR, 2000).

Masa kritis dari penyakit terjadi pada hari ke 3, 4, 5 demam, pada saat ini terjadi penurunan suhu yang tiba-tiba sering disertai dengan gangguan sirkulasi yang ditandai dengan nadi cepat, lemah dan tak teraba atau tensi menurun sampai nol. Pada kasus dengan gangguan sirkulasi ringan perubahan yang terjadi minimal dan sementara pada kasus berat penderita dapat mengalami syok.

Demam Berdarah Dengue dibedakan dari Demam Dengue dengan ditemukan tanda adanya kebocoran plasma yang bermanifestasi sebagai peningkatan nilai hematokrit, efusi pada rongga pleura atau rongga peritoncum (Soegijanto S, 2000).

2.2.3 Dengue Shock Syndrome (DSS)

Syok biasanya terjadi pada saat atau segera setelah suhu turun, antara hari ke 3 sampai hari sakit ke 7. Penderita mula-mula terlihat letargi atau gelisah, kemudian jatuh kedalam syok yang ditandai dengan kulit dingin, lembab, sianosis sekitar mulut, nadi cepat lemah, tekanan nadi < 20 mmHg dan hipotensi. Kebanyakan penderita masih tetap sadar sekalipun sudah mendekati stadium akhir. Dengan diagnosis dini dan penggantian cairan adekuat, syok biasanya teratasi dengan segera, namun bila terlambat diketahui atau pengobatan tidak adekuat, syok dapat menjadi syok berat dengan berbagai penyulitnya seperti asidosis metabolik, perdarahan hebat saluran pencernaan, sehingga memperburuk prognosis.

2.2.4 Kriteria Diagnosis DBD Menurut WHO 1997

Diagnosis DBD ditegakkan berdasarkan kriteria diagnosis menurut WHO tahun 1997, terdiri dari kriteria klinis dan Laboratoris. Penggunaan kriteria ini dimaksudkan untuk mengurangi diagnosis yang berlebihan (*overdiagnosis*).

a. Kriteria Klinis :

- 1) Demam tinggi mendadak, tanpa sebab jelas, berlangsung terus menerus selama 2 - 7 hari.
- 2) Terdapat manifestasi perdarahan yang ditandai dengan :



- Uji torniquet positif
- Petekia, ekimosis, purpura.
- Perdarahan mucosa, epistaksis, perdarahan gusi.
- Hematemesis dan atau melena.
- Hematuri

3) Pembesaran hati (hepatomegali)

4) Manifestasi syok/renjatan berupa : nadi cepat dan lemah dengan penyempitan tekanan nadi (< 20 mmHg), hipotensi, kaki dan tangan dingin, kulit lembut dan penderita tampak gelisah.

b. Kriteria Laboratoris :

- 1) Trombositopeni (trombosit $< 100.000/ml$).
- 2) Hemokonsentrasi (kenaikan Ht $> 20\%$)

Diagnosis klinis DBD dapat ditegakkan bila ada (Partana, 1981 ; WHO, 1986) :

- a) Demam
- b) Manifestasi perdarahan spontan
- c) Trombosit $< 100.000/ml$
- d) Peningkatan hematokrit $> 20\%$

c. Derajat Penyakit (WHO, 1986 ; WHO, 1997)

Manifestasi klinis DBD sangat bervariasi, dari yang paling ringan sampai berat, sehingga untuk mempermudah diagnosis, WHO membagi menjadi 4 derajat, yakni :

- Derajat I** :demam disertai gejala-gejala umum yang tidak khas dan manifestasi perdarahan spontan satu-satunya adalah uji torniquet positif.
- Derajat II** :gejala-gejala derajat I, disertai gejala-gejala perdarahan kulit spontan atau manifestasi perdarahan yang lebih berat.
- Derajat III** :didapatkan kegagalan sirkulasi, yaitu nadi cepat dan lemah, tekanan nadi menyempit (< 20 mmHg), hipotensi, sianosis disekitar mulut, kulit dingin dan lembab, gelisah.
- Derajat IV** :Syok berat (*profound shock*), nadi tidak dapat diraba dan tekanan darah tidak terukur.

Derajat III dan IV dapat dimasukkan dalam DSS. (Soewandojo, E, 1998 ; Soegijanto, S, 2000).

2.3 Patogenesis Demam Berdarah Dengue

Sejak awal ditemukan penderita DBD, patogenesis yang dikemukakan oleh para sarjana masih kontroversial dan masing-masing hanya dapat menjelaskan satu atau beberapa manifestasi kliniknya dan belum dapat menjelaskan secara utuh keseluruhan fenomena (Soegijanto S, 1998; Lei HY, 2001). Sazaly Abu Bakar dan Norazizah Shafee (1999) dari Department of Medical Microbiology, Faculty of Medicine University Malaya - Malaysia menyatakan : "*The pathogenic mechanism of the infection, however, is still a mystery*". Mereka mengemukakan teori apoptosis. Prida Malasit (1999) dari Medical Molecular Biology Unit, Office for Research and Development, Siriraj Hospital, Faculty of Medicine, Mahidol University, Bangkok, Thailand menyatakan : "*Pathogenesis mechanisms responsible for the leakage and*

hemorrhagic diathesis were not known". Dia mengajukan teori sistem komplemen. Hingga saat ini patogenesis DBD menganut beberapa hipotesis seperti berikut ini.

- 1) Sebagian besar sarjana masih menganut *the secondary heterologous infection hypothesis*. Teori infeksi sekunder ini dikembangkan oleh Halstead (1969) yang menyatakan bahwa penyakit DBD akan muncul apabila seseorang telah terinfeksi virus Dengue untuk pertama kali kemudian mendapatkan infeksi kedua dengan virus Dengue tipe lain dalam waktu 6 bulan - 5 tahun. Berdasarkan teori ini Suvatte (1973) menjelaskan kejadian renjatan/syok pada penderita DBD. Ditemukan pada anak-anak di Bangkok yang mengalami infeksi primer DBD derajat parah sampai shock yang berkaitan dengan status imunitas ibu, yaitu pada saat hamil ibu tersebut telah memiliki imunitas terhadap Dengue (Marchette NJ; Halstead SB, 1979).
- 2) Hasil penelitian banyak sarjana menemukan penderita DBD dengan renjatan, hasil pemeriksaan serologi menunjukkan bahwa penderita terkena infeksi virus Dengue pertama kali pada usia diatas satu tahun, yang diperkuat dengan temuan bahwa sensitisasi oleh infeksi sebelumnya bukan merupakan faktor utama yang dapat menjelaskan patogenesis penyakit ini. Untuk menjelaskan kegawatan ini tercetus hipotesis virulensi virus, karena keempat serotipe renjatan Dengue dapat terjadi akibat infeksi pertama kali oleh serotipe virus Dengue yang paling virulen (Kliks S, 1990).
- 3) Selanjutnya banyak sarjana melakukan penelitian biomolekuler untuk dapat menjelaskan secara tuntas patogenesis penyakit DBD ini, dan hasil-hasil yang telah dicapai adalah ditemukannya hipotesis *Antibody dependent enhancement*

(ADE). Hipotesis ini mengatakan bahwa Ab berperan penting dalam menemukan sedikit banyaknya jumlah sel fagosit mononuklear yang terinfeksi virus Dengue. Apabila antibodi heterotipik berada dalam serum, maka virus akan dinetralisasi dan terjadi infeksi yang minimal. Apabila *neutralizing Ab heterotipik* tidak ada, dan hanya dijumpai antibodi monotipik dengan titer rendah, antibodi ini akan membentuk ikatan *kompleks* dengan virus (*kompleks Ag-Ab*) yang justru akan meningkatkan infeksi sel-sel mononuklear yang memperberat perjalanan klinis penderita. Pengalaman di Kuba menguatkan *immune enhancement theory* tersebut, yaitu masih dapat terjadi DBD meskipun infeksi primer virus Dengue dialami 20 tahun sebelumnya (Vaughn DW, 2000). Dari studi laboratorik menunjukkan bahwa setiap virus Dengue dapat membangkitkan Ab terhadap keempat serotipe virus Dengue yang mengarah terjadinya fenomena ADE. Tetapi penelitian in-vivo pada penderita di Asia Tenggara menunjukkan bahwa serotipe 2, 3 dan 4 yang menginduksi timbulnya ADE.

- 4) Peningkatan infeksi virus Dengue pada sel-sel fagosit mononuklear dapat disebabkan oleh mekanisme lain yang non-antibodi, contoh : vaksin pertusis diberikan pada kera yang peka terhadap virus Den-1 meningkatkan viremia dibandingkan dengan kontrol. Didalam jaringan limfoid dari penderita anak-anak dan dewasa dengan infeksi sekunder dijumpai peningkatan aktivitas sel-sel sentrum germinale dan sel limfosit B menjadi sel plasma. Pada pulpa putih dari lien terjadi proses limfositosis diikuti oleh peningkatan aktivitas fagositosis terhadap sel-sel limfosit. Jumlah sel limfosit T pada area sel T menurun.

- 5) Peteki makulo papuler atau bercak seperti morbili disebabkan karena kerusakan mukosa vaskuler didalam papula derm. Kelainan kulit ini diduga merupakan *Antibody dependent arthus type reaction*. Namun dari biopsi spesimen kulit penderita tidak ditemukan adanya virus Dengue, meskipun telah dapat diisolasi virus Dengue dari serum penderita (de Andino RM, 1985).
- 6) Kerusakan jaringan akibat infeksi virus Dengue dapat juga timbul setelah komplemen teraktivasi oleh antibodi yang terikat sel. Antibodi mononuklear terhadap NSI mampu mengaktifkan komplemen. Komplemen dapat diaktivasi melalui 2 jalan, yaitu klasik dan alternatif, pada penderita anak dengan infeksi sekunder dan pada bayi dengan infeksi primer. Kadar C₃, C₃ proaktivasi, C₄ dan C₅ dibawah harga normal pada saat fase akut. Antibodi anti-Dengue berikatan dengan sistem komplemen dan kemudian menempel pada permukaan sel yang mengakibatkan kerusakan sel tersebut. DHF/ DSS merupakan akibat langsung maupun tidak langsung dari aktivasi komplemen (Bhakdi S, 1990).
- 7) Teori Mediator
- Ada beberapa kejadian yang menyebabkan para ahli berburu mediator sebagai biang keladi terjadinya DBD. Pertama, melanjutkan teori *antibody enhancing*. Jadi dipikirkan bahwa makrofag yang terinfeksi virus mengeluarkan mediator atau sitokin. Sitokin ini diproduksi oleh banyak sel terutama makrofag mononuklear. Disini sitokin disebut juga monokin. Didalam keadaan normal sitokin ini tidak terbentuk, sehingga tidak terdapat pada serum. Kedua, sitokin diproduksi oleh banyak sel makrofag mononuklear ketika penderita DBD mengalami masa kritis selama kurun waktu 48 - 72 jam dan berlangsung dalam

kurun waktu yang sangat pendek. Kemudian disusul masa penyembuhan yang cepat, dan praktis tidak ada gejala sisa. Kejadian tersebut menimbulkan pemikiran bahwa yang dapat berperilaku seperti itu adalah mediator. Ketiga, dari kalangan ahli syok bakterial mengambil perbandingan bahwa syok septik banyak berhubungan dengan mediator. Oleh karena itu penelitian diarahkan ke mediator seperti pada syok septik. Beberapa kejadian tersebut memberi masukan agar meneliti beberapa mediator seperti Interferon, Interleukin 1, Interleukin 6, Interleukin 12, *Tumor Necrotic Factor* (TNF), *Leukemia Inhibiting Factor* (LIF), dll. Penelitian oleh Kurane I, mendapatkan terjadi peningkatan sIL-2R, IFN-gamma sCD4 dan IL-2 selama masa viremia dan diikuti kemudian oleh peningkatan sCD8 (Kurane I, 1995). Penelitian oleh Azeredo EL, mendapatkan bahwa konsentrasi TNF-alpha, IFN-gamma, IL-10 dan sTNF-Rp75 meningkat secara signifikan. Peningkatan TNF-alpha ada korelasinya dengan manifestasi perdarahan dan peningkatan IL-10 dengan kerusakan platelet (Azeredo EL, 2001; Braga EL, 2001). Karena mediator tersebut bertanggung jawab atas terjadinya demam, syok dan permeabilitas kapiler yang meningkat.

8) Peran Endotoksin

Syok pada DBD akan menyebabkan iskemia pada usus, disamping iskemia pada jaringan lain. Waktu iskemia usus, terjadi translokasi bakteri dari lumen usus ke dalam sirkulasi. Endotoksin sebagai komponen kapsul dari bakteri Gram negatif akan mudah masuk ke dalam sirkulasi pada kejadian syok yang diikuti iskemia berat. Endotoksin akan mengaktifkan kaskade sitokin terutama TNF alfa dan Interleukin 1. Telah dibuktikan bahwa endotoksemia berhubungan erat

dengan kejadian syok pada DBD. Pada DBD dengan syok terdapat 75% endotoksemia, sedang yang tidak syok terdapat 50%. TNF alfa meningkat sejak awal perjalanan penyakit dan akan turun setelah infeksi reda. Interleukin 6 meningkat pada DBD dengan syok.

9) Teori Apoptosis

Apoptosis adalah proses kematian sel secara fisiologik yang merupakan reaksi terhadap berbagai stimulasi. Proses tersebut dapat dibagi menjadi dua tahap, yaitu kerusakan inti sel kemudian perubahan bentuk sel dan perubahan permeabilitas membran sel. Konsekwensi dari apoptosis adalah fragmentasi DNA inti sel, vakuolisasi sitoplasma, blebbing dan peningkatan granulasi membran plasma menjadi DNA sub seluler yang berisi badan badan apoptotik. Apoptosis berbeda dengan nekrosis. Limfosit sitotoksik mengkode protease (granzyme, fragmentin) yang menginduksi apoptosis sel target. Selain itu limfosit yang teraktivasi merespon infeksi virus dengan menunjukkan ekspresinya pada permukaan sel dalam kadar yang tinggi dan sangat suseptibel terhadap apoptosis. Pada kasus DBD yang berat terdapat kerusakan hepar, ditemukan *Councilman bodies*. Kemungkinan hal tersebut merupakan proses apoptosis pada sel hepar (Marrianeau *et al*, 1997; Huerre MR, 2001). Replikasi virus Dengue merangsang signal apoptosis pada neuron dan hepatosit meskipun mempunyai asal efektor dan kinetiks yang berbeda (Marrianeau P, *et al*, 1998). Virus Dengue merangsang terjadinya apoptosis pada susunan syaraf pusat sebagai akibat langsung dari infeksi virus (Despres P, 1998). Couvelard A, melaporkan adanya satu kasus kematian infeksi Dengue yang bersamaan dengan terjadinya ruptura lien dan

Hepatitis . Pada pemeriksaan mikroskopis ditemukan adanya hepatosit yang mengalami apoptosis (Couverlard A. 1999). Teori yang menarik beratkan pada proses seluler ini mengesampingkan teori imunopatologi. Kejadian replikasi virus pada sel makrofag juga ditentang. Menurut pemikiran pakar dibidang ini, waktu terjadi apoptosis, virus dan sel yang berserakan dimakan oleh sel makrofag atau fagositosis. Jadi bukan virus yang bereplikasi didalam sel makrofag. Teori apoptosis ini juga tidak mempercayai adanya antibodi sub neutralisasi (Soegijanto, S. 1998).

2.4 Pemeriksaan Laboratoris Demam Berdarah Dengue

Untuk menegakkan diagnosis DBD dengan baik, pemeriksaan klinis perlu dikonfirmasi dengan pemeriksaan laboratoris. Pemeriksaan laboratoris meliputi isolasi virus, pemeriksaan serologis dan deteksi RNA virus.

2.4.1 Isolasi Virus

Diagnosis pasti yaitu dengan cara isolasi virus Dengue dengan menggunakan kultur sel. Bahan untuk isolasi virus dapat berupa serum, plasma atau lapisan *buffy coat darah heparinized* dan untuk keberhasilannya maka pengambilan seharusnya pada awal penyakit, yaitu biasanya dalam 5 hari waktu gejala demam. Kultur sel yang banyak digunakan adalah dari sel AP/61, C6/36, vero dan TRA-284-SF. Setelah virus berhasil diisolasi, identifikasi virus dilakukan dengan menggunakan metode imunofloresen menggunakan antibodi monoklonal spesifik. Keterbatasan metode ini adalah sulitnya peralatan serta memerlukan waktu dua sampai tiga minggu untuk mendapatkan hasil.

2.4.2 Uji Serologis

Sulitnya isolasi virus, menyebabkan berkembangnya uji serologis. Uji serologis penting untuk menegakkan diagnosis maupun etiologi, walaupun adanya reaksi silang antigenik antara keempat serotipe Dengue maupun flavivirus yang lain yaitu: *Japanese encephalitis*, *Yellow fever*, *Tick-borne encephalitis* (Gubler DJ, 1996).

1) Uji inhibisi hemaglutinasi (*Hemagglutination inhibition test*)

Uji ini secara ideal menggunakan sepasang serum dengan perbedaan waktu pengambilan antara fase akut dan fase konvalesen paling sedikit 7 hari, optimalnya 10 hari. Sepasang serum ini diperlukan untuk konfirmasi atau menolak diagnosis akut flavivirus atau infeksi Dengue. Uji ini dapat digunakan untuk membedakan infeksi Dengue primer dengan infeksi Dengue sekunder, yang didasarkan pada titer antibodinya. Kekurangan HI tes ini ialah kurang spesifitasnya serta tidak bisa untuk identifikasi serotipe (Gubler DJ, 1996).

2) Uji fiksasi komplemen

Uji fiksasi komplemen ini kurang sensitif bila dibandingkan dengan uji serologis yang lain untuk DBD, seperti uji HI dan uji netralisasi maupun Dengue blot, maka sekarang sudah jarang lagi dipakai.

3) Uji netralisasi

Uji netralisasi merupakan uji serologis untuk DBD yang paling tidak praktis, mahal, perlu waktu lama, tehnik sukar. sehingga hampir tidak pernah dipakai lagi (Gubler DJ. 1996).

4) Uji Dengue Blot

Uji Dengue Blot merupakan uji serologis untuk Dengue yang paling banyak dipakai dewasa ini. Tes ini dipakai untuk melacak antibodi yang reaktif terhadap virus Dengue tipe 1, 2, 3 dan 4 dalam plasma atau serum penderita yang dicurigai menderita demam Dengue. Sampel untuk uji Dengue blot diambil dua kali yaitu satu kali pada masa akut dan satu kali pada masa konvalesen.

5) Uji *Captured* ELISA

Saat ini uji *captured* ELISA untuk antibodi IgM dan IgG khusus untuk anti Dengue mempunyai keuntungan dibandingkan dengan uji HI pada infeksi Dengue akut yaitu lebih cepat dan dengan hanya spesimen darah akut didapatkan sensitivitasnya 78% sedangkan pada uji HI 53%. Pada sepasang serum sensitivitasnya meningkat menjadi 97% dan ini melebihi uji HI (Gubler DJ, 1996). Pada daerah bukan endemis Dengue, ELISA dapat digunakan untuk surveilan klinis untuk penyakit virus, sedang untuk serosurvei pada populasi penduduk dapat untuk cepat mendeteksi luasnya penyebaran penyakit. Pada daerah endemis ELISA dapat dipakai untuk skrining dalam jumlah besar spesimen serum dengan biaya yang relatif lebih sedikit. Sangat berguna pada penderita yang dirawat inap yang pada umumnya dalam keadaan lambat masuk rumah sakit sebab IgM sudah pasti dapat dideteksi pada darahnya (Gubler DJ, 1996).

6) Uji Imunokromatografi (ICT)

Uji ini dapat mendeteksi baik IgM dan IgG sekaligus dalam waktu 5-30 menit. Sampel yang digunakan dapat berupa serum tunggal (atau plasma). Uji ini lebih praktis, lebih cepat dari pemeriksaan ELISA yang membutuhkan waktu semalam untuk inkubasinya. Pada uji ICT berbentuk strip ini telah di standarisasi sedemikian rupa sehingga pada penderita infeksi primer IgM positif dimana IgG nya negatif, sebaliknya pada infeksi sekunder hasil IgG positif dapat di sertai dengan atau tanpa hasil IgM yang positif (Aryati, 2002).

2.4.3 Deteksi RNA Virus

Virus Dengue merupakan virus RNA, sehingga untuk melakukan PCR harus dilakukan *reverse transcription* agar terbentuk cDNA (*complementary DNA*) yang kemudian akan di amplifikasi. Deteksi RNA virus Dengue menggunakan teknik *Reverse Transcriptase Polymerase chain Reaction* (RT-PCR) ini sekaligus juga dapat untuk menentukan serotipe virus Dengue (Den-1, Den-2, Den-3 dan Den-4) (Aryati, 2000).

2.5 Epidemiologi Demam Berdarah Dengue

2.5.1 Situasi Dunia

KLB/wabah Dengue yang memprihatinkan baru-baru ini terjadi di lima dari enam wilayah cakupan WHO, dengan wilayah Eropa sebagai pengecualiannya. Namun demikian, tercatat telah terjadi kasus *imported Dengue* (Dengue yang masuk

dari negara lain) dalam jumlah yang cukup banyak di beberapa negara di wilayah tersebut. Jumlah penduduk yang beresiko terserang penyakit ini diperkirakan berkisar antara 2.5 sampai 3 milyar, terutama penduduk yang tinggal didaerah perkotaan di negara tropis dan sub tropis. Walaupun sebelum ini Dengue dinilai sebagai masalah yang dihadapi daerah perkotaan semata, penyakit tersebut saat ini juga menjadi ancaman bagi daerah pinggiran di Asia Tenggara. Diperkirakan bahwa terdapat sedikit-dikitnya 100 juta kasus Demam Dengue per tahun dan 500.000 kasus Demam Berdarah Dengue yang memerlukan rawat inap di rumah sakit. Angka kematian yang disebabkan oleh DBD rata-rata sekitar 5% dengan catatan kematian sejumlah sekitar 25.000 terjadi tiap tahunnya. Antara tahun 1975 dan 1995, DD/DBD terdeteksi keberadaannya di 102 negara di dari lima wilayah WHO yaitu : 20 negara di Afrika, 42 negara di Amerika, 7 negara di Asia Tenggara, 4 negara di Mediterania Timur, dan 29 negara di Pasifik Barat. Seluruh wilayah tropis di dunia saat ini telah menjadi hiperendemis dengan ke-empat serotipe virus secara bersama-sama di wilayah-wilayah Amerika, Asia Pasifik dan Afrika. Di Queensland Utara Australia, telah dilaporkan keberadaan tiga serotipe (DEN-1, DEN-2, dan DEN-3) serta di Timur Tengah terdapat dua serotipe (DEN-1 dan DEN-2). (WHO, 2000).

2.5.2 Situasi di Asia Tenggara

Demam Berdarah Dengue masih sebagai permasalahan kesehatan masyarakat yang penting di Asia Tenggara. Tujuh dari sepuluh negara menghadapi masalah Demam Berdarah Dengue yang serius. DBD merupakan penyebab utama banyaknya pasien rawat inap di rumah sakit serta kematian anak di negara-negara tersebut.

Insidens DBD di wilayah yang bersangkutan telah meningkat tajam selama 17 tahun terakhir, kira-kira 5 kali kasus lebih banyak telah dilaporkan sejak tahun 1980 daripada 30 tahun sebelumnya. Penyebaran geografis virus telah meluas dalam lingkup negara-negara tersebut dan bahkan telah pula merambah ke nagara-negara lainnya di wilayah yang bersangkutan. Stratifikasi Demam Dengue/Demam Berdarah Dengue di wilayah Asia Tenggara sebagai berikut :

Kategori A (Indonesia, Myanmar, Thailand).

- KLB/wabah siklis / terulang pada jangka waktu tertentu di pusat-pusat perkotaan dengan tenggang waktu antara 3 sampai 5 tahun.
- Menyebar sampai daerah pedesaan.
- Sirkulasi serotipe virus beragam.
- *Aedes aegypti* merupakan vektor utamanya.
- Karakter *Aedes albopictus* masih tidak pasti.

Kategori B (Bangladesh, India, Kepulauan Maldiva, Srilangka).

- DBD adalah penyakit yang baru muncul.
- Kemunculan KLB/wabah siklis semakin sering terjadi.
- Sirkulasi serotipe virus yang beragam.
- Menyebar secara geografis dalam lingkup wilayah yang luas.
- *Aedes aegypti* merupakan vektor epidemi utamanya.
- Karakter *Aedes albopictus* masih tidak pasti.

Kategori C (Bhutan, Nepal).

- Tidak ada kasus semacam DBD yang dilaporkan.
- Endemisitas penyakit tidak pasti.

Kategori D (Republik Demokratik Korea).

- Tidak endemis (WHO, 2000).

2.5.3 Situasi di Indonesia

Epidemi Demam Berdarah pertama kali dilaporkan dari Batavia (sekarang Jakarta) pada tahun 1779 oleh David Bylon. Namun DBD sebagai infeksi Dengue yang parah dengan manifestasi perdarahan ditemukan di Surabaya dan Jakarta pada tahun 1968. Sejak itu DBD telah menyebar ke berbagai wilayah di Indonesia, tidak hanya di kota-kota besar tetapi juga ke kota-kota kecil dan daerah sub urban. Banyak daerah telah menjadi endemis dan terjadi KLB berulang. Selama 5 tahun terakhir (1994-1998) insidens DBD serta wilayah yang terserang meningkat namun CFR menurun dari 2,5% pada 1994 menjadi 2% pada 1998. Penurunan CFR ini disebabkan oleh perbaikan manajemen kasus DBD di Rumah Sakit dan konsultasi penderita DBD ke dokter lebih dini. Mayoritas penderita DBD adalah umur kurang dari 15 tahun (antara 4-14 tahun). Namun selama 5 tahun terakhir (1994-1998) nampak bahwa terjadi peningkatan proporsi pada usia dewasa (lebih dari 15 tahun). Puncak kejadian DBD berhubungan dengan musim penghujan, berkisar bulan Desember hingga Maret. Vektor utamanya adalah *Aedes aegypti*, tersebar luas pada

seluruh wilayah. Seluruh serotipe virus Dengue terdapat di Indonesia. Dengue-3 merupakan serotipe yang paling sering ditemui selama terjadinya KLB di banyak daerah, diikuti oleh Dengue-2, Dengue-1 dan Dengue-4. Dengue-3 juga merupakan serotipe yang paling dominan yang berhubungan dengan keparahan penyakit, diikuti Dengue-2 (Suroso T. 1999).

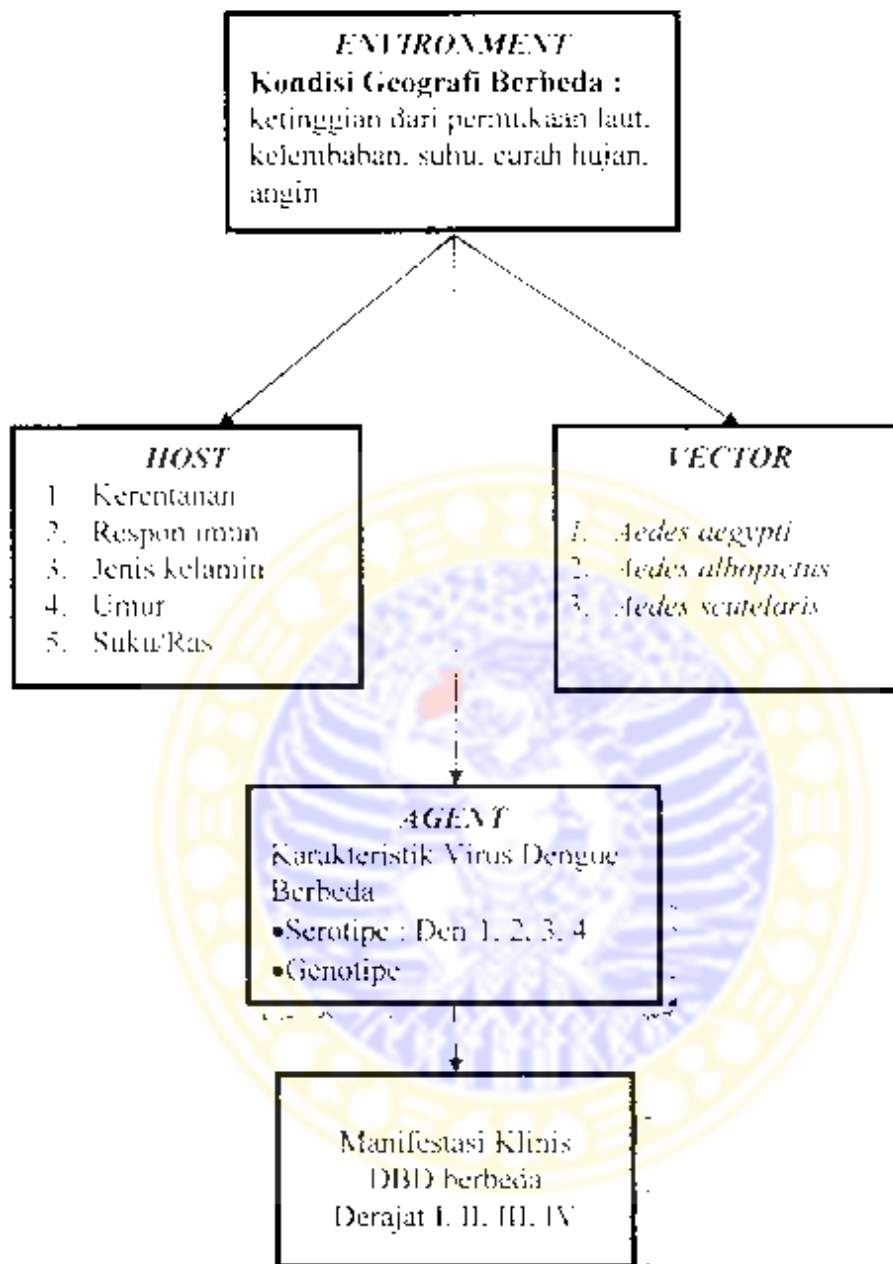
Menurut Badan Litbangkes Depkes RI (2004) penyebaran penyakit Demam Berdarah Dengue di Indonesia tercatat sebagai berikut : tahun 1996 jumlah kasus 45.548 orang dengan jumlah kematian sebanyak 1.234 orang, tahun 1998 jumlah kasus 72.133 orang dengan jumlah kematian sebanyak 1.414 orang (terjadi ledakan), tahun 1999 jumlah kasus 21.134 orang, tahun 2000 jumlah kasus 33.443 orang, tahun 2001 jumlah kasus 45.904 orang, tahun 2002 jumlah kasus 40.377 orang, tahun 2003 jumlah kasus 50.131 orang, tahun 2004 sampai tanggal 5 Maret 2004 jumlah kasus sudah mencapai 26.015 orang, dengan jumlah kematian sebanyak 389 orang.

Bab 3**KERANGKA KONSEPTUAL PENELITIAN**

Sebagaimana diketahui bahwa paradigma epidemiologi menetapkan bahwa status kesehatan masyarakat tergantung interaksi antara faktor-faktor epidemiologik yaitu *Host-Agent-Environment*. Faktor *environment* salah satunya adalah kondisi geografi. Adapun kondisi geografi ini antara lain ditentukan oleh ketinggian dari permukaan laut, kelembaban, curah hujan, angin, suhu. Kondisi geografi daerah tersebut diduga mempengaruhi karakteristik virus Dengue yaitu berbeda serotipe dan genotipenya. Selanjutnya beda sifat virus Dengue tersebut akan mempengaruhi tingkat keparahan serta terjadinya epidemi penyakit Demam Berdarah Dengue yang berbeda di masing-masing daerah tersebut.

Penelitian di Cuba dan Thailand ditemukan ada hubungan antara infeksi virus serotipe Den-2 dengan kejadian *DHF/DSS*, tetapi di Indonesia pada epidemi tahun 1976 - 1978, di Malaysia tahun 1980 - 1982, dan di Tahiti tahun 1989 - 1990, Den-3 sangat dominan pada penderita yang parah. KLB di Mexico tahun 1984, di Puerto Rico tahun 1986 dan di El Savador tahun 1989, Den-4 ditemukan lebih sering pada penderita *DHF* (WHO, 1997).

Berdasar hal tersebut diperlukan suatu penelitian epidemiologi molekuler di Jawa Timur untuk menemukan pola distribusi serotipe virus Dengue pada berbagai daerah yang berbeda kondisi geografinya dan apakah ada pula pengaruhnya terhadap tingkat keparahan penyakit Demam Berdarah Dengue.



Gambar 3.1 Kerangka Konseptual Penelitian

Bab 4

METODE PENELITIAN

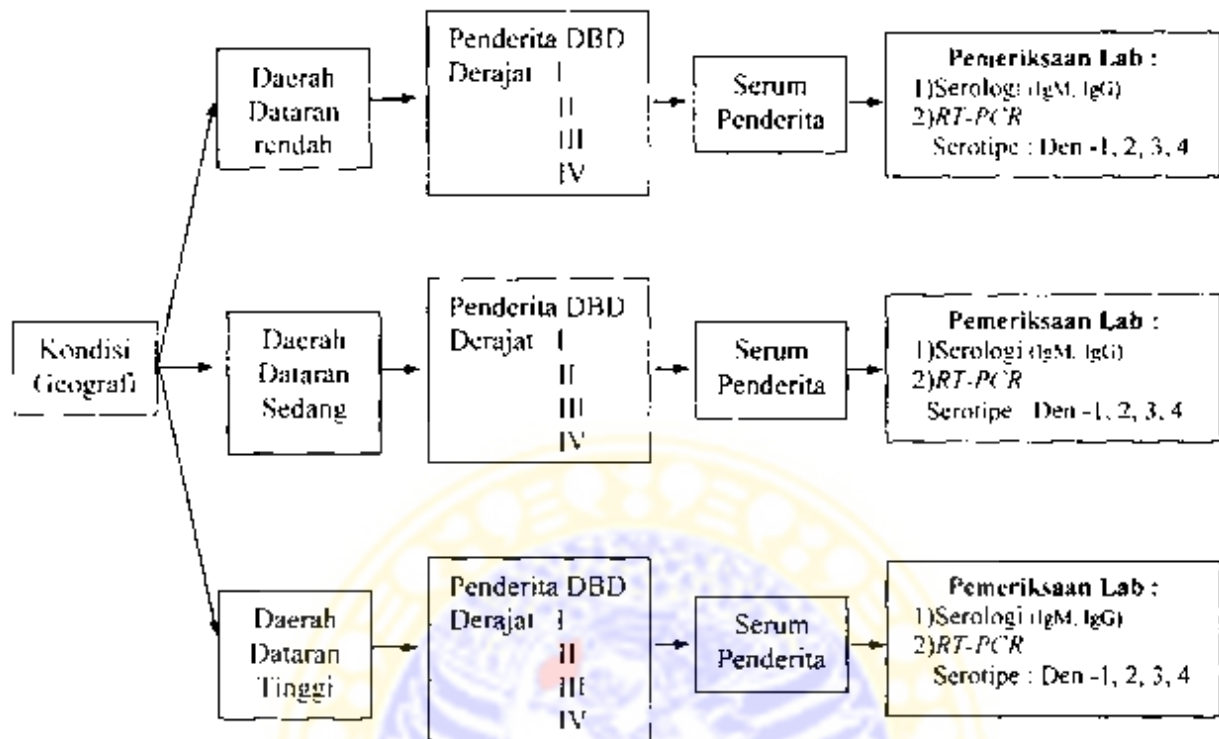
4.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksploratif laboratorik, yaitu meneliti tentang serotipe virus Dengue pada penderita DBD di berbagai daerah di Jawa Timur yang berbeda kondisi geografinya, serta mengkaji apakah ada pengaruhnya terhadap tingkat keparahan penyakit. Berdasarkan data yang diperoleh dari Kantor Badan Meteorologi dan Geofisika Wilayah III Juanda Surabaya, maka wilayah Jawa Timur dapat diklasifikasikan dalam tiga daerah yang berbeda kondisi geografinya, yaitu daerah dataran rendah, daerah dataran sedang, dan daerah dataran tinggi.

Metode pemeriksaan dalam penelitian ini menggunakan pemeriksaan serologi dengan metode *Captured ELISA* dan *reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR)* untuk menentukan serotipe virus Dengue.

4.2 Rancangan Penelitian

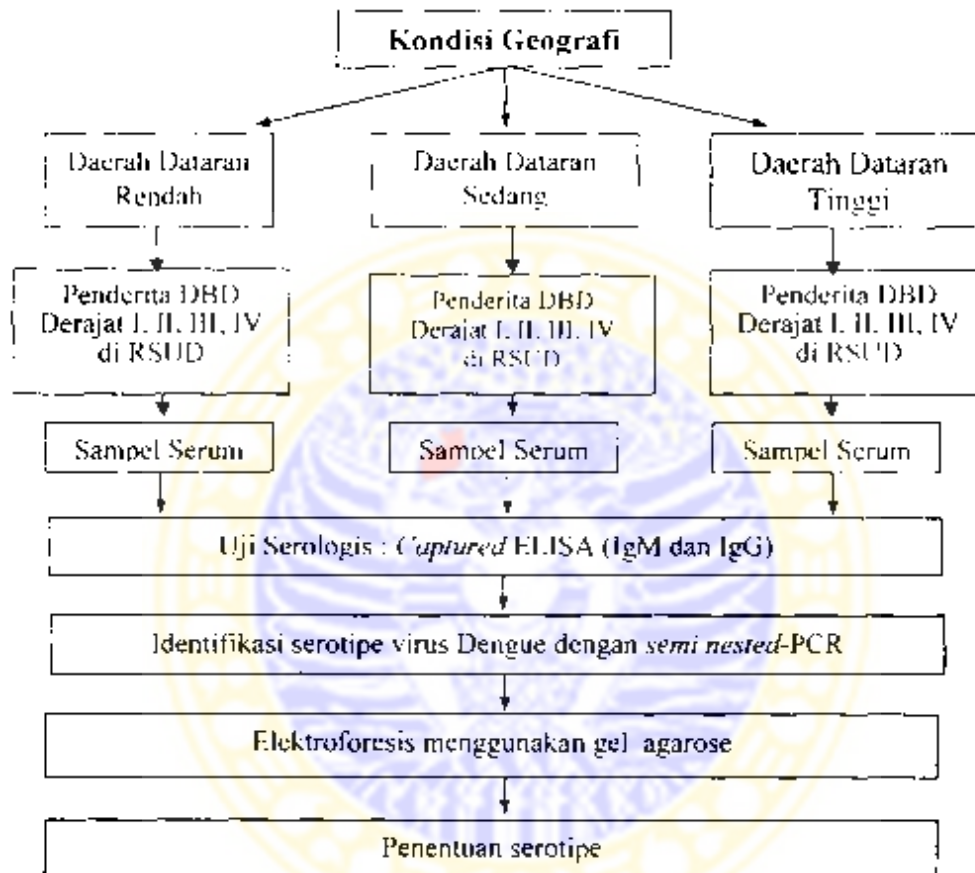
Rancangan yang digunakan dalam penelitian ini adalah *cross-sectional*, bagan rancangan penelitian dapat disajikan berikut ini :



Gambar 4.1 Rancangan Penelitian

4.3 Kerangka Operasional Penelitian

Kerangka operasional dalam penelitian ini dapat digambarkan dalam bagan di bawah ini.



Gambar 4.2 Kerangka Operasional Penelitian

Penderita DBD yang telah ditegakkan diagnosisnya berdasar kriteria *WHO* 1997 pada RSUD setempat diambil serum darahnya, kemudian dilakukan pemeriksaan serologis dengan cara *captured ELISA* untuk mengetahui adanya

antibodi IgM. IgG anti Dengue selanjutnya dengan menggunakan teknik *RT-PCR* dilakukan identifikasi serotipe virusnya.

4.4 Populasi dan sampel penelitian

Populasi pada penelitian ini adalah penderita DBD di wilayah Jawa Timur. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah penderita Demam Berdarah Dengue dengan derajat keparahan penyakit, derajat I, II, III, IV yang memenuhi kriteria sampel. Sampel diambil dari penderita yang dirawat di RSUD tiga daerah di Jawa Timur yang berbeda kondisi geografisnya pada periode penelitian mulai bulan Agustus 2003 sampai dengan Agustus 2004.

4.4.1 Kriteria penderita :

1. Penderita DBD yang dirawat di RSUD setempat (geografis penelitian) berdasar kriteria *WHO* 1997.
2. Penderita penduduk daerah setempat yang tidak melakukan perjalanan keluar daerah selama 1 bulan sebelum sakit.

4.4.2 Kriteria daerah penelitian

Untuk pemilihan daerah penelitian digunakan data sekunder yang diperoleh dari Kantor Badan Meteorologi dan Geofisika Wilayah III Juanda Surabaya periode tahun 1997 sampai dengan tahun 2001 (lampiran no. 16). Sebagai daerah penelitian

ditentukan tiga daerah yang mewakili kriteria daerah dataran rendah adalah Surabaya, daerah dataran sedang adalah Jember, dan daerah dataran tinggi adalah Malang. Hasil analisis perbedaan kondisi geografis dengan parameter ketinggian rata-rata dari permukaan laut, rata-rata curah hujan, suhu udara rata-rata, kecepatan rata-rata dan arah angin, dan kelembaban udara rata-rata di tiga daerah tersebut adalah sebagai berikut.

Tabel 4.1 Parameter Ketinggian rata-rata dari permukaan laut daerah Surabaya, Jember, dan Malang

Rata-rata ketinggian dari permukaan laut (Meter)	Surabaya	Jember	Malang	Fhit	Sig
	5.6429	230.0000	590.7917	54.388	0.000 ^{*)}

Keterangan : ^{*)} Uji ANOVA, $p < 0.05$

Analisis di atas menunjukkan bahwa terdapat perbedaan secara signifikan ($p < 0.05$) ketinggian rata-rata dari permukaan laut antara daerah Surabaya, Malang, dan Jember.

Tabel 4.2 Parameter rata-rata curah hujan di daerah Surabaya, Jember, dan Malang

Rata-rata Curah hujan (mm)	Surabaya	Jember	Malang	Fhit	Sig
Bulanan	191.648	184.417	233.233	1.005	0.368 ^{*)}
Maksimum	48.362	48.067	47.000	0.023	.977 ^{*)}
Rata-rata	11.063	15.389	19.292	7.483	0.001 ^{*)}

Keterangan : ^{*)} Uji ANOVA, $p < 0.05$

Analisis di atas menunjukkan bahwa terdapat perbedaan secara signifikan ($p < 0,05$) rata-rata curah hujan antara daerah Surabaya, Malang, dan Jember.

Tabel 4.3 Parameter suhu udara rata-rata di daerah Surabaya, Jember, dan Malang

Rata-rata Suhu udara (°C)	Surabaya	Jember	Malang	Fhit	Sig
Suhu rata-rata	27.465	31.662	23.560	2.646	0.074 ^{*)}
Suhu maksimum	33.332	33.503	30.063	238.710	.000 ^{*)}
Suhu minimum	22.498	21.607	17.360	115.312	.000 ^{*)}

Keterangan : ^{*)} Uji ANOVA, $p < 0,05$

Analisis di atas menunjukkan bahwa terdapat perbedaan secara signifikan ($p < 0,05$) suhu udara maksimum dan minimum antara daerah Surabaya, Malang, dan Jember.

Tabel 4.4 Parameter kecepatan rata-rata dan arah angin di daerah Surabaya, Jember, dan Malang

Rata-rata Kecepatan dan arah angin (Knots)	Surabaya	Jember	Malang	Fhit	Sig
Kecepatan angin rata-rata	6.600	2.755	5.317	113.823	.000 ^{*)}
Kecepatan angin maksimum	16.467	15.733	18.467	5.951	.003 ^{*)}
Arah dominan	Timur	Selatan	Selatan		

Keterangan : ^{*)} Uji ANOVA, $p < 0,05$

Analisis di atas menunjukkan bahwa terdapat perbedaan secara signifikan ($p < 0,05$) kecepatan angin rata-rata dan kecepatan angin maksimum antara daerah Surabaya, Malang, dan Jember.

Tabel 4.5 Parameter kelembaban udara rata-rata di daerah Surabaya, Jember, dan Malang

Rata-rata Kelembaban udara (%)	Surabaya	Jember	Malang	Fhit	Sig
Kelembaban udara rata-rata	77.02	72.60	77.45	15.707	.000 ^{*)}
Kelembaban udara maksimum	89.65	87.30	95.30	27.663	.000 ^{*)}
Kelembaban udara minimum	56.85	49.43	48.77	9.070	.000 ^{*)}

Keterangan : *) Uji ANOVA, $p < 0,05$

Analisis di atas menunjukkan bahwa terdapat perbedaan secara signifikan ($p < 0,05$) kelembaban udara rata-rata, kelembaban udara maksimum dan minimum antara daerah Surabaya, Malang, dan Jember.

Berdasarkan beberapa hasil analisis di atas, secara umum dapat disimpulkan bahwa kondisi geografis di daerah Surabaya, Malang, dan Jember terbukti berbeda secara signifikan. Oleh karena itu dalam penelitian ini dinyatakan bahwa daerah Surabaya mewakili daerah dataran rendah, daerah Malang mewakili daerah dataran tinggi, dan daerah Jember mewakili daerah dataran sedang.

4.4.3 Pengambilan sampel penderita

Sebagai sampel adalah penderita DBD yang dirawat di RSUD daerah penelitian yang mewakili daerah dataran rendah adalah Surabaya, dataran sedang adalah Jember, dan dataran tinggi adalah Malang. Rumah sakit yang dipilih adalah RSUD Dr Soetomo Surabaya, RSUD Dr Soehandi Jember, dan RSUD Dr Syaiful Anwar Malang berdasarkan pertimbangan kelengkapan fasilitas dan adanya dokter spesialis sehingga dapat dianggap sebagai rumah sakit rujukan. Penderita DBD telah didiagnosis klinis oleh dokter yang merawat di tiga rumah sakit tersebut berdasar kriteria WHO 1997. Sampel penderita tersebut diambil darahnya menggunakan *Syringe* steril dan disimpan pada *freezer* dengan temperatur minus 30^o C hingga minus 70^o C. Dalam kurun waktu penelitian adalah bulan Agustus 2003 sampai dengan Agustus 2004 telah diperoleh penderita dari RSUD Dr Soetomo Surabaya sebanyak 28 orang, dari RSUD Dr Soehandi Jember sebanyak 31 orang dan dari RSUD Dr Syaiful Anwar Malang sebanyak 21 orang. Keseluruhan sampel penderita adalah 80 orang.

4.5 Pemeriksaan Laboratorium

Pemeriksaan laboratorium dilakukan di laboratorium *Tropical Disease Center* Universitas Airlangga Surabaya, menggunakan teknik *captured* ELISA untuk pemeriksaan serologi dan *RT-PCR* untuk pemeriksaan serotipe virus Dengue (lampiran no. 6 dan 7).

4.6 Metode Analisis Data

Data hasil penelitian ini dianalisis menggunakan analisis deskriptif dan inferensial. Langkah-langkah analisis yang dilakukan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

4.6.1 Distribusi penderita DBD di wilayah dataran rendah (Surabaya), dataran sedang (Jember) dan dataran tinggi (Malang)

Berdasarkan deskripsi hasil diagnosis klinis yang telah ditetapkan oleh dokter yang merawat penderita DBD di RSUD Dr Soetomo Surabaya, RSUD Dr Soebandi Jember, dan RSUD Dr Syaiful Anwar Malang dapat digambarkan distribusi frekuensi penderita DBD beserta derajat keparahan penyakitnya.

4.6.2 Deskripsi hasil pemeriksaan serologis

Berdasarkan hasil pemeriksaan serologis serum penderita menggunakan teknik *captured* ELISA dengan parameter kadar IgM dan IgG dapat digambarkan distribusi frekuensi profil IgM dan IgG penderita.

4.6.3 Deskripsi hasil pemeriksaan PCR

Berdasarkan hasil pemeriksaan *PCR* serum penderita menggunakan teknik *sn-PCR* dapat digambarkan distribusi frekuensi profil hasil *PCR* beserta serotipe virus Dengue yang ditemukan.

4.6.4 Analisis perbedaan gradasi penyakit DBD antar hasil pemeriksaan serologis

Analisis ini didasarkan pada deskripsi hasil diagnosis klinis penderita di tiga RSUD daerah penelitian dihubungkan dengan hasil pemeriksaan serologis kadar IgM dan IgG, menggunakan uji **Mann-Whitney** sehingga dapat digambarkan perbedaan gradasi penyakit antar profil IgM dan IgG.

4.6.5 Analisis perbedaan gradasi penyakit DBD antar hasil pemeriksaan PCR

Analisis ini didasarkan pada deskripsi hasil diagnosis klinis penderita di tiga RSUD daerah penelitian dihubungkan dengan hasil pemeriksaan PCR, menggunakan uji **Mann-Whitney** sehingga dapat digambarkan perbedaan gradasi penyakit antar profil hasil PCR.

4.6.6 Analisis perbandingan hasil pemeriksaan serologis dengan hasil pemeriksaan PCR

Analisis ini didasarkan pada deskripsi hasil pemeriksaan serologis serum penderita DBD di tiga RSUD daerah penelitian dibandingkan dengan hasil pemeriksaan PCR, menggunakan uji **Mc Nemar** sehingga dapat digambarkan perbandingan antara hasil pemeriksaan serologis dengan hasil pemeriksaan PCR.

4.6.7 Analisis keselarasan hasil pemeriksaan klinis, IgM, IgG, dan PCR

Langkah selanjutnya dilakukan analisis keselarasan antara hasil pemeriksaan klinis, IgM, IgG, dan pemeriksaan PCR di tiga wilayah penelitian dengan menggunakan Uji Konkordansi Kendall, sehingga dapat digambarkan keselarasan hasil pemeriksaan klinis, IgM, IgG, dan hasil pemeriksaan PCR.

4.6.8 Analisis homologi nukleotida

Setelah dilakukan pemurnian *DNA* dan pelabelan *DNA* tersebut kemudian dilakukan sekuensing untuk melihat susunan nukleotida dengan menggunakan alat *DNA Sequencer* tipe *ABI Prism 310*, kemudian dilakukan analisis homologi dengan program komputer *Genetix Mac Persis 8.0*. Tidak seluruh sampel *PCR* positif diperiksa tetapi cukup beberapa sampel dari masing-masing daerah penelitian Surabaya, Jember dan Malang untuk dibandingkan besaran homologi serta susunan nukleotidanya.

4.7 Persyaratan etik

Oleh karena sampel penelitian ini adalah manusia maka perlu persyaratan "*Ethical Clearence*" serta adanya persetujuan tertulis (*informed consent*) dari penderita (lampiran no. 1).

Bab 5

HASIL DAN ANALISIS HASIL PENELITIAN

5.1 Hasil Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian eksploratif laboratorik, yang bertujuan untuk mengkaji hubungan kondisi geografis terhadap serotipe Virus Dengue serta tingkat keparahan penyakit DBD. Sebagai wilayah penelitian adalah Surabaya untuk dataran rendah, Malang untuk dataran tinggi, dan Jember untuk dataran sedang. Pemeriksaan klinis penderita DBD berdasar kriteria WHO 1997 dilakukan untuk mengambil sampel penelitian, sehingga diperoleh besar sampel 80 penderita selama periode penelitian bulan Agustus 2003 sampai dengan Agustus 2004, dengan distribusi sampel di wilayah Surabaya 28 penderita, di wilayah Malang 21 penderita, di wilayah Jember 31 penderita. . Selanjutnya dilakukan pemeriksaan serologi (IgM dan IgG) dengan metode *Captured ELISA* dan *reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR)* untuk menentukan serotipe virus Dengue. Hasil pemeriksaan klinis, IgM, IgG, Serologi, dan hasil pemeriksaan PCR akan diuraikan lebih lanjut di bawah ini.

5.1.1 Distribusi gradasi penyakit pada penderita DBD di Wilayah Surabaya, Malang, dan Jember Tahun 2004

Hasil pemeriksaan klinis terhadap penderita DBD di wilayah penelitian yang meliputi Surabaya, Malang, dan Jember dengan menggunakan penegakan diagnosis berdasarkan kriteria *WHO 1997* dapat digolongkan ke dalam 4 derajat keparahan

penyakit (gradasi), yaitu Grade I, Grade II, Grade III, dan Grade IV, yang disajikan dalam tabel di bawah ini.

Tabel 5.1 Distribusi penderita DBD di Wilayah Surabaya, Malang dan Jember Tahun 2004

Grade	Wilayah			Jumlah
	Surabaya	Malang	Jember	
I	14(50.0%)	3(14.3%)	15(48.4%)	32(40,0%)
II	11(39.3%)	15(71.4%)	12(38.7%)	38(47,5%)
III	2(7.1%)	1(4.8%)	3(9.7%)	6(7.5%)
IV	1(3.6%)	2(9.5%)	1(3.2%)	4(5,0%)
Jumlah	28(100%)	21(100%)	31(100%)	80(100%)

Data hasil pemeriksaan klinis terhadap penderita DBD di wilayah penelitian ini, menunjukkan bahwa sebagian besar ditemukan penderita DBD dengan Grade I dan II, namun di wilayah Malang tampak jumlah penderita DBD dengan gradasi II adalah tertinggi, yaitu 71,4%.

5.1.2 Hasil pemeriksaan IgM, IgG pada penderita DBD di Wilayah Surabaya, Malang, dan Jember

Pemeriksaan kadar IgM dan IgG antidengue pada serum pasien yang telah didiagnosis positif DBD dalam penelitian ini menggunakan metode *Captured ELISA*. Hasil pemeriksaan kadar IgM dan IgG bermanfaat untuk membedakan jenis infeksi penderita DBD termasuk dalam infeksi primer atau infeksi sekunder, walaupun

hanya menggunakan serum tunggal. Penentuan infeksi primer pada penelitian ini ditandai dengan timbulnya IgM antidengue > 1,1 unit, sedangkan nilai 0,9-1,1 disebut *equivocal* dan dikatakan negatif bila < 0,9. Hasil pemeriksaan kadar IgM dengan metode ELISA pada serum pasien yang telah didiagnosis menderita DBD di wilayah Surabaya, Malang, dan Jember disajikan dalam tabel di bawah ini :

Tabel 5.2 Hasil Pemeriksaan IgM Penderita DBD di Wilayah Surabaya, Malang dan Jember Tahun 2004

IgM	Wilayah			Jumlah
	Surabaya	Malang	Jember	
Negatif	17(60,7%)	4(19,05%)	16(51,6%)	37(46,25%)
Equivocal	1(3,6%)	4(19,05%)	0(0%)	5(6,25%)
Positif	10(35,7%)	13(61,9%)	15(48,4%)	38(47,50%)
Jumlah	28(100%)	21(100%)	31(100%)	80(100%)

Tabel di atas menggambarkan bahwa dari 28 penderita dengan diagnosis klinis DBD di wilayah Surabaya menunjukkan 17 penderita (60,7 %) dengan IgM-negatif, 10 penderita (35,7 %) dengan IgM-positif, dan 1 penderita (3,5 %) dengan IgM equivocal. Hasil pemeriksaan terhadap 21 penderita dengan diagnosis klinis DBD di wilayah Malang menunjukkan 4 penderita (19,0 %) dengan IgM-negatif, 13 penderita (61,9 %) dengan IgM-positif, dan 4 penderita (19,0 %) dengan IgM equivocal. Hasil pemeriksaan terhadap 31 penderita dengan diagnosis klinis DBD di wilayah Jember menunjukkan 16 penderita (51,6 %) dengan IgM-negatif, 15 penderita (48,4 %) dengan IgM-positif.

Ditemukan bahwa hasil pemeriksaan IgM pada penderita DBD yang berasal dari Wilayah Malang menunjukkan persentase IgM-positif lebih tinggi dibandingkan dengan hasil pemeriksaan IgM-negatif. Jika dibandingkan dengan hasil pemeriksaan di wilayah Surabaya dan Jember, persentase hasil pemeriksaan IgM-positif dari penderita DBD yang berasal dari Malang paling tinggi, namun ditemukan hasil pemeriksaan equivocal juga dengan persentase tertinggi. Hasil pemeriksaan IgM dari penderita DBD yang berasal dari Surabaya menunjukkan bahwa persentase IgM-positif lebih rendah dibandingkan dengan persentase IgM-negatif, dan hasil pemeriksaan penderita dari Jember menunjukkan bahwa persentase IgM-positif lebih rendah daripada persentase IgM-negatif.

Penentuan infeksi sekunder ditandai dengan timbulnya IgG antidengue yang cukup tinggi, yang telah distandarisasi untuk infeksi sekunder, setara dengan kadar uji serologis HI (*Haemagglutination Inhibition*) > titer 1/2560. IgG antidengue dikatakan positif bila > 2,2 unit, *equivocal* bila 1,8-2,2 dan negatif bila < 1,8. Khusus untuk infeksi sekunder dengue, tetap positif bila IgG antidengue > 2,2 unit, baik disertai dengan timbulnya IgM yang positif, equivocal ataupun negatif. Jadi, asalkan IgGnya positif, tetap dikatakan infeksi sekunder walau tidak diikuti dengan timbulnya IgM. Hasil pemeriksaan kadar IgG dengan metode ELISA pada serum pasien yang telah didiagnosis menderita DBD di wilayah Surabaya, Malang, dan Jember disajikan dalam tabel di bawah ini :

Tabel 5.3 Hasil Pemeriksaan IgG Penderita DBD di Wilayah Surabaya, Malang dan Jember Tahun 2004

IgG	Wilayah			Jumlah
	Surabaya	Malang	Jember	
Negatif	16(57,15%)	5(23,8%)	12(38,7%)	33(41,25%)
Equivocal	2(7,15%)	0(0%)	2(6,5%)	4(5,0%)
Positif	10(35,70%)	16(76,2%)	17(54,8%)	43(53,75%)
Jumlah	28(100%)	21(100%)	31(100%)	80(100%)

Tabel di atas menggambarkan bahwa dari 28 penderita dengan diagnosis klinis DBD di wilayah Surabaya menunjukkan 16 penderita (57,15%) dengan IgG-negatif, 10 penderita (35,70%) dengan IgG-positif, dan 2 penderita (7,15%) dengan IgG equivocal. Hasil pemeriksaan terhadap 21 penderita dengan diagnosis klinis DBD di wilayah Malang menunjukkan 5 penderita (23,8%) dengan IgG-negatif, 16 penderita (35,7%) dengan IgG-positif. Hasil pemeriksaan terhadap 31 penderita dengan diagnosis klinis DBD di wilayah Jember menunjukkan 12 penderita (38,7%) dengan IgG-negatif, 17 penderita (4,8%) dengan IgG-positif, dan 2 penderita (6,5%) dengan IgG equivocal.

Hasil pemeriksaan IgG pada penderita DBD yang berasal dari Wilayah Malang menunjukkan persentase IgG-positif lebih tinggi dibandingkan dengan hasil pemeriksaan IgG-negatif. Jika dibandingkan dengan hasil pemeriksaan di wilayah Surabaya dan Jember, persentase hasil pemeriksaan IgG-positif dari penderita DBD yang berasal dari Malang paling tinggi, dengan persentase equivocal terendah. Hasil pemeriksaan IgG dari penderita DBD yang berasal dari Surabaya menunjukkan

bahwa IgG-positif lebih rendah dibandingkan dengan IgG-negatif, hasil pemeriksaan terhadap penderita DBD yang berasal dari Jember menunjukkan bahwa persentase IgG-positif lebih tinggi dibandingkan dengan IgG-negatif.

Hasil pemeriksaan IgG equivocal, kemungkinan disebabkan oleh IgG yang terbentuk pada infeksi yang lampau, selanjutnya pada infeksi berikutnya sudah timbul IgG namun belum cukup tinggi. Jika hasil IgM atau IgG menunjukkan negatif atau equivocal, idealnya dilakukan pemeriksaan antibodi IgM atau IgG antidengue satu minggu kemudian untuk melihat ada tidaknya kenaikan kadar antibodi. Pada penelitian ini walau hasil pemeriksaan IgM dan IgG negatif maupun equivocal tetap dilakukan pemeriksaan PCR untuk membuktikan apakah terdapat antigen dengue dalam tubuh penderita, karena pada awal demam di mana antibodi yang terbentuk belum tinggi, namun telah terdapat viremia.

5.1.3 Hasil pemeriksaan serologi pada penderita DBD di Wilayah Surabaya, Malang, dan Jember

Hasil pemeriksaan serologi terhadap IgM dan IgG pada penderita DBD dapat menggambarkan status infeksi penderita. Jika hasil pemeriksaan IgG pada serum penderita adalah positif, maka pemeriksaan terhadap IgM apapun hasilnya menunjukkan bahwa penderita tersebut terinfeksi virus dengue sekunder. Jika hasil pemeriksaan IgG negatif atau equivocal dan hasil pemeriksaan IgM positif, menunjukkan penderita tersebut terinfeksi virus dengue primer. Jika hasil pemeriksaan IgG-negatif dan IgM-negatif, maka penderita yang telah didiagnosis DBD secara klinis mungkin tidak terinfeksi oleh virus dengue. Selanjutnya jika hasil

pemeriksaan IgG atau IgM equivocal, maka hasil pemeriksaan tersebut perlu dilakukan pemeriksaan ulang. Pada penelitian ini IgM dan IgG *equivocal* dianggap negatif dan tidak dilakukan pemeriksaan ulang seminggu kemudian.

Berdasarkan kriteria yang telah diuraikan di atas, maka status infeksi penderita yang telah didiagnosis terinfeksi virus dengue yang berasal dari wilayah Surabaya, Malang, dan Jember disajikan dalam tabel di bawah ini.

Tabel 5.4 Hasil Pemeriksaan Serologi Penderita DBD di Wilayah Surabaya, Malang dan Jember Tahun 2004

Serologi	Wilayah			Jumlah
	Surabaya	Malang	Jember	
Positif	13(46,4%)	18(85,7%)	19(61,3%)	50(62,5%)
Negatif	15(53,6%)	3(14,3%)	12(38,7%)	30(37,5%)
Jumlah	28(100%)	21(100%)	31(100%)	80(100%)

Tabel di atas menunjukkan bahwa dari 28 penderita di wilayah Surabaya terdapat 15 penderita (53,6%) dinyatakan negatif, dan 13 penderita (46,4 %) dinyatakan positif. Dari 21 penderita di wilayah Malang, 3 penderita (14,3%) dinyatakan negatif, 18 penderita (85,7 %) dinyatakan positif. Hasil pemeriksaan terhadap 31 penderita dari Jember menunjukkan bahwa 12 penderita (38,7%) dinyatakan negatif, 19 penderita (61,3 %) dinyatakan positif. Hasil pemeriksaan di atas, menunjukkan bahwa presentase tertinggi penderita DBD yang dinyatakan positif terinfeksi virus dengue terdapat dari wilayah Malang.

5.1.4 Hasil Pemeriksaan PCR pada Penderita DBD di Wilayah Surabaya, Malang, dan Jember

Tujuan pemeriksaan PCR untuk menentukan adanya RNA virus Dengue pada serum darah penderita. Langkah pemeriksaan PCR secara berturut-turut adalah : ekstraksi RNA, sintesis cDNA, PCR, elektroforesis, kemudian difoto untuk dokumentasi. Hasil PCR yang positif ditunjukkan dengan adanya pita-pita pada agarose.

Setiap kali melakukan pemeriksaan ekstraksi RNA sampai dengan elektroforesis selalu menyertakan kontrol negatif dan juga kontrol positif. Kontrol negatif dimaksudkan untuk mengetahui apakah hasil kerja bebas atau tidak dari kontaminasi. Kontrol positif untuk menunjukkan bahwa prosedur yang dijalankan sudah benar dan juga reagensia yang digunakan dalam keadaan baik. Kontrol negatif tidak menunjukkan pita, sedang kontrol positif menunjukkan pita. Hasil pemeriksaan PCR dapat disajikan dalam tabel sebagai berikut.

Tabel 5.5 Hasil Pemeriksaan PCR Penderita DBD di Wilayah Surabaya, Malang dan Jember Tahun 2004

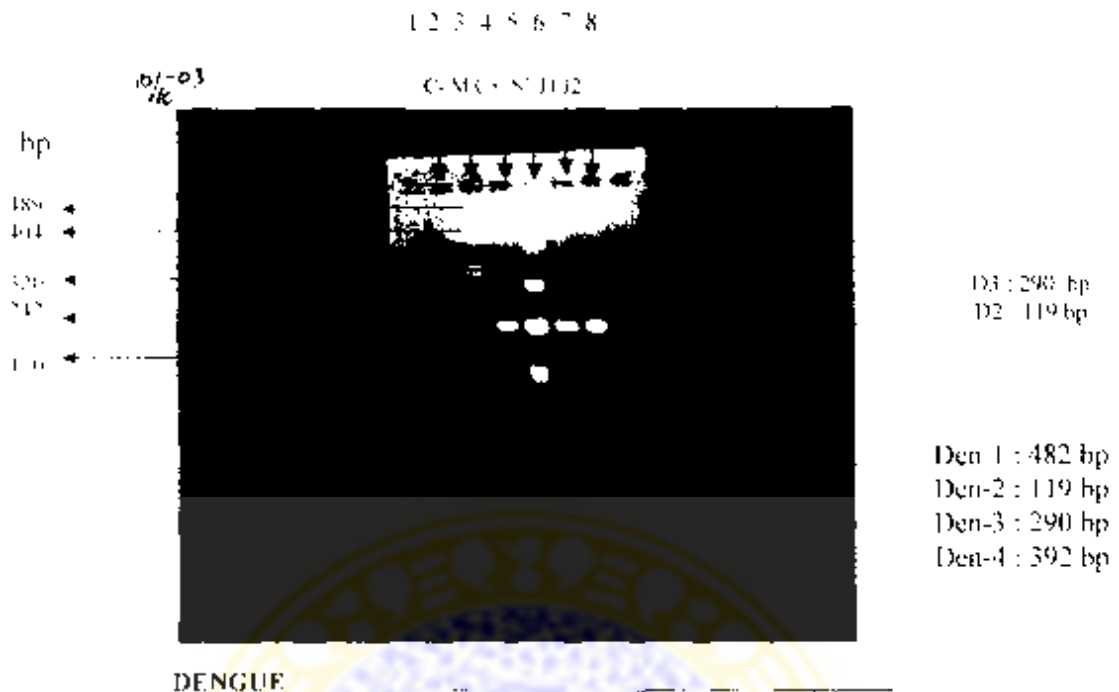
PCR	Wilayah			Jumlah
	Surabaya	Malang	Jember	
Positif	10(38,7%)	8(38,1%)	6(19,4%)	24(30%)
Negatif	18(64,3%)	13(61,9%)	25(80,6%)	56(70%)
Jumlah	28(100%)	21(100%)	31(100%)	80(100%)

Hasil pemeriksaan *sn-PCR* dalam tabel di atas, dari 28 penderita DBD di wilayah Surabaya. 18 penderita (64,3%) menunjukkan hasil negatif. 10 penderita (38,7 %) menunjukkan hasil positif. Hasil pemeriksaan *sn-PCR* terhadap 21 penderita dari wilayah Malang menunjukkan bahwa 13 penderita (61,9 %) menunjukkan hasil negatif. 8 penderita (38,1%) menunjukkan hasil positif. Pemeriksaan *sn-PCR* terhadap 31 penderita dari wilayah Jember menunjukkan bahwa 25 penderita (80,6 %) menunjukkan hasil negatif. 6 penderita (19,4%) menunjukkan hasil positif.

5.1.5 Hasil Pemeriksaan Serotipe Virus Dengue pada Penderita DBD di Wilayah Surabaya, Malang, dan Jember

Selanjutnya dilakukan pemeriksaan PCR dengan menggunakan *marker Hae III Digest* untuk mengetahui berapa pasangan basa pita yang dihasilkan. Jumlah pasangan basa pita yang dihasilkan dapat menggambarkan serotipe virus dengue pada penderita DBD. Pemeriksaan serotipe virus dengue dalam penelitian ini dilakukan terhadap seluruh sampel di tiga wilayah penelitian.

Hasil pemeriksaan PCR sampel serum darah penderita dari Surabaya (S1) dan Jember (J1 dan J2) disajikan dalam gambar sebagai berikut :



Gb.5.1 Hasil Pemeriksaan *in-situ* PCR Pada 3 sampel penderita dari Surabaya (S1) dan Jember (J1, J2)

Keterangan gambar : Lane 2 : kontrol negatif.
 Lane 3 : pelacak (marker) menggunakan Hae III Digest
 Lane 4 : kontrol positif
 Lane 5 s/ 7 : hasil PCR serum penderita.

Berdasarkan hasil pemeriksaan di atas, ternyata pita yang terbentuk adalah sebesar 119 bp, ini sesuai dengan Den-2 dan khusus penderita Surabaya (S1) ada dua pita sebesar 119 bp dan 290 bp, berarti telah terjadi infeksi ganda dengan virus Den-2 dan Den-3. Selanjutnya hasil pemeriksaan serotipe virus dengue pada serum penderita DBD dengan PCR-positif di tiga wilayah Surabaya, Malang, dan Jember disajikan dalam tabel di bawah ini.

Tabel 5.6 Distribusi Serotipe Virus Dengue pada Penderita DBD di Wilayah Surabaya, Malang dan Jember Tahun 2004

Serotipe	Wilayah			Jumlah
	Surabaya	Malang	Jember	
Den-1	0(0%)	0(0%)	0(0%)	0(0%)
Den-2	9(90%)	8(100%)	6(100%)	23(95,8%)
Den-3	1(10%)	0(0%)	0(0%)	1(4,2%)
Den-4	0(0%)	0(0%)	0(0%)	0(0%)
Jumlah	10(100%)	8(100%)	6(100%)	24(100%)

Hasil pemeriksaan *sn-PCR*, terdapat 10 penderita DBD dengan PCR-positif dari Wilayah Surabaya yang terdiri dari 9 penderita (90%) dengan infeksi virus dengue serotipe Den-2 dan ditemukan seorang penderita DBD (10%) menunjukkan adanya infeksi ganda oleh virus Dengue serotipe Den-2 dan Den-3 secara bersama dalam satu sampel. Terdapat 8 penderita DBD dengan PCR-positif dari Malang dengan infeksi virus dengue serotipe Den-2, dan 6 penderita dengan PCR-positif dari Jember dengan infeksi virus dengue serotipe Den-2.

Tampak bahwa serotipe Den-2 mendominasi jenis infeksi virus dengue pada penderita DBD baik dari wilayah Surabaya, Malang, maupun Jember. Hasil pemeriksaan *sn-PCR* di atas menunjukkan lebih banyak penderita yang telah di diagnosis positif DBD, namun tidak ditemukan adanya virus dengue, hal ini dibuktikan dengan persentase jumlah penderita yang negatif cukup tinggi, 64,3% di Surabaya, 61,9% di Malang, dan 80,6 % di Jember.

Selanjutnya terhadap data hasil penelitian ini dilakukan analisis statistik dengan menggunakan Uji Mann-Whitney dan Uji Mc Nemar .

5.2 Analisis perbedaan hasil pemeriksaan klinis antar hasil pemeriksaan IgM, IgG, Serologis, dan PCR

Selanjutnya dilakukan analisis hubungan hasil pemeriksaan Klinis yang menggambarkan gradasi penyakit pada penderita DBD dengan hasil pemeriksaan IgM, IgG, Serologi, dan PCR. Data hasil pemeriksaan klinis, IgM, IgG, Serologi, dan hasil pemeriksaan PCR dalam bentuk data nominal dikotomi (positif dan negatif), data hasil pemeriksaan klinis bersifat kategori skala ordinal, yaitu Grade I, Grade II, Grade III, Grade IV. Oleh karena itu analisis ini menggunakan Uji Mann-Whitney dengan taraf kepercayaan 95%.

5.2.1 Analisis perbedaan hasil pemeriksaan klinis antar hasil pemeriksaan IgM

Hasil Uji Mann-Whitney, untuk menganalisis perbedaan hasil pemeriksaan klinis antar hasil pemeriksaan IgM dalam serum penderita DBD dapat disajikan dalam tabel di bawah ini.

Tabel 5.7 Hubungan Gradasi Penyakit DBD dengan Hasil Pemeriksaan IgM Penderita DBD di Wilayah Surabaya, Malang dan Jember Tahun 2004

Gradasi	Surabaya		Malang		Jember		Jumlah	
	IgM+	IgM-	IgM+	IgM-	IgM+	IgM-	IgM+	IgM-
I	2	12	2	1	4	11	8	24
II	5	6	9	6	7	5	21	17
III	2	0	0	1	3	0	5	1
IV	1	0	2	0	1	0	4	0
Jumlah	10	18	13	8	15	16	38	42
Mean Rank	19,60	11,67	11,08	10,88	20,3	12,22	49,87	32,02
Uji Mann-Whitney	Z= -2,709 p= 0,007		Z= -0,091 p= 0,927		Z= - 2,627 p= 0,009		Z= - 3,768 p= 0,000	

Tabel 5.7 di atas menunjukkan bahwa, secara umum terdapat perbedaan secara signifikan ($p = 0,000$) hasil pemeriksaan Klinis antar hasil pemeriksaan IgM pada penderita DBD di tiga wilayah penelitian. Perbedaan tersebut ditunjukkan oleh perbedaan secara signifikan ($p < 0,05$) hasil pemeriksaan klinis antar hasil pemeriksaan IgM pada penderita DBD di wilayah Surabaya dan wilayah Jember. Namun tidak terdapat perbedaan yang signifikan ($p > 0,05$) hasil pemeriksaan klinis antar hasil pemeriksaan IgM pada penderita DBD di wilayah Malang. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat hubungan atau kesesuaian antara hasil pemeriksaan klinis dengan hasil pemeriksaan IgM pada penderita DBD, kecuali di wilayah Malang. Penderita dengan hasil pemeriksaan IgM positif menunjukkan gradasi penyakit yang lebih tinggi dibandingkan penderita dengan hasil pemeriksaan IgM

negatif di wilayah Surabaya dan Jember. Di wilayah Malang tidak terdapat perbedaan gradasi penyakit antar penderita DBD dengan hasil pemeriksaan IgM positif dan negatif.

5.2.2 Analisis Perbedaan hasil pemeriksaan klinis antar hasil pemeriksaan IgG

Analisis terhadap perbedaan hasil pemeriksaan klinis antar hasil pemeriksaan IgG dalam serum penderita DBD dapat disajikan dalam tabel di bawah ini.

Tabel 5.8 Hubungan Gradasi Penyakit DBD dengan Hasil Pemeriksaan IgG Penderita DBD di Wilayah Surabaya, Malang dan Jember Tahun 2004

Gradasi	Surabaya		Malang		Jember		Jumlah	
	IgG+	IgG-	IgG+	IgG-	IgG+	IgG-	IgG+	IgG-
I	2	12	3	0	3	12	8	24
II	5	6	10	5	10	2	25	13
III	2	0	1	0	3	0	6	0
IV	1	0	2	0	1	0	4	0
Jumlah	10	18	16	5	17	14	43	37
Mean Rank	19,60	11,67	11,00	11,00	21,00	9,93	50,57	28,80
Uji Mann-Whitney	Z= -2,709 p= 0,014		Z=0,000 p= 1,000		Z= -3,707 p= 0,000		Z= -4,591 p= 0,000	

Tabel 5.8 di atas menunjukkan bahwa, secara umum terdapat perbedaan secara signifikan ($p = 0,000$) hasil pemeriksaan klinis antar hasil pemeriksaan IgG pada penderita DBD di tiga wilayah penelitian. Hal ini ditunjukkan oleh adanya perbedaan secara signifikan ($p < 0,05$) hasil pemeriksaan klinis antar hasil

pemeriksaan IgG pada penderita DBD di wilayah Surabaya dan Jember. Namun tidak terdapat perbedaan yang signifikan ($p > 0.05$) hasil pemeriksaan klinis antar hasil pemeriksaan IgG pada penderita DBD dari wilayah Malang. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat hubungan atau kesesuaian antara hasil pemeriksaan klinis dan hasil pemeriksaan IgG pada penderita DBD, kecuali di wilayah Malang. Penderita dengan hasil pemeriksaan IgG positif menunjukkan gradasi penyakit yang lebih tinggi dibandingkan penderita dengan hasil pemeriksaan IgG negatif di wilayah Surabaya dan Jember. Di wilayah Malang tidak terdapat perbedaan gradasi penyakit antar penderita DBD dengan hasil pemeriksaan IgG positif dan negatif.

5.2.3 Analisis Perbedaan hasil pemeriksaan klinis antar hasil pemeriksaan Serologi

Analisis perbedaan hasil pemeriksaan klinis antar hasil pemeriksaan Serologi pada penderita DBD dapat disajikan dalam tabel di bawah ini.

Tabel 5.9 Hubungan Gradasi Penyakit DBD dengan Hasil Pemeriksaan Serologi Penderita DBD di Wilayah Surabaya, Malang dan Jember Tahun 2004

Gradasi	Surabaya		Malang		Jember		Jumlah	
	Ser+	Ser-	Ser+	Ser-	Ser+	Ser-	Ser+	Ser-
I	3	11	3	0	5	10	11	21
II	7	4	12	3	10	2	29	9
III	2	0	1	0	3	0	6	0
IV	1	0	2	0	1	0	4	0
Jumlah	13	15	18	3	19	12	50	30
Mean Rank	18,3	10,83	11,00	11,00	19,63	10,25	48,00	27,00
Uji Mann-Whitney	Z= -2,806 p= 0,010		Z= 0,000 p= 1,000		Z= -3,074 p= 0,004		Z= -4,422 p= 0,000	

Tabel 5.9 di atas menunjukkan bahwa, secara umum terdapat perbedaan secara signifikan ($p = 0.000$) antara hasil pemeriksaan klinis antar hasil pemeriksaan Serologi pada penderita DBD secara bersama di tiga wilayah penelitian. Perbedaan hasil pemeriksaan klinis antar hasil pemeriksaan Serologi tersebut tampak signifikan pada penderita DBD untuk wilayah Surabaya dan wilayah Jember. Namun tidak terdapat perbedaan secara signifikan ($p > 0.05$) hasil pemeriksaan klinis antar hasil pemeriksaan Serologi di wilayah Malang. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat hubungan atau kesesuaian hasil pemeriksaan klinis dan hasil pemeriksaan Serologi, kecuali pada penderita DBD di wilayah Malang. Penderita dengan hasil pemeriksaan serologi positif menunjukkan gradasi penyakit yang lebih tinggi dibandingkan penderita dengan hasil pemeriksaan serologi negatif di wilayah Surabaya dan Jember. Di wilayah Malang tidak terdapat perbedaan gradasi penyakit antar penderita DBD dengan hasil pemeriksaan serologi positif dan negatif.

5.2.4 Analisis perbedaan hasil pemeriksaan klinis antar hasil pemeriksaan PCR

Analisis terhadap perbedaan hasil pemeriksaan klinis antar hasil pemeriksaan PCR pada penderita DBD dapat disajikan dalam tabel di bawah ini.

Tabel 5.10 Hubungan Gradasi Penyakit DBD dengan Hasil Pemeriksaan PCR Penderita DBD di Wilayah Surabaya, Malang dan Jember Tahun 2004

Gradasi	Surabaya		Malang		Jember		Jumlah	
	PCR+	PCR-	PCR+	PCR-	PCR+	PCR-	PCR+	PCR-
I	5	9	0	3	1	14	6	26
II	2	9	7	8	5	7	14	24
III	2	0	0	1	0	3	2	4
IV	1	0	1	1	0	1	2	2
Jumlah	10	18	8	13	6	25	24	56
Mean Rank	15,85	13,75	12,19	10,27	15,22	19,25	46,83	37,79
Uji Mann-Whitney	Z=-0,717 P= 0,524		Z=-0,865 p= 0,500		Z=-1,071 p= 0,339		Z=-1,753 p= 0,080	

Tabel 5.10 menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan secara signifikan ($p > 0,05$) hasil pemeriksaan klinis antar hasil pemeriksaan PCR pada penderita DBD baik secara bersama di tiga wilayah penelitian maupun pada masing-masing wilayah penelitian (Surabaya, Malang, dan Jember). Hal ini ditunjukkan oleh nilai signifikansi baik secara keseluruhan maupun pada masing-masing wilayah penelitian $p > 0,05$. Hal ini menunjukkan bahwa tidak terdapat hubungan atau kesesuaian yang signifikan antara hasil pemeriksaan klinis dan hasil pemeriksaan PCR pada penderita DBD di tiga wilayah penelitian, Surabaya, Malang, dan Jember. Berarti tidak ada perbedaan gradasi penyakit antar penderita dengan hasil pemeriksaan PCR positif dan negatif.

5.3 Analisis perbedaan hasil pemeriksaan IgM, IgG, dan serologi dengan hasil pemeriksaan PCR

Selanjutnya dilakukan analisis perbedaan hasil pemeriksaan IgM, IgG, dan Serologi dengan hasil pemeriksaan PCR pada penderita DBD di tiga wilayah penelitian. Data hasil pemeriksaan PCR, IgM, IgG, dan Serologi dalam bentuk data nominal dan bersifat dikotomi (positif dan negatif) yang merupakan hasil pengamatan berpasangan dari sebuah sampel. Oleh karena itu analisis yang digunakan dalam hal ini adalah Uji Mc Nemar, yaitu uji dua sampel berpasangan dengan menggunakan taraf keyakinan 95%.

5.3.1 Analisis hubungan hasil pemeriksaan IgM dengan hasil pemeriksaan PCR

Hasil analisis hubungan antara hasil pemeriksaan IgM dengan hasil pemeriksaan PCR pada penderita DBD di tiga wilayah penelitian disajikan dalam tabel sebagai berikut.

Tabel 5.11 Perbandingan Hasil Pemeriksaan IgM dengan PCR Penderita DBD di wilayah Surabaya, Malang, dan Jember Tahun 2004

IgM	Surabaya		Malang		Jember		Jumlah	
	PCR+	PCR -	PCR +	PCR -	PCR +	PCR -	PCR +	PCR -
Positif	5	5	5	8	4	11	14	24
Negatif	5	13	3	5	2	14	10	32
Mc Nemar Test (Sig. (2- sided))	p= 1,000		p=0.227		p= 0,022		p= 0,024	
Kappa	0,222 p= 0,240		0,009 p= 0.965		0,144 p= 0,318		0,133 p= 0,204	

Tabel 5.11 di atas menunjukkan bahwa terdapat perbedaan secara signifikan antara hasil pemeriksaan IgM dengan hasil pemeriksaan PCR pada penderita DBD, yang ditunjukkan dengan Mc Nemar Test ($p = 0.024$) secara bersama di tiga wilayah penelitian. Perbedaan tersebut tampak signifikan hanya untuk wilayah penelitian Jember (Mc Nemar Test : $p = 0.022$), dan tidak terdapat perbedaan secara signifikan pada wilayah Surabaya dan Malang ($p > 0.05$). Hal ini menunjukkan bahwa terdapat kesesuaian antara hasil pemeriksaan IgM dan hasil pemeriksaan PCR pada penderita DBD hanya di wilayah Surabaya dan Malang.

Hasil pemeriksaan IgM dan PCR pada penderita DBD di wilayah Surabaya menunjukkan tingkat kesesuaian tertinggi (nilai Kappa: 0,222), terdapat 5 penderita DBD dengan IgM positif terdeteksi PCR positif dan 13 penderita DBD dengan IgM negatif terdeteksi PCR negatif. Terdapat 5 penderita DBD dengan IgM positif terdeteksi PCR negatif, dan 5 penderita DBD dengan IgM negatif terdeteksi PCR positif. Hasil pemeriksaan IgM dan PCR pada penderita DBD di wilayah Malang menunjukkan tingkat kesesuaian paling rendah (nilai Kappa: 0,009), terdapat 5 penderita DBD dengan IgM positif terdeteksi PCR positif dan 5 penderita DBD dengan IgM negatif terdeteksi PCR negatif. Terdapat 8 penderita DBD dengan IgM positif terdeteksi PCR negatif, dan 3 penderita DBD dengan IgM negatif terdeteksi PCR+. Hasil pemeriksaan IgM dan PCR pada penderita DBD di wilayah Jember menunjukkan tingkat kesesuaian dengan nilai Kappa : 0,144, terdapat 4 penderita DBD dengan IgM positif terdeteksi PCR positif dan 14 penderita DBD dengan IgM negatif terdeteksi PCR negatif. Terdapat 11 penderita DBD dengan IgM positif terdeteksi PCR negatif, dan 2 penderita DBD dengan IgM negatif terdeteksi PCR

positif. Akan tetapi tingkat kesesuaian pemeriksaan IgM dengan PCR yang diperoleh pada masing-masing wilayah menunjukkan hasil yang tidak signifikan.

5.3.2 Analisis perbedaan hasil pemeriksaan IgG dengan hasil pemeriksaan PCR

Hasil analisis perbedaan antara hasil pemeriksaan IgG dengan hasil pemeriksaan PCR pada penderita DBD di tiga wilayah penelitian disajikan dalam tabel sebagai berikut.

Tabel 5.12 Perbandingan Hasil Pemeriksaan IgG dengan PCR Penderita DBD di wilayah Surabaya, Malang, dan Jember Tahun 2004

IgG	Surabaya		Malang		Jember		Jumlah	
	PCR +	PCR -	PCR +	PCR -	PCR +	PCR -	PCR +	PCR -
Positif	3	7	5	11	5	12	13	30
Negatif	7	11	3	2	1	13	11	26
Mc Nemar test	p= 1,000		p= 0,057		p= 0,003		p= 0,004	
Kappa	- 0,089 p= 0,638		- 0,185 p= 0,248		0,208 p= 0,118		0,005 p= 0,961	

Tabel 5.12 di atas menunjukkan bahwa, terdapat perbedaan secara signifikan antara hasil pemeriksaan IgG dengan hasil pemeriksaan PCR pada penderita DBD, yang ditunjukkan dengan Mc Nemar Test ($p = 0.044$) secara bersama di tiga wilayah penelitian. Perbedaan tersebut tampak signifikan hanya untuk wilayah penelitian Jember (Mc Nemar Test: $p = 0.003$), dan tidak terdapat perbedaan secara signifikan pada wilayah Surabaya dan Malang ($p > 0.05$). Hal ini

berarti bahwa terdapat kesesuaian antara hasil pemeriksaan IgG dan hasil pemeriksaan PCR pada penderita DBD hanya di wilayah Surabaya dan wilayah Malang.

Hasil pemeriksaan IgG dan PCR pada penderita DBD di wilayah Surabaya dengan tingkat kesesuaian dengan nilai Kappa : -0,089, terdapat 3 penderita DBD dengan IgG positif terdeteksi PCR positif dan 11 penderita DBD dengan IgG negatif terdeteksi PCR negatif. Terdapat 7 penderita DBD dengan IgG positif terdeteksi PCR negatif, dan 7 penderita DBD dengan IgG negatif terdeteksi PCR positif. Hasil pemeriksaan IgG dan PCR pada penderita DBD di wilayah Malang menunjukkan tingkat kesesuaian dengan nilai Kappa: -0,185, terdapat 5 penderita DBD dengan IgG positif terdeteksi PCR positif dan 2 penderita DBD dengan IgG negatif terdeteksi PCR negatif. Terdapat 11 penderita DBD dengan IgG positif terdeteksi PCR negatif, dan 3 penderita DBD dengan IgG negatif terdeteksi PCR positif. Hasil pemeriksaan IgG dan PCR pada penderita DBD di wilayah Jember menunjukkan tingkat kesesuaian dengan nilai Kappa: 0,208, terdapat 5 penderita DBD dengan IgG positif terdeteksi PCR positif dan 13 penderita DBD dengan IgG negatif terdeteksi PCR negatif. Terdapat 12 penderita DBD dengan IgG positif terdeteksi PCR negatif, dan 1 penderita DBD dengan IgG negatif terdeteksi PCR positif. Akan tetapi tingkat kesesuaian (koefisien Kappa) antar hasil pemeriksaan IgG dengan PCR yang diperoleh di tiga wilayah tersebut menunjukkan hasil yang tidak signifikan ($p > 0,05$).

5.3.3 Analisis perbedaan hasil pemeriksaan serologi dengan hasil pemeriksaan PCR

Hasil analisis perbedaan antara hasil pemeriksaan Serologi dengan hasil pemeriksaan PCR pada penderita DBD di tiga wilayah penelitian disajikan dalam tabel sebagai berikut.

Tabel 5.13 Perbandingan Hasil Pemeriksaan Serologi dengan PCR Penderita DBD di wilayah Surabaya, Malang, dan Jember Tahun 2004

Serologi	Surabaya		Malang		Jember		Jumlah	
	PCR+	PCR -	PCR+	PCR -	PCR+	PCR -	PCR+	PCR -
Positif	5	8	6	12	5	14	16	34
Negatif	5	10	2	1	1	11	8	22
Mc Nemar test	p= 0,581		P= 0,013		p= 0,001		p= 0,000	
Kappa	0,052 p= 0,778		- 0,140 p= 0,271		0,150 p= 0,217		0,045 p= 0,614	

Tabel 5.13 di atas menunjukkan bahwa, terdapat perbedaan secara signifikan antara hasil pemeriksaan Serologi dengan hasil pemeriksaan PCR pada penderita DBD, yang ditunjukkan dengan Mc Nemar Test ($p = 0,000$) secara bersama di tiga wilayah penelitian. Perbedaan tersebut tampak signifikan hanya untuk wilayah penelitian Jember (Mc Nemar Test: $p = 0,001$) dan Malang (Mc Nemar Test: $p = 0,013$). tidak terdapat perbedaan secara signifikan untuk wilayah Surabaya. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat kesesuaian antara hasil pemeriksaan Serologi dan hasil pemeriksaan PCR pada penderita DBD hanya di wilayah Surabaya.

Hasil pemeriksaan Serologi dan PCR pada penderita DBD di wilayah Surabaya menunjukkan tingkat kesesuaian rendah (nilai Kappa: 0,052), terdapat 8 penderita DBD dengan Serologi positif terdeteksi PCR positif dan 5 penderita DBD dengan Serologi negatif terdeteksi PCR negatif. Terdapat 5 penderita DBD dengan Serologi positif terdeteksi PCR negatif, dan 10 penderita DBD dengan Serologi- terdeteksi PCR positif. Hasil pemeriksaan Serologi dan PCR pada penderita DBD di wilayah Malang menunjukkan tingkat kesesuaian dengan nilai Kappa: -0,140, terdapat 12 penderita DBD dengan Serologi positif terdeteksi PCR positif dan 2 penderita DBD dengan Serologi negatif terdeteksi PCR negatif. Terdapat 6 penderita DBD dengan Serologi positif terdeteksi PCR negatif, dan 1 penderita DBD dengan Serologi negatif terdeteksi PCR positif. Hasil pemeriksaan Serologi dan PCR pada penderita DBD di wilayah Jember menunjukkan tingkat kesesuaian dengan nilai Kappa: 0,150, terdapat 14 penderita DBD dengan Serologi positif terdeteksi PCR positif dan 1 penderita DBD dengan Serologi negatif terdeteksi PCR negatif. Terdapat 5 penderita DBD dengan Serologi positif terdeteksi PCR negatif, dan 11 penderita DBD dengan Serologi negatif terdeteksi PCR positif. Keseluruhan analisis koefisien Kappa menunjukkan hasil yang tidak signifikan ($p > 0.05$).

5.4 Analisis Keselarasan Hasil Pemeriksaan Klinis, IgM & IgG, dan PCR

Selanjutnya dilakukan analisis keselarasan hasil pemeriksaan klinis, IgM & IgG, dan PCR dengan menggunakan Uji Konkordansi Kendall sebagai berikut.

Tabel 5.14. Analisis Keselarasan Hasil Pemeriksaan Klinis, IgM & IgG, dan PCR

Variabel	Surabaya	Malang	Jember	Bersama-sama
N	28	21	31	80
df	3	3	3	3
Kendall's W ^a	0,660	0,693	0,745	0,687
Asymp.Sig.	0,000	0,000	0,000	0,000

^a Kendall's Coefficient of Concordance

Berdasarkan hasil Uji Kendall pada tabel di atas menunjukkan bahwa, Koefisien Kendall's W^a untuk wilayah Surabaya 0,660 ($W > 0,5$), wilayah Malang 0,693 ($W > 0,5$), wilayah Jember 0,745 ($W > 0,5$). Hal ini berarti bahwa terdapat keselarasan hasil pemeriksaan klinis, IgM, IgG, dan PCR di wilayah Surabaya, Malang, dan Jember. Hasil Uji Kendall secara bersama-sama di tiga wilayah penelitian diperoleh Koefisien Kendall's W^a sebesar 0,687 ($W > 0,5$), hal ini juga menunjukkan bahwa terdapat keselarasan hasil pemeriksaan klinis, IgM, IgG, dan PCR di tiga wilayah penelitian.

5.5 Analisis Homologi Nukleotida

Setelah dilakukan pemurnian DNA dan pelabelan DNA, dilanjutkan sekuensing untuk melihat susunan nukleotida dengan menggunakan alat ABI Prism 310, kemudian dibaca dengan DNA Sequencer. Pada penelitian ini oleh karena dominan serotipe adalah Den-2 maka analisis difokuskan pada analisis nukleotida capsid dari tujuh isolat yang mewakili daerah Surabaya, Malang, Jember, dan dibandingkan dengan regio capsid dari isolat Jakarta, Jamaica dan USA yang juga berasal dari Den-2.

Tabel 5.15. Analisis homologi nukleotida dari berbagai isolat Jawa Timur dan Jakarta

	Sby-11	Jbr-1	Jbr-2	Mlg-8	Mlg-19	Jkt-1	USA	Jamaica
Sby-11		87,0%	87,0%	86,0%	77,1%	55,2%	72,2%	68,2%
Jbr-1	87,0%		100%	95%	78,2%	52,4%	44,9%	46,4%
Mlg-19	77,1%	78,2%	78,2%	83,5%		52,4%	60%	73,7%

Data homologi nukleotida dari berbagai isolat di Jawa Timur pada tabel di atas, menunjukkan bahwa tingkat homologi nukleotida antara isolat Surabaya dengan isolat Jember sebesar 87,0%, dengan isolat Malang sebesar 77,1% - 86,0%, dengan isolat Jakarta sebesar 55,2%, dengan isolat USA sebesar 72,2, dan dengan isolat Jamaica sebesar 68,2%. Tingkat homologi nukleotida antara isolat Jember dengan isolat Malang sebesar 78,2% - 95%, dengan isolat Jakarta sebesar 52,4%, dengan isolat USA sebesar 44,9%, dengan isolat Jamaica sebesar 46,4%. Tingkat homologi nukleotida antara isolat Malang dengan isolat Jakarta sebesar 52,4%, dengan isolat USA sebesar 60%, dengan isolat Jamaica sebesar 73,7%.

BAB 6

PEMBAHASAN

Infeksi virus Dengue telah menjadi masalah kesehatan yang serius pada banyak negara tropis dan subtropis, oleh karena terjadi peningkatan jumlah penderita, menyebar luasnya daerah yang terkena wabah dan manifestasi klinis berat yang merupakan keadaan gawat darurat yaitu *Dengue Haemorrhagic Fever* (DHF) dan *Dengue Shock Syndrome* (DSS) (Laue T *et al* 1999; Johnson BW *et al* , 2004). Penyakit DBD di Indonesia telah menyebar ke seluruh Propinsi, tidak saja di daerah urban, tetapi sudah menyebar ke daerah rural, bersifat endemis dan cenderung mengalami kejadian luar biasa / (KLB).

Kejadian wabah DBD pada tahun 2004 yang lalu sempat menghebohkan masyarakat terutama di wilayah DKI Jakarta dan Medan Sumatra Utara. Kasus DBD di Jawa Timur pada tahun 2005 sampai dengan bulan Agustus yang dilaporkan berjumlah 6534 dan jumlah kematian 105, tertinggi pada bulan Pebruari yaitu 1352 kasus dengan jumlah kematian 16 kasus (Ratgono A, 2005).

Diagnosis terhadap penyakit DBD sering terjadi kesalahan dengan penyakit lain seperti Flu atau tipus. Hal ini disebabkan karena infeksi virus Dengue yang menyebabkan DBD bisa bersifat asimtomatik atau tidak jelas gejalanya. Pasien DBD sering menunjukkan gejala batuk, pilek, muntah mual maupun diare. Oleh karena itu diperlukan kejelian pemahaman tentang perjalanan penyakit infeksi virus Dengue, patofisiologi dan ketajaman pengamatan klinis. Melalui pemeriksaan klinis yang baik dan lengkap, serta pemeriksaan penunjang (laboratorium) dapat membantu penegakan

diagnosis terutama bila gejala klinis kurang jelas. Diagnosis klinis yang digunakan sampai saat ini menggunakan panduan yang ditetapkan WHO 1997, demikian pula derajat/tingkat keparahan penyakitnya. Sedangkan pemeriksaan laboratorium selanjutnya adalah pemeriksaan serologi dengan metode *Captured ELISA*, dilanjutkan dengan pemeriksaan *RT-PCR*.

6.1 Distribusi Gradasi Penyakit DBD

Infeksi virus Dengue bisa bersifat asimtomatik atau berupa demam yang tidak khas, demam Dengue sampai demam berdarah Dengue dengan kebocoran plasma yang berakibat syok (Suhendro, 2004). Diagnosis DBD berdasar pemeriksaan anamnesis, fisik diagnostik dan laboratorium. Agar tidak terjadi *over diagnosis* penegakan diagnosis menggunakan kriteria WHO 1997 yaitu :

Gejala klinis :

1. Demam mendadak tinggi tanpa sebab yang jelas terus menerus selama 2 – 7 hari.
2. Perdarahan termasuk uji torniket positif, petekie, epistaksis, hematemesis dan lain-lain.
3. Hepatomegali
4. Syok

Laboratorium :

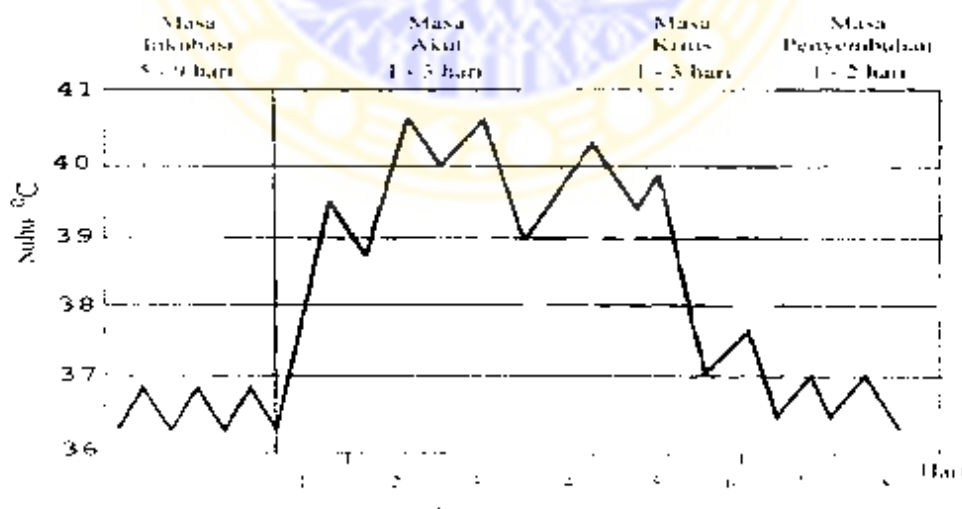
1. Trombositopenia ($\leq 100.000 / \text{mm}^3$)
2. Hemokonsentrasi (kadar Ht ≥ 20 % dari normal)

DBD ditegakkan bila terdapat dua gejala klinis ditambah satu gejala laboratorium, tetapi harus ditandai dengan adanya kebocoran plasma (peningkatan hematokrit, efusi paru, asites atau hipoproteinemia). Bila tidak terdapat kebocoran plasma maka didiagnosis sebagai demam Dengue.

Berat penyakit DBD :

- Grade I : Demam dengan uji tomiket positif
- Grade II : Derajat I disertai perdarahan spontan
- Grade III : Terdapat kegagalan sirkulasi yang ditandai nadi cepat dan lemah, atau tekanan darah turun, sianosis, kulit dingin dan lembab, hipotensi dan akral dingin
- Grade IV : Syok berat, nadi tak teraba, tekanan darah tidak dapat diukur

Perjalanan alamiah penyakit DBD terdiri dari masa inkubasi, masa akut, masa kritis dan masa penyembuhan atau rekonvalesen seperti gambar berikut (Sutaryo, 2004)



Gambar 6.1 Skema Perjalanan Penyakit Dengue (dikutip dari Sutaryo, 2004)

Pada penelitian ini di seluruh wilayah dataran rendah (Surabaya), dataran tinggi (Malang), dan dataran sedang (Jember) telah ditemukan bahwa sebagian besar adalah grade II sebesar 47,5% , grade I sebesar 40 % sedangkan grade III sebesar 7,5 % dan grade IV sebesar 5%. Temuan ini dapat digunakan sebagai pertimbangan kewaspadaan untuk penatalaksanaan penderita DBD bahwa sekitar 12,5% penderita akan masuk pada tingkat parah grade III,IV yang bisa terjadi pendarahan dan syok yang berakibat kematian.

Menurut Suroso (1999), angka kematian (*CFR*) DBD pada tahun 1994 sebesar 2,5% sudah dapat ditekan menjadi 2% pada tahun 1998.

Dengan penatalaksanaan penderita yang baik angka kematian dapat ditekan serendah mungkin. Apabila penderita datang di poliklinik pada hari pertama demam, harus dipikirkan diagnosis banding yang lain, misalnya infeksi saluran pernapasan bagian atas atau Chikungunya. Tidak mungkin diagnosis pasti infeksi Dengue ditegakkan pada hari pertama sampai ke tiga demam. Diagnosis DBD mutlak harus dilakukan pemeriksaan laboratorium darah (Sutaryo, 2004).

Untuk pengelolaan di rumah sakit diperlukan tindakan medis berdasar monitor klinis dan laboratoris. Monitor klinis dilakukan untuk mengevaluasi secara serial keadaan umum penderita, ada syok atau tidak, bila syok dievaluasi perbaikannya, evaluasi kebocoran cairan dan plasma, evaluasi perdarahan terutama perdarahan gastrointestinal, evaluasi komplikasi yang terjadi yaitu : ensefalopati, gagal jantung, miokarditis, gagal paru, efusi pleura, edema pulmonum, gagal hati, hepatitis, gagal ginjal akut, gagal pembekuan darah/DIC dan sepsis. Monitor ini dilakukan setiap 6-8 jam. Monitor laboratoris sangat penting dan harus dilakukan serial yaitu :

pemeriksaan hematokrit, plasma protein, dan jumlah trombosit. Pemeriksaan hematokrit dan plasma protein dilakukan tiap 24 jam sedang pada masa kritis hari keempat sampai ke enam tiap 8-12 jam. Pada yang berat atau DIC dapat dikerjakan tiap 4-6 jam. Pemeriksaan trombosit tiap 24 jam pada masa akut dan tiap 12 jam pada masa kritis (Sutaryo, 2004)

6.2 Pemeriksaan Serologi

Karena banyak gejala klinis infeksi Dengue yang tidak spesifik terhadap Dengue, maka diagnosis serologi sangat penting untuk konfirmasi penyebab penyakit. Secara umum, laboratorium menggunakan pengujian *Haemagglutination Inhibition* (HAI) untuk mendeteksi infeksi primer atau sekunder. Namun metode ini agak rumit oleh karena harus menggunakan sepasang spesimen serum yang diambil dari pasien dengan rentang waktu sekurang-kurangnya 7 hari. Pada penelitian ini pemeriksaan serologi menggunakan metode *Captured ELISA*, dengan pertimbangan lebih cepat dan lebih sederhana yaitu cukup menggunakan spesimen serum tunggal dan sekaligus dapat membedakan infeksi Dengue primer atau sekunder melalui pengujian antibodi anti-dengue IgM dan IgG.

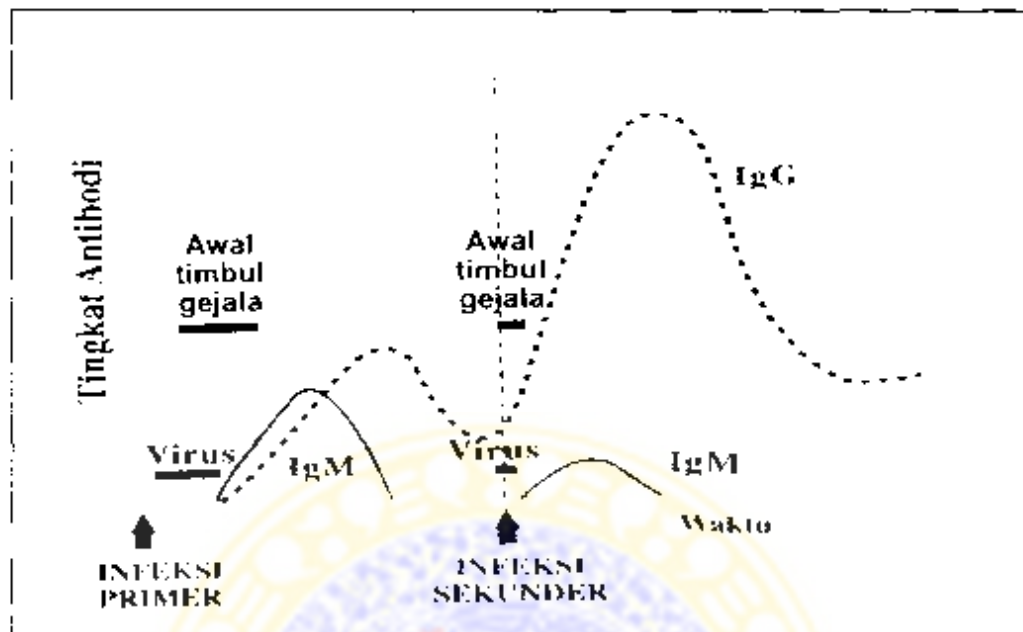
Setelah virus Dengue masuk ke dalam tubuh manusia, virus berkembang biak dalam sel retikuloendotelial yang selanjutnya diikuti viraemia yang berlangsung 5-7 hari. Akibat infeksi virus ini muncul respon imun baik humoral maupun selular, antara lain anti-neutralisasi, anti-hemagglutinin, anti-komplemen. Antibodi yang muncul pada umumnya adalah IgM dan IgG (Suroso, 2004). Antibodi anti-dengue IgM akan timbul lebih dulu dari pada antibodi anti-dengue IgG, dan biasanya sudah

dapat terdeteksi pada hari ke-5, meningkat pada minggu pertama sampai dengan ketiga, dan menghilang setelah 60-90 hari. Timbulnya IgM ini dapat bervariasi pada beberapa orang. Pada beberapa orang dapat timbul pada hari ke 2-4 dari jalannya penyakit tetapi dapat pula baru timbul pada hari ke 7-8 (Hadinegoro SR, 2000).

Pada infeksi primer titer IgM dapat jauh lebih tinggi dibandingkan pada infeksi sekunder. Pada beberapa infeksi primer IgM dapat bertahan di dalam darah sampai 90 hari setelah infeksi, tetapi pada kebanyakan penderita IgM sudah akan menurun dan hilang pada hari ke 60. Jika pengambilan spesimen akut terlalu dini ada kemungkinan IgM belum timbul sehingga didalami test hasilnya akan negatif. Demikian pula sebaliknya IgM positif masih belum tentu juga karena ada kemungkinan infeksi terjadi 60-90 hari yang lalu. Disinilah diperlukan kehati-hatian didalam menginterpretasi hasil tersebut.

Kinetik kadar IgG berbeda dengan kinetik kadar antibodi IgM, oleh karena itu kinetik antibodi IgG harus dibedakan antara Infeksi primer dan sekunder. Pada infeksi primer antibodi IgG meningkat sekitar hari ke-14, sedangkan pada infeksi sekunder antibodi IgG meningkat pada hari ke-2, oleh karena itu diagnosis dini infeksi primer hanya dapat ditegakkan dengan mendeteksi antibodi IgM setelah hari ke-5, diagnosis infeksi sekunder dapat ditegakkan lebih dini dengan adanya peningkatan antibodi IgG dan IgM yang cepat.

Timbulnya antibodi IgM dan IgG tersebut dapat digambarkan seperti dibawah ini :



Gambar 6.2 Respon Imun Infeksi Virus Dengue
(dikutip dari Suroso, 2004)

Hasil pemeriksaan pada penelitian ini untuk seluruh penderita adalah IgM negatif sebesar 46,25%, equivocal sebesar 6,25% , positif sebesar 47,5%. IgM equivocal pada penelitian ini dianggap negatif.

Penentuan infeksi primer ditandai dengan timbulnya IgM anti-dengue > 1,1 unit atau IgM positif. Sedangkan penentuan infeksi sekunder ditandai dengan timbulnya IgG anti-dengue yang cukup tinggi yang telah di standarisasi untuk infeksi sekunder, setara dengan uji HAI > titer 1/2560. IgG anti-dengue dikatakan positif bila > 2,2 unit, equivocal dalam penelitian ini dianggap negatif. Khusus untuk infeksi sekunder Dengue, dikatakan positif bila IgG > 2,2 unit , baik disertai IgM positif, equivocal maupun negatif.

Hasil pemeriksaan pada penelitian ini untuk seluruh penderita adalah IgG negatif sebesar 41,25%, equivocal sebesar 5%, positif sebesar 53,75%. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa sebesar 53,75% penderita telah mengalami infeksi sekunder. Hal ini harus menjadi pertimbangan untuk penatalaksanaan penderita DBD oleh karena infeksi sekunder oleh serotipe virus Dengue yang berbeda dari infeksi primernya akan memperparah derajat penyakit sebagaimana teori *secondary heterologous infection* yang masih banyak dianut saat ini. Hasil temuan tersebut juga menyatakan bahwa ketiga wilayah tersebut adalah endemik DBD

6.3 Hasil Pemeriksaan PCR

Tujuan pemeriksaan PCR adalah untuk menentukan adanya RNA virus Dengue pada serum penderita yang sekaligus untuk menentukan serotipe virus Dengue yang ditemukan. Hal ini penting untuk dapat membuat pola distribusi serotipe virus Dengue di berbagai wilayah khususnya yang berbeda kondisi geografi dan klimatologinya, seperti daerah dataran rendah, dataran sedang dan dataran tinggi. Hingga saat ini telah diketahui ada 4 serotipe virus Dengue yaitu : Den-1, Den-2, Den-3 dan Den-4. Laporan WHO (2000), menyatakan bahwa seluruh wilayah tropis di dunia telah menjadi hiperendemis dengan ke empat serotipe virus secara bersamaan di wilayah-wilayah Amerika, Asia Pasifik dan Afrika. Di Queensland Utara Australia, telah dilaporkan keberadaan tiga serotipe Den-1, Den-2 dan Den-3 serta di Timur Tengah terdapat dua serotipe Den-1 dan Den-2.

Serotipe virus Dengue yang bersirkulasi di Bangkok, Thailand ternyata berbeda pada kurun waktu yang berbeda pula. Den-1 prodominan pada tahun 1990-1992, Den-2 pada tahun 1973 - 1986 dan 1988 - 1989, Den-3 pada 1987 dan 1995 - 1999,

Den-4 pada tahun 1993 - 1994. Hanya Den-3 yang berkaitan dengan terjadinya wabah (Nisalak A. *et al.*, 2003).

Seluruh serotipe Virus Dengue terdapat di Indonesia. Den-3 merupakan serotipe yang paling sering ditemui selama terjadinya KLB di banyak daerah, diikuti Den-2, Den-1 dan Den-4. Den-3 juga merupakan serotipe yang paling dominan yang berhubungan dengan tingkat keparahan penyakit, diikuti Den-2 (Suroso, 1999).

Data laporan dari berbagai negara tersebut menggambarkan betapa uniknya, bahwa masing-masing serotipe virus Dengue akan memicu terjadinya wabah/KLB berdasar geografi dan periode waktu yang berbeda.

Hasil pemeriksaan PCR pada penelitian ini adalah untuk seluruh penderita DBD. PCR positif sebesar 30% dan PCR negatif sebesar 70%. Telah ditemukan hampir seluruhnya sebesar 95,8% serotipe Den-2 dan sebesar 4,2% Den-3. Penemuan Den-3 ini bersama-sama pada satu sampel serum penderita dengan Den-2, yaitu terjadi infeksi ganda pada penderita dengan diagnosis klinis grade IV.

Hasil penelitian ini telah ditemukan bahwa di Jawa Timur khususnya di 3 daerah penelitian yaitu Surabaya, Malang dan Jember serotipe dominan adalah Den-2, dan adanya infeksi ganda oleh dua serotipe yang berbeda yaitu Den-2 dan Den-3 dapat memperparah perjalanan penyakitnya.

Fenomena kejadian infeksi ganda Den-2 dan Den-3 ini akan menarik perhatian, bagaimana hal tersebut bisa terjadi. Apakah penderita tersebut digigit oleh 2 nyamuk *Aedes aegypti* yang berbeda, dimana yang satu mengandung virus Den-2 dan yang lainnya mengandung virus Den-3, atau virus Den-2 dan Den-3 tersebut secara bersama ada didalam tubuh satu nyamuk *Aedes aegypti*, sehingga pada waktu

menggigit penderita, kedua jenis virus tersebut masuk kedalam tubuh penderita sekaligus.

6.4 Hubungan Diagnosis Klinis DBD dengan Hasil Pemeriksaan Serologi dan PCR

Sebagaimana diketahui bahwa meskipun WHO telah menetapkan pedoman untuk menegakkan diagnosis DBD namun untuk memberikan konfirmasi lebih lanjut terhadap diagnosis klinis tersebut perlu dilakukan pemeriksaan lanjutan berupa pemeriksaan serologi dan PCR. Hasil penelitian ini telah menemukan bahwa dari 80 penderita DBD secara klinis sebesar 47.5% IgM positif, sebesar 53.8% IgG positif dan IgM/IgG positif sebesar 62.5% . PCR positif sebesar 30%. Penelitian Thomas Laue (1999), menemukan RNA virus Dengue terdeteksi hanya pada satu orang diantara 5 penderita (20%) yang IgM positif tetapi IgG-nya negatif. Sebaliknya virus Dengue dapat ditemukan pada hampir seluruh penderita (17 dari 18) bila sampel diambil segera setelah timbulnya gejala sebelum antibodi terbentuk. Namun bila dilakukan kombinasi pemeriksaan serologi dan PCR hasilnya sebesar 72.5% positif. Disimpulkan bahwa tingkat sensitifitas pemeriksaan serologi sebesar 62.5%, cukup bagus untuk membantu menegakkan diagnosis infeksi Dengue. Apabila dikombinasi dengan pemeriksaan PCR sensitifitasnya menjadi lebih tinggi sebesar 72.5%, namun kendalanya teknik pemeriksaan PCR yang tidak sederhana menyebabkan belum semua instalasi laboratorium didacrah dapat menyediakan peralatan maupun tenaga ahlinya.

6.5 Analisis Homologi Nukleotida

Dari hasil sekuensing dapat dilihat bahwa isolat dari Jawa Timur yaitu dari Surabaya, Malang, Jember terdapat homologi lebih dari 80%, bila dibandingkan dengan isolat dari Jakarta, USA dan Jamaica homologinya kurang dari 73%. Untuk menentukan pola kekerabatan serotipe virus Dengue tersebut perlu dilakukan analisis lanjutan berupa "*Phylogenetic Analysis*". Sekuensing dari berbagai regio didalam genom Den tersebut ditujukan untuk menentukan variasi genetik dari virus Dengue dan untuk mengkarakterisasi sub tipe didalam masing-masing serotipenya. Karakterisasi sub tipe berguna didalam epidemiologi molekuler sehingga dapat dipakai untuk memonitor distribusi dari serotipe dan sub tipe yang bersirkulasi di daerah endemis. Hal ini amat penting untuk melakukan kajian apakah ada tendensi perubahan serotipe yang dominan maupun adanya evolusi molekuler berdasar perubahan waktu dan kondisi geografi suatu daerah, serta prediksi terhadap kejadian luar biasa/wabah.

6.6 Upaya Menurunkan Angka Kesakitan dan Angka Kematian Penyakit DBD

Penyakit infeksi virus Dengue merupakan hasil interaksi multifaktorial, yaitu *Agent* (virus Dengue), *Host* (manusia), vektor nyamuk *Aedes* dan *Environment* (lingkungan).

Faktor virologis : virus Dengue beragam dalam jumlah, serotipe dan virulensinya yang menginfeksi manusia maupun vektor, mungkin juga telah mengalami mutasi genetik sehingga lebih meningkat virulensinya.

Faktor Manusia : individual dan komunitas, pertumbuhan penduduk yang pesat di wilayah perkotaan, antara lain karena urbanisasi, mobilitas yang meningkat terkait dengan pertambahan jumlah dan kualitas sarana transportasi yang semakin cepat dan modern, perilaku dan gaya hidup yang tidak mendukung terciptanya lingkungan bersih, bebas jentik dan gigitan nyamuk, respon imun yang beragam karena banyak faktor seperti umur, gizi, dan genetik.

Faktor nyamuk vektor : nyamuk *Aedes* yang sangat tinggi kapasitas vektorialnya, karena kerentanan tinggi terhadap infeksi virus Dengue, sangat antropofilik, kemampuan reproduktifnya sangat tinggi sehingga densitasnya tinggi sepanjang bulan, dan rerata masa hidupnya panjang.

Faktor lingkungan : klimatologi (kelembaban udara yang optimal, temperatur udara rata-rata meningkat, curah hujan rata-rata per tahun meningkat), pemanasan global yang mendukung secara optimal kapasitas vektorial nyamuk *Aedes* dalam hal kepadatan, kemampuan dan lamanya hidup, yang menunjang perbanyakannya virus Dengue dalam nyamuk vektornya (Mardihusodo SJ, 2004).

Memperhatikan faktor-faktor yang mempengaruhi terjadinya penyakit DBD tersebut maka upaya untuk menurunkan angka kesakitan dan angka kematian penyakit DBD akan terfokus pada beberapa target. Target spesifik mestinya adalah *Agent* penyebab penyakit yaitu virus Dengue, tetapi hingga saat ini belum ada obat antiviral yang spesifik untuk Dengue, serta belum ada vaksin pencegah yang efektif untuk DBD. Maka yang lebih mungkin adalah mengurangi laju penularan (*transmission rate*) dengan cara *vector control* terhadap nyamuk *Aedes*, serta pengelolaan lingkungan yang sehat.

Dalam penanggulangan penularan DBD di masyarakat, pengendalian nyamuk vektornya, khususnya *Aedes aegypti*, menduduki posisi strategis, dalam jangka pendek untuk penghentian penularan virus Dengue yang dibawa vektor, dan dalam jangka panjang untuk pencegahan perluasan daerah endemis. Telah dicoba beberapa cara, antara lain digunakan cara-cara kimia, cara hayati dan pengelolaan lingkungan. Cara-cara kimia yang lazim adalah penggunaan larvisida temefos dan imagosida malathion dalam bentuk aplikasi pengasapan. Cara-cara hayati meliputi penggunaan musuh-musuh alami seperti predator (ikan pemangsa larva), *Bacillus thuringiensis israelensis*. Cara-cara pengelolaan lingkungan meliputi pelaksanaan PSN dengan melaksanakan 3M (menguras, mengubur dan menutup) tempat penampungan air dalam lingkup rumah tangga di masyarakat.

Sedangkan untuk mengurangi angka kematian penderita DBD diperlukan pengelolaan kasus-kasus DBD sesuai dengan standar prosedur/tatalaksana terapi dan perawatan yang baku, tentunya perlu ditunjang dengan fasilitas dan SDM yang memadai. Hal tersebut tidak mungkin dibebankan kepada satu sektor saja misalnya Departemen Kesehatan, namun harus ada kerjasama atau koordinasi lintas sektor.

BAB 7**KESIMPULAN DAN SARAN****7.1. KESIMPULAN**

Dari hasil penelitian serta pembahasan dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut :

1. Pada ke tiga daerah penelitian Surabaya untuk dataran rendah, Malang untuk dataran tinggi, dan Jember untuk dataran sedang yang secara geografis berbeda ternyata ditemukan serotipe Den-2 yang dominan yaitu sebesar 95.8% dan serotipe Den-3 sebesar 4.2% secara bersama-sama ditemukan pada satu penderita dengan diagnosis klinis grade IV di Surabaya. Infeksi ganda ini Den-2 dan Den-3 ternyata memperparah perjalanan penyakit.
2. Karakterisasi molekuler serotipe Den-2 yang ditemukan di daerah Surabaya, Malang, dan Jember ternyata memiliki homologi lebih dari 80%, sedangkan bila dibandingkan dengan isolat Den-2 dari Jakarta , USA dan Jamaika homologinya kurang dari 73%.
3. Gradasi penyakit DBD sebagian besar adalah grade I dan grade II sebesar 87.5% sedangkan grade III dan grade IV sebesar 12.5%. Maka perlu kewaspadaan untuk penatalaksanaan penderita bahwa sebesar 12,5% penderita mempunyai resiko untuk masuk pada tingkat kesakitan parah yang bisa terjadi pendarahan dan syok yang berakibat kematian.
4. Pemeriksaan serologi dengan metode *Captured ELISA* mempunyai sensitifitas yang cukup baik yaitu sebesar 62.5%. Maka masih layak dianjurkan sebagai metode penunjang untuk penegakan diagnosis DBD.

5. Sebelum ditemukannya obat antiviral untuk virus Dengue, maka upaya menekan angka kesakitan dan kematian DBD lebih terfokus pada upaya pengendalian vektor nyamuk *Aedes aegypti* dan pengelolaan lingkungan yang sehat.

7.2. SARAN

1. Perlu kerjasama atau koordinasi lintas sektor untuk menurunkan angka kesakitan dan kematian penyakit demam berdarah Dengue
2. Perlu dilakukan penelitian lanjutan yang berkesinambungan tentang penyakit DBD ini antara lain untuk :
 - a. Menemukan metode yang efektif untuk pemberantasan vektor.
 - b. Menemukan metode untuk diagnosis dini yang lebih cepat dan tepat.
 - c. Menemukan prototipe vaksin Dengue yang lebih sesuai dengan karakteristik virus Dengue daerah setempat.
 - d. Mempelajari patogenesis dan imunologi penyakit DBD yang hingga saat ini masih belum jelas benar, termasuk biologi molekuler tentang kemungkinan adanya mutasi genetik virus.

DAFTAR PUSTAKA

- Artana WT, Sembiring L, Murdiyatmo U, Lanni F, 1991. Petunjuk Laboratorium : Isolasi, Purifikasi, Digesti dan Amplifikasi DNA, Kursus Singkat PCR.
- Aryati ,2000; Aspek Laboratoris Demam Berdarah Dengue. Seminar Demam Berdarah Dengue. TDC-Unair, Surabaya. hal. 24 - 28.
- Aryati, 2003. Perkembangan Diagnostik Demam Tifoid dan Demam Dengue / DBD. Makalah Lengkap Seminar Kewaspadaan terhadap Demam pada penyakit Typhus Abdominalis, Demam Dengue / DBD dan Malaria serta Penggunaan tes diagnostik laboratorium untuk deteksi dini. TDC-Unair.
- Ausubel FM, Brent R, Kingston RE, Moor DD, 1992. Short Protocols in Molecular Biology, 3rd ed. John Wiley & Sons, Inc.pp 2-1 ... 2-6.
- Azeredo EL, Zaqne SM, Santiago MA, Gouvea AS, 2001. Characterisation of Lymphocyte Response And Cytokine Pattern In Patients With Dengue Fever. Immunobiology, Dec; 204(4) : 494-507.
- Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Depkes RI, 2004. Kajian Masalah Kesehatan, Demam Berdarah Dengue.
- Bhakdi S, Kazatchkine MD, 1990. Pathogenesis Of Dengue : An Alternative Hypothesis; Southeast Asian J Trop Med Public Health, Dec; 21(4) : 652 - 657.
- Braga EL, Moura P, Pinto LM, Ignacio SR, 2001. Detection Of Circulant Tumor Necrosis Factor-Alpha, Soluble Tumor Necrosis Factor p75 and Interferon-Gamma In Brazilian Patients with Dengue Fever. Mem Inst Oswaldo Cruz, Feb; 96(2) : 229 - 32.
- Couvelard A, Marianneau F, Bedel C, 1999. Report of fatal case of Dengue infection with Hepatitis : Demonstration of Dengue antigens in Hepatocytes and Liver apoptosis. Hum Pathol, Sep; 30(9) : 1106 - 1110.

- Dachlan YP, 1999. Research, Training and Health Education Program of Dengue Haemorrhagic Fever at the Tropical Disease Center (TDC) Airlangga University, Surabaya, Indonesia. Proceeding International Seminar on Dengue Fever / Dengue Haemorrhagic Fever, TDC Airlangga University, Surabaya, Oct. p.1-3.
- Davis LG, Kuehl WM, Battey JF, 1994. Basic Methods in Molecular Biology, 2nd ed. Prentice-Hall International Inc. pp : 119 - 128.
- de Andriano RM, Botet MV, Gubler DJ, Garcia C, 1985. The absence of Dengue virus in the skin lesions of Dengue fever. *Int J Dermatol*, Jan ; 24(1) : 48 - 51.
- Despres P, Frenkiel MP, Ceccaldi PE, 1998. Apoptosis in the mouse Central Nervous System in response to infection with mouse-neurovirulent Dengue virus. *J Virol*, Jan; 72(91) : 823-829.
- Gubler DJ, 1996. Serologic Diagnosis of Dengue / Dengue Haemorrhagic Fever. *Dengue Bulletin*, vol 210.
- Hadinegoro SR, Soegijanto S, Wuryadi S, Soeroso Th, 2000. Tata Laksana Demam Dengue / Demam Berdarah Dengue Pada Anak. Naskah lengkap demam berdarah Dengue, Fak Kedokteran Univ. Indonesia, Jakarta. hal 81 - 91.
- Hadinegoro SR, 1999. Tata Laksana Demam Dengue / Demam Berdarah Dengue. Depkes RI. hal 8 - 14.
- Hadinegoro SR, Satari HI, 2000. Demam Berdarah Dengue. Naskah lengkap Pelatihan bagi Pelatih Dokter Spesialis Anak & Dokter Spesialis Penyakit Dalam dalam Tatalaksana Kasus DBD. FKUI. hal 60-61.
- Halstead SB, 1988. Pathogenesis of Dengue : Challenges to Molecular Biology. *Science*, Jan 29 ; 239 (4839) : 476 - 481.
- Halstead SB, 1989. Antibody, Macrophages, Dengue virus infection, Shock and Haemorrhage : a pathogenetic cascade. *Res Infect Dis*. May ; 11 Halstead SB : S830 S839.

- Huerre MR, Lan NT, Marianneau P. 2001. Liver histopathology and Biological correlates in five case of fatal Dengue Fever in Vietnamese children. *Vichows Arch.* Feb ; 438 (2) 107 - 115.
- Igarasi A, 1999. Current problems and future challenges of Dengue virus infection with special reference to the pathogenesis of Dengue hemorrhagic fever. *Proceeding international seminar on Dengue fever/Dengue haemorrhagic fever.* TDC Airlangga University. p 6-9.
- Johnson BW, Chambers TV, Crabtree MB, Gujrahoo F, Monath TP, Miller BR, 2004. Analysis of the replication kinetics of the Chimerivax™ - Den 1,2,3 4 Tetravalent virus mixture in *Aedes aegypti* by real-time reverse transcriptase-polymerase chain reaction. *Am J Trop Med Hyg.* 70(1) : 89-97.
- Kiiks S, 1990. Antibody - enhanced infection of monocytes as the pathogenetic-mechanism for severe Dengue illness. *AIDS Res Hum Retroviruses*, 2990 ; 6 (8) : 993 - 998.
- Kuntarijanto, 1998. *Epidemiologi dan Penanggulangan Penyakit DBD di Jawa Timur Tahun 1993 s/d 1997.* Naskah lengkap seminar demam berdarah Dengue, TDC-Unair, Surabaya, September. hal. 25.
- Kurane I, Innis BL, Hoke CH Jr, Eckels KH, 1995. T cell activation in vivo by Dengue virus infection. *J Clin Lab Immunol* : 466 19 : 35 - 40.
- Lee HL, Mustafakamal, Rohani A, 1997. Does transovarial transmission of Dengue virus occur in Malaysian *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*, vol 28 no. 1.
- Lei HY, Yeh TM, Liu HS, Lin YS, Chen SH, 2001. Immunopathogenesis of Dengue virus infection. *J Biomed Sci*, Sept. ; 6 (5) : 377 - 388.
- Laue T, Emmerich P, Schmitz H, 1999. Detection of Dengue virus RNA in patients after primary or secondary Dengue infection by using the TaqMan Automated amplification system. *J Clin Microbiol.* 37 (8) : 2543 - 2547.

- Marchette NJ, Halstead SB, O'Rourke T, 1997. Effect of immune status on Dengue 2 virus replication in cultured leucocytes from infant and children. *Infect Immun*, 24 (1) : 47 - 50.
- Mardihusodo SJ, 2004. Cara-cara inovatif pengamatan dan pengendalian vektor demam berdarah Dengue. Naskah Seminar Kedokteran Tropis. Pusat Kedokteran Tropis Fakultas Kedokteran UGM, Yogyakarta, hal 2-4.
- Marianneau P, Flammand M, Courageot MP, 1998. Apoptotic cell death in response to Dengue virus infection : What are the consequences of viral pathogenesis ? *Ann Biol Clin (Paris)*, 56 (4) : 395 - 405.
- Nisalak A, Endy TP, Nimmannitya S, Kalayanarooy S, Thisyakorn U, Scott RM, Burke DS, Hoke CH, Innis BL, Vaughn DW, 2003. Serotype-specific Dengue virus circulation and Dengue disease in Bangkok, Thailand from 1973 to 1999. *Am J Trop Med Hyg*, 68(2), p 191-202
- Parwati SB, 2002. Kewaspadaan Terhadap Gejala Dini Serta Tatalaksana Demam Dengue / Demam Berdarah Dengue. Naskah lengkap seminar kewaspadaan terhadap demam, Surabaya. hal 3.
- Prida Malasit, 1999. Complement system in the pathogenesis of shock and leakage in Dengue Haemorrhagic Fever and / or Dengue Shock Syndrome. *Proceeding International Seminar on Dengue Fever / Dengue Haemorrhagic*. TDC-Airlangga University, Surabaya, Oct 28-29th. p. 65.
- Rantam FA, 1998. Aspek Virologi Demam Berdarah Dengue (DBD). Naskah Lengkap Seminar Demam Berdarah Dengue, TDC-Unair, Surabaya, Sep. hal. 25.
- Ratgono A, Jaeli A, Endahwati L, Arifin J, Murtini, Budiono S, 2005. Pola Distribusi Penyakit Infeksi Virus (Dengue, Chikungunya, Polio, Flu Burung) di Jawa Timur : Ancaman dan Kebijakan Penanggulangannya. Naskah seminar mewaspadaai penyakit infeksi virus yang sedang berkecamuk saat ini. Tropical Disease Center Unair. hal 3.

- Rosen L, 1987. Mechanism of vertical transmission of the Dengue virus in Mosquitoes. CR Acad Sci III, 306 (13) : 347 - 350.
- Salamun, 1998. Beberapa Aspek Entomologis Penyakit Demam Berdarah Dengue di Indonesia. Naskah lengkap seminar demam berdarah Dengue. TDC-Unair, Surabaya. hal 39 - 45.
- Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T, 1989. Molecular Cloning. Cold Spring Harbor Laboratory Press .
- Sazaly AB, 1999. Induction of Apoptosis in Dengue virus infection. Proceeding International Seminar on Dengue Fever / Dengue Haemorrhagic. TDC-Airlangga University, Surabaya. p. 56.
- Singh UB, Seth P, 2001. Use of Nucleotide of Genomic cDNA Fragments of The Capsid/Premembrane Junction Region For Molecular Epidemiology Of Dengue Type-2 Viruses. South East Asian J.
- Soegijanto S, 1998. Penatalaksanaan dan Sistem Rujukan Penderita Demam Berdarah Dengue Pada Anak . Naskah lengkap seminar demam berdarah Dengue. TDC-Unair, Surabaya. hal 67 - 71.
- Soegijanto S, 1999. Masalah Penyakit Demam Berdarah Dengue di Indonesia. Demam Berdarah Dengue. hal 5.
- Soegijanto S, 2000. Pola Klinis Setiap Serotipe Virus Dengue. Seminar demam berdarah Dengue. TDC-Unair, Surabaya. hal 32 - 41.
- Soegijanto S, 2004. Demam Berdarah Dengue. Airlangga University Press, Surabaya. hal 99.
- Suharti C, 2001. Dengue Haemorrhagic Fever in Indonesia, Thesis, Katholieke Universiteit Nijmegen Netherlands. p.ii.
- Suhendro, 2004. Penatalaksanaan Demam Berdarah Pada Pasien Dewasa. Naskah seminar Kedokteran Tropis, Pusat Kedokteran Tropis Fakultas Kedokteran UGM Yogyakarta.
- Suwarno, 1998. Demam Berdarah (Dengue) pada Anak. Jakarta. UI-Press.

- Sungkar S, 2005. Pemberantasan Vektor Demam Berdarah Dengue. *Majalah Kedokteran Indonesia*. No. 5 Vol 55. hal. 407.
- Suroso Th. 1999. Epidemiological Situation of Dengue Haemorrhagic Fever and It's Control in Indonesia. *Proceeding International Seminar on Dengue Fever/ Dengue Haemorrhagic*. TDC-Airlangga University, Surabaya. p.11-14.
- Suroso, Chrishantoro T, 2004. Viraemia dan Respon Antibodi. *Informasi Produk*. Panbio Dengue Duo IgM & IgG Rapid Strip Test. hal 11.
- Sutaryo, 1999. Endothelial Cells in Dengue virus infection. *Proceeding International Seminar on Dengue Fever / Dengue Haemorrhagic*. TDC-Airlangga University, Surabaya. p. 88.
- Sutaryo, 2000. Perkembangan Patogenesis Demam Berdarah Dengue. *Naskah lengkap demam berdarah Dengue*, Jakarta. F.K.U.I. hal 34.
- Sutaryo, 2004. Dengue, *MEDIKA*, Fak. Kedokteran UGM, Yogyakarta. hal 54.
- Sutaryo, 2004. Pengelolaan Demam Berdarah Dengue Pada Anak. *Naskah seminar Kedokteran Tropis*, Pusat Kedokteran Tropis Fakultas Kedokteran UGM, Yogyakarta. Hal 3.
- Suwandoyo E, 1998. Demam Berdarah Dengue Pada Orang Dewasa, Gejala Klinik dan Penatalaksanaannya. *Naskah lengkap seminar demam berdarah Dengue*. TDC-Unair, Surabaya. hal 52 - 55.
- Tio PH, Prida Malasit, 1995. Anti-Dengue IgG Detection by an Indirect ELISA. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*, vol 26. no. 4.
- Tumbelaka AR, 1999. Diagnosis Demam Dengue/Demam Berdarah Dengue. *Demam Berdarah Dengue*, FKUI. Hal 73.

- Walker JM, Gingold EB, 1993. *Molecular Biology and Biotechnology*, 3rd ed. The Royal Society of Chemistry. P. 192 - 196.
- WHO dan Depkes RI, 2000. *Pencegahan dan Penanggulangan Penyakit Demam Dengue dan Demam Berdarah Dengue*.
- WHO, 1997. *Dengue Haemorrhagic Fever, Diagnosis, Treatment, Prevention and Control*. 2nd ed. P. 12 - 47.





PANITIA KELAIKAN ETIK
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA
RSUD Dr. SOETOMO SURABAYA

KETERANGAN KELAIKAN ETIK
("ETHICAL CLEARANCE")

No. 26/Panke.EEK/2003

PANITIA KELAIKAN ETIK FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA - RSUD
Dr. SOETOMO SURABAYA, TELAH MEMPELAJARI SECARA SEMPURNA RANCANGAN
PENELITIAN YANG DIUSULKAN, MAKA DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA PENELITIAN
BERJUDUL :

" Pola Distribusi Serotipe Virus Dengue pada
Beberapa Daerah Endemik Di Jawa Timur
Dengan Kondisi Geografi Berbeda "

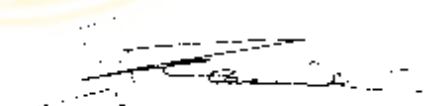
PENELITI UTAMA : Dr. Soedjoko Hariadi, MS

UNIT / LEMBAGA / TEMPAT PENELITIAN :

DINYATAKAN LAIK ETIK.

31 JUL 2003
SURABAYA,

KETUA :


Prof. dr. B.K. Hariadi, SpOC-EPM

PENOLAKAN TINDAKAN MEDIS

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama :
 Umur / Kelamin :
 A l a m a t :
 Bukti diri / KTP :

dengan ini menyatakan dengan sesungguhnya telah menyatakan

PENOLAKAN

Untuk dilakukan tindakan medis berupa : **pengambilan darah** untuk penelitian oleh dr.Soedjoko Hariadhi, MS. terhadap diri saya sendiri/istri/suami/anak/ayah/ibu saya, dengan

Nama :
 Umur / Kelamin :
 A l a m a t :
 Bukti diri / KTP :
 Dirawat di :
 No. Rekam Medis :

Saya juga telah menyatakan dengan sesungguhnya dengan tanpa paksaan bahwa saya :

- Telah diberikan informasi dan penjelasan serta peringatan akan bahaya, resiko serta kemungkinan-kemungkinan yang timbul apabila tidak dilakukan tindakan medis berupa
- Telah saya pahami sepenuhnya informasi dan penjelasan yang diberikan dokter.
- Atas tanggung jawab dan resiko saya sendiri tetap menolak untuk dilakukan tindakan medis yang dianjurkan dokter

..... tgl bulan tahun

Saksi-saksi

Dokter

Yang membuat pernyataan

1
 (.....) (.....) (.....)

2
 (.....)

PROSEDUR TETAP (PROTAP) PENGAMBILAN DARAH PENELITIAN SOEDJOKO HARIADHI, dr, MS. 2003

PERALATAN

1. Tourniquet (alat pembendung)
2. Kapas alkohol 70%
3. Semprit steril 10 ml
4. Tabung steril/vacutainer berisi antikoagulan Na.sitras (3,8% = 0.106 M = 31,3 g/L $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) atau EDTA 1-2 mg/ml darah atau heparin 15-20 IU/ml darah), bertutup.
5. Tabung steril tanpa antikoagulan, bertutup
6. Tabung eppendorf kecil @ 3 ml, 3 buah untuk masing-masing pasien.
7. Formulir identitas pasien
8. Kertas label

PROSEDUR PENGAMBILAN

1. Isi formulir identitas pasien
2. Siapkan peralatan, beri label nama, umur, no.register pada tabung. Untuk tabung steril berisi antikoagulan Na.sitras/EDTA/heparin dikode A, sedang tabung steril tanpa antikoagulan dikode B.
3. Pasang tourniquet pada lengan atas, kemudian pilih vena yang tepat untuk pengambilan darah, biasanya vena mediana cubiti
4. Lakukan desinfeksi pada kulit di daerah yang akan diambil dengan menggunakan alkohol 70%. Biarkan kering.
5. Tusukkan jarum ke dalam vena, ambil darah sebanyak 8-10 ml, dibagi dua.
6. Darah 4-5 ml pertama dimasukkan ke dalam tabung steril berisi Na.sitras/EDTA/heparin. Untuk Na sitras 0,5 ml : darah 4,5 ml (perbandingan 1:9).
7. Darah 4-5 ml berikutnya dimasukkan ke dalam tabung steril tanpa antikoagulan.
8. Lepaskan tourniquet dan cabut jarum dari vena.
9. Segera tekan bekas tusukan dengan kapas kering.

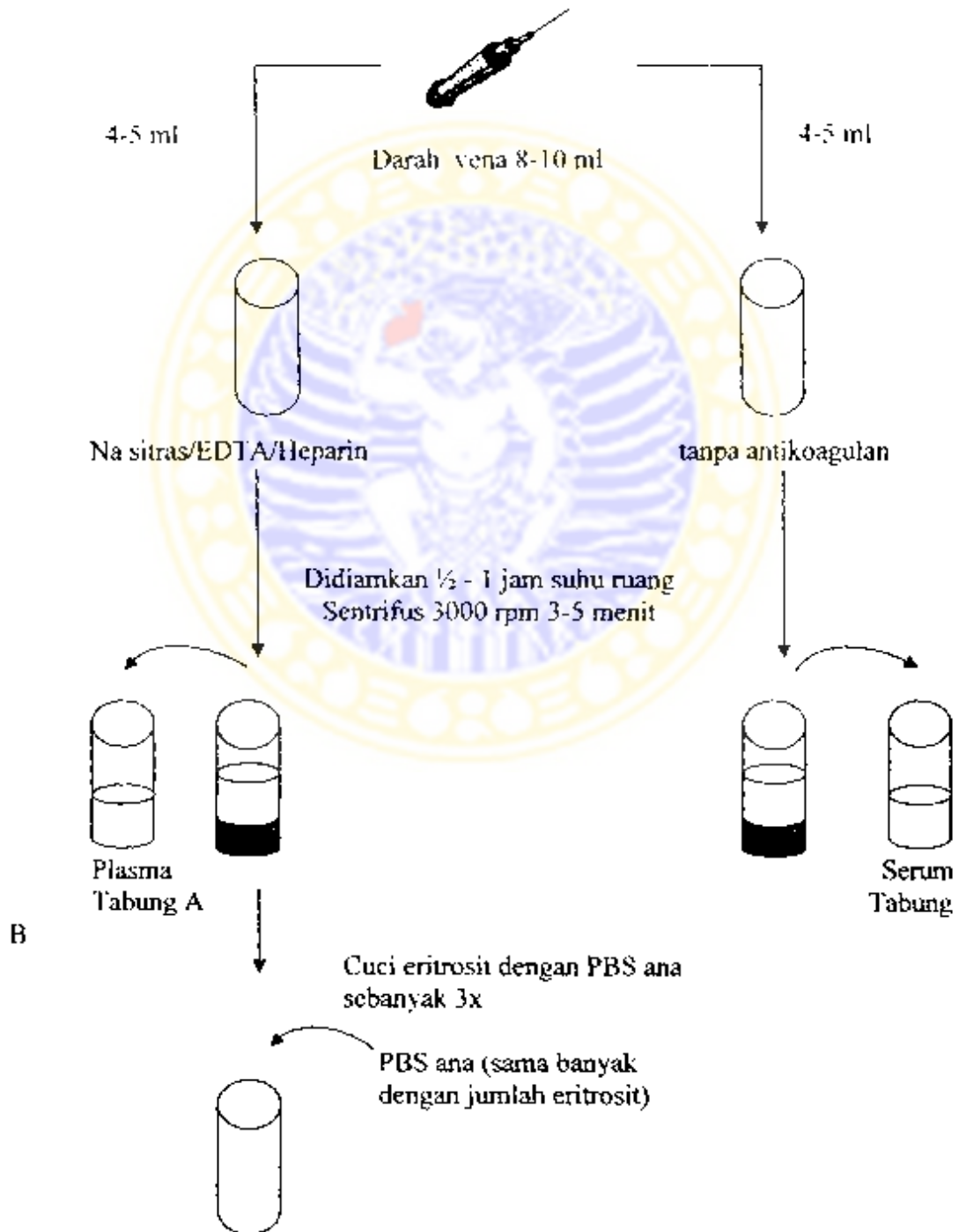
CARA PENYIMPANAN DAN PENGIRIMAN

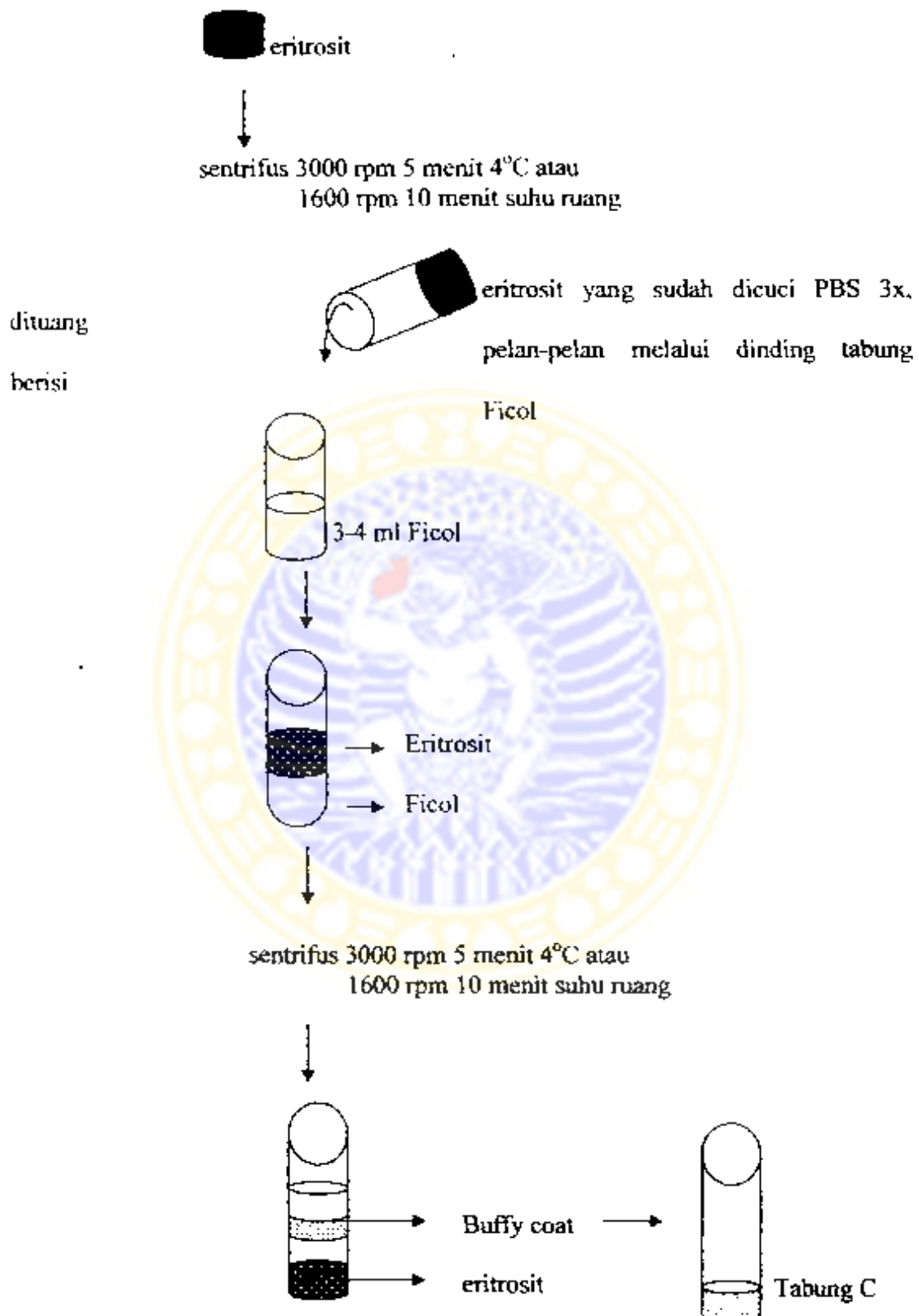
1. Spesimen yang sudah diambil, baik dalam tabung steril Na.sitras/EDTA/heparin (A) maupun tabung steril tanpa antikoagulan (B) , setelah 0,5-1 jam, disentrifus 3000 rpm, selama 3 menit.
2. Pada tabung A, didapatkan plasma, dimasukkan ke dalam tabung eppendorf beri tanda A dan jangan lupa label nama, umur, no.register.
3. Tabung B, setelah disentrifus, didapatkan serum, dimasukkan ke dalam tabung eppendorf beri tanda B dan jangan lupa label nama, umur, no. register.

4. Selanjutnya untuk pemeriksaan PBMC, spesimen dari tabung A yang plasmanya telah dimasukkan ke dalam tabung eppendorf, masih terdapat eritrosit. Eritrosit tersebut (pada tabung A) dicuci dengan PBS pH 7,0 ana (jumlah PBS sama banyak= equivalen eritrosit) dibolak balik, lakukan sampai 3 kali (sampai supernatan= lapisan atas jernih), dimana setiap tahap disentrifus (tahap pencucian eritrosit 1-3) 3000rpm 5 menit atau 1600 rpm 10 menit temperatur 10°C/suhu ruang.
5. Setelah eritrosit dicuci bersih, eritrosit tersebut dimasukkan ke dalam tabung 10 ml yang telah diberi 3-4 ml Ficoll lewat dinding pelan-pelan, jangan sampai eritrosit bercampur dengan larutan Ficollnya. Eritrosit akan berada di bagian atas. Kemudian dilakukan sentrifus 3000 rpm 4°C selama 5 menit. Bila tidak memiliki sentrifus 4°C, dapat digunakan sentrifus pada suhu ruang 1600 rpm selama 10 menit.
6. Pisahkan dengan pipet steril lapisan *buffy coat*-nya (yaitu lapisan putih di atas eritrosit) yang berbentuk cincin dan selanjutnya masukkan ke dalam tabung eppendorf steril, diberi kode C (tabung C ini sekarang berisi PBMC).
7. Baik plasma (tabung eppendorf A), serum (tabung eppendorf B) dan PBMC (tabung eppendorf C) dimana ketiganya telah diberi kode, dimasukkan ke dalam tangki liquid nitrogen. Jangan lupa menutup rapat ketiga tabung eppendorf ini dan di-sealed dengan parafilm agar tidak tumpah.
8. Pengiriman dapat di dalam kotak stiring foam yang telah diberi *dry-ice* dengan jumlah yang cukup banyak, sehingga diperkirakan suhu dalam *stiring-foam* sekitar - 20°C, agar ke3 bahan tersebut tidak rusak.
9. Dikirim ke Tropical Disease Center Unair Surabaya.

Catatan : Bila darah mengalami lisis, tidak dapat digunakan sebagai sampel.

SKEMA PROSEDUR PENGAMBILAN DARAH



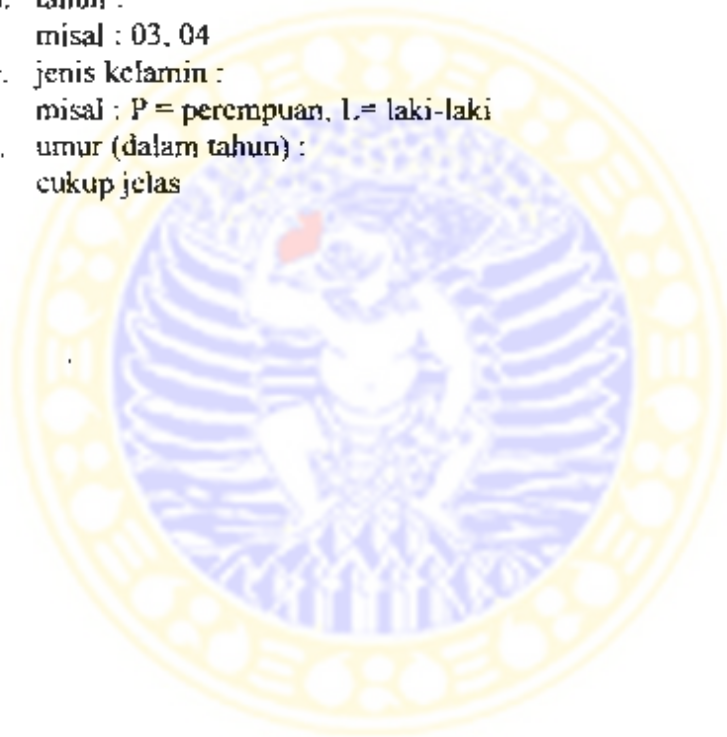


CARA PEMBERIAN KODE

Kode : a/b/c/d/e/f/..

Keterangan :

- a. kode area
misal : S = Surabaya
 J = Jember
 M = Malang
- b. no urut pasien :
misal : 001, 002, 003s/d 100
- c. bulan :
misal : 06, 07, 08,.....
- d. tahun :
misal : 03, 04
- e. jenis kelamin :
misal : P = perempuan, L = laki-laki
- f. umur (dalam tahun) :
cukup jelas



Kode :

CATATAN MEDIS PENDERITA DEMAN BERDARAH DENGUE
KHUSUS PENELITIAN : DBD, SOEDJOKO HARIADHI, dr, MS.
2003

RSUD :
Alamat : Jl.
Telp.

I. Data Pribadi Penderita/Keluarga

1. Nama :
2. Umur :
3. Jenis Kelamin :
4. Suku Bangsa : Jawa / Madura / Cina / Arab / India / Lainnya :
5. Pekerjaan :
6. Alamat :
7. Nama Orang Tua :
8. Pekerjaan :

II. Gejala Klinis

- | | |
|---------------------------------------|--------------------------|
| 1. Demam : (.... °C), hari ke : ... | 11. Hematemesis : |
| 2. Nyeri abdomen : | 12. Melena : |
| 3. Nyeri kepala : | 13. Hepatomegali : |
| 4. Nyeri otot : | 14. Sianosis : |
| 5. Mual : | 15. Acral dingin : |
| 6. Muntah : | 16. Gelisah : |
| 7. Petekia/Purpura : | 17. Lethargi : |
| 8. Epistaksis : | 18. Nadi : |
| 9. Perdarahan Gusi : | 19. Tensi : |
| 10. Tourniquet test : | |

III. Pemeriksaan Laboratorium

- | | |
|--------------------------|----------------------------|
| 1. Darah lengkap : | 4. SGPT : |
| 2. Trombosit : | 5. SGOT : |
| 3. Hematokrit : | 6. Serologi : Ig.G : |
| | Ig.M : |

IV. Diagnosa : Derajat I / II / III / IV

V. Penderita Sembuh / Meninggal, lama dirawat : hari

Catatan :

Bila pemeriksaan lab. tidak cukup sekali
mohon ditulis pada lembar berikutnya

....., 2003

Dokter Pemeriksa

Pemeriksaan ELISA untuk Dengue

1. IgM antidengue :

Tujuan :

Uji serologi deteksi IgM antidengue ditujukan untuk melihat ada atau tidaknya IgM antidengue guna menentukan fase akut infeksi virus dengue.

Prinsip :

Antibodi kelas IgM antidengue, apabila terdapat di dalam tubuh penderita, akan berikatan dengan *antihuman IgM* yang telah dilekatkan pada permukaan fase padat polistiren dinding sumuran *microtiter plate*. Konsentrat campuran antigen dengue serotipe 1,2,3,4 yang telah diencerkan, diikatkan dengan konjugat antibodi monoklonal berlabel enzim HRP (*Horse Radish Peroxidase*) membentuk kompleks antigen-Mab. Kompleks antigen-Mab ditambahkan ke dalam sumuran yang telah terdapat antihuman IgM-IgM (dari serum penderita). Setelah inkubasi, sumuran dicuci dan diberi substrat TMB/H₂O₂ (*Tetramethylbenzidine/hydrogenperoxide*). Enzim HRP akan memecah substrat membentuk produk berwarna biru. Reaksi dihentikan dengan asam, larutan menjadi kuning. Intensitas warna sejalan linier dengan konsentrasi antibodi IgM antidengue di dalam serum penderita.

Berbagai bahan yang digunakan :

1. *Serum diluent* berisi TBS (*Tris buffered saline*) pH 7,2-7,6.
2. *Antigen diluent* berisi PBS (*Phosphat Buffer Saline*).

3. Bufer pencuci berisi PBS (*Phosphat Buffer Saline*) pH 7.2-7.6 dengan Tween20.
4. Larutan penyetop reaksi berisi *Phosphoric acid* 1M.

Prosedur pemeriksaan :

1. *Antihuman IgM* dilekatkan pada fase padat *microtiter plate* .Inkubasi semalam, selanjutnya siap digunakan untuk tahapan selanjutnya.
2. 100ul serum penderita yang telah diencerkan (10ul serum + 90ul *serum diluent*), dimasukkan ke dalam sumuran yang telah dilapisi oleh *antihuman IgM*.Demikian pula perlakuan untuk kontrol. 100ul kontrol yang telah diencerkan dimasukkan ke dalam sumuran yang telah dilapisi oleh *antihuman IgM*. Demikian pula perlakuan untuk kalibrator sebanyak 3 kalibrator (triplikat).Tutup *microtiterplate*, kemudian inkubasi selama 1 jam pada suhu 37°C.
3. Cuci sebanyak 6 kali dengan bufer pencuci.
4. Kombinasi antigen dengue serotipe 1,2,3,4 diencerkan dengan menggunakan *antigen diluent* menjadi 1/250 (10ul antigen : 2,5 ml *antigen diluent*), selanjutnya siapkan larutan kompleks antigen-Mab (antigen-konjugat berupa kombinasi antigen dengue 1,2,3,4 di atas dengan pelacak berupa antibodi monoklonal berlabel enzim HRP).100 ul larutan kompleks antigen-Mab ke dalam sumuran di atas. Plate ditutup dan diinkubasi selama 1 jam 37°C. Hal ini akan menyebabkan terjadi reaksi antihuman IgM-IgM-Antigen-Mab.

5. Tahapan berikutnya adalah sumuran dicuci sebanyak 6 kali dengan menggunakan buffer pencuci.
6. 100ul TMB di masukkan ke dalam masing-masing sumuran, kemudian diinkubasi selama 10 menit pada temperatur kamar (20-25⁰C) di mana kemudian akan terbentuk larutan berwarna biru.
7. 100ul larutan penyetop ditambahkan ke dalam sumuran. campur merata. Warna larutan akan berubah menjadi kuning.
8. Pembacaan absorbans larutan dilakukan dalam 30 menit dari setiap sumuran, menggunakan fotometer pada panjang gelombang 450 nm dengan filter referens 600-650nm.

Penghitungan :

Unit = Absorbans sampel dibagi rata-rata absorbans *cut-off* kalibrator (triplikat)

Misal : Sampel A absorbans = 0,949

Sampel B absorbans = 0,070

Absorbans rata-rata *cut-off* kalibrator 0,302

Sampel A (0,949/0,302) = 3,14 unit

Sampel B (0,070/0,302) = 0,2 unit

Interpretasi hasil :

< 0,9 = negatif Interpretasi : IgM antidengue tidak terdeteksi

- 0,9-1,1 = equivocal Interpretasi : Sampel equivocal sebaiknya diulang atau dilakukan pengulangan serum baru 7-14 hari lagi.
- >1,1 - positif Interpretasi : IgM antibodi antidengue terdeteksi.

2. IgG antidengue :

Tujuan :

Uji serologi deteksi IgG antidengue ditujukan untuk melihat ada atau tidaknya antibodi IgG antidengue guna diagnosis fase infeksi sekunder akut terhadap virus dengue.

Infeksi sekunder ditandai dengan tingginya kadar IgG antidengue yang terdeteksi pada 1-2 hari setelah terinfeksi virus dengue yang berikutnya, dimana akan diikuti oleh timbulnya IgM antidengue pada hari ke3-5.

Uji ELISA untuk deteksi IgG anti dengue dalam pemeriksaan ini, dikatakan infeksi sekunder bila kadarnya > 2,2 unit (setara dengan titer HI > 1/2560).

Prinsip :

Antibodi kelas IgG antidengue, apabila terdapat di dalam tubuh penderita, akan berikatan dengan *antihuman IgG* yang telah dilekatkan pada permukaan fase padat polistiren dinding sumuran *microtiter plate*. Konsentrat campuran antigen dengue serotipe 1,2,3,4 yang telah diencerkan, diikatkan dengan konjugat antibodi monoklonal berlabel enzim HRP (*Horse Radish Peroxidase*) membentuk kompleks antigen-Mab. Kompleks antigen-Mab ditambahkan ke dalam sumuran yang telah terdapat antihuman IgG-IgG (dari serum penderita). Setelah inkubasi, sumuran dicuci dan diberi substrat TMB/H₂O₂ (*Tetramethylbenzidine/hydrogenperoxide*).

Enzim HRP akan memecah substrat membentuk produk berwarna biru. Reaksi dihentikan dengan asam. Larutan menjadi kuning. Intensitas warna sejalan linier dengan konsentrasi antibodi IgG antidengue di dalam serum penderita.

Berbagai bahan yang digunakan :

1. Serum diluent berisi TBS (*Tris buffered saline*) pH 7.2-7.6.
2. Antigen diluent berisi PBS (*Phosphat Buffer Saline*) .
3. Bufer pencuci berisi PBS (*Phosphat Buffer Saline*) pH 7.2-7.6 dengan Tween20.
4. Larutan penyetop reaksi berisi *Phosphoric acid* 1M.

Prosedur pemeriksaan :

1. *Antihuman IgG* dilekatkan pada fase padat *microtiter plate* .Inkubasi semalam, selanjutnya siap digunakan untuk tahapan selanjutnya.
2. 100ul serum penderita yang telah diencerkan (10ul serum + 90ul *serum diluent*), dimasukkan ke dalam sumuran yang telah dilapisi oleh *antihuman IgG*.Demikian pula perlakuan untuk kontrol. 100ul kontrol yang telah diencerkan dimasukkan ke dalam sumuran yang telah dilapisi oleh *antihuman IgG*. Demikian pula perlakuan untuk kalibrator sebanyak 3 kalibrator (triplikat). Tutup *microtiterplate*, kemudian inkubasi selama 1 jam pada suhu 37°C.

3. Cuci sebanyak 6 kali dengan bufer pencuci.
4. Kombinasi antigen dengue serotipe 1,2,3,4 diencerkan dengan menggunakan *antigen diluent* menjadi 1/250 (10ul antigen : 2.5 ml *antigen diluent*), selanjutnya siapkan larutan kompleks antigen-Mab (antigen-konjugat berupa kombinasi antigen dengue 1,2,3,4 di atas dengan pelacak berupa antibodi monoklonal berlabel enzim HRP).100 ul larutan kompleks antigen-Mab ke dalam sumuran di atas. Plate ditutup dan diinkubasi selama 1 jam 37°C. Hal ini akan menyebabkan terjadi reaksi antihuman IgG-IgG-Antigen-Mab.
5. Tahapan berikutnya adalah sumuran dicuci sebanyak 6 kali dengan menggunakan bufer pencuci.
6. 100ul TMB di masukkan ke dalam masing-masing sumuran, kemudian diinkubasi selama 10 menit pada temperatur kamar (20-25°C) di mana kemudian akan terbentuk larutan berwarna biru.
7. 100ul larutan penyetop ditambahkan ke dalam sumuran, campur merata. Warna larutan akan berubah menjadi kuning.
8. Pembacaan absorbans larutan dilakukan dalam 30 menit dari setiap sumuran, menggunakan fotometer pada panjang gelombang 450 nm dengan filter referens 600-650nm.

Penghitungan :

Unit = Absorbans sampel dibagi rata-rata absorbans *cut-off* kalibrator (triplikat)

Misal : Sampel A absorbans = 1,800

Sampel B absorbans = 0,300

Absorbans rata-rata *cut-off* kalibrator 0,600

Sampel A ($1,800/0,600$) = 3,0 unit

Sampel B ($0,300/0,600$) = 0,5 unit

Interpretasi hasil :

< 1,8 unit = negatif Interpretasi : Tidak terdapat infeksi sekunder dengue .

Tes sebaiknya diulang 4-7 hari lagi dengan sampel serum penderita yang baru.

1,8-2,2 = equivocal Interpretasi : Sampel sebaiknya dites ulang 4-7 hari lagi

> 2,2 = positif Interpretasi : Dugaan infeksi akut sekunder dengue



ANALISIS MOLEKULER VIRUS DENGUE

Tujuan Pemeriksaan :

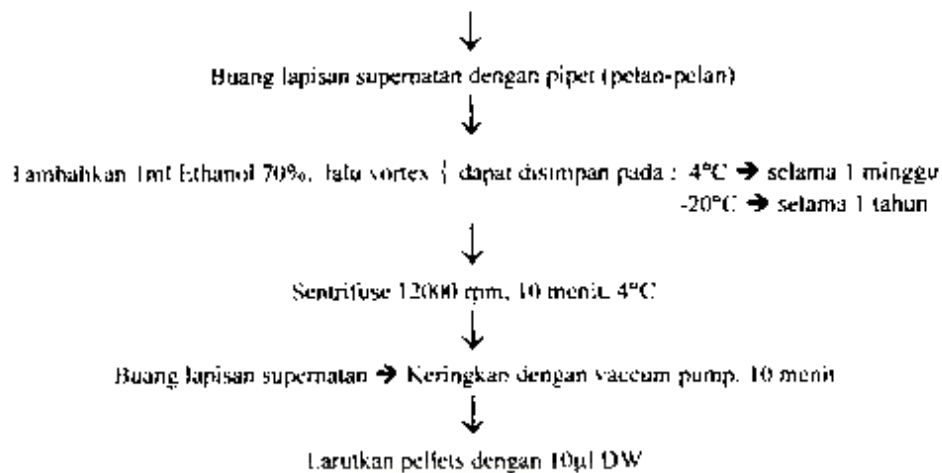
1. Menentukan adanya RNA Virus Dengue pada serum penderita yang menunjukkan hasil pemeriksaan IgM positif.
2. Menentukan tipe/subtipe virus Dengue.

Serum penderita yang memberikan hasil pemeriksaan IgM positif selanjutnya dilakukan pemeriksaan berikut ini secara berturut-turut sbb : ekstraksi RNA, sintesis cDNA, PCR, elektroforesis, pemurnian PCR product, DNA sequencing, analisis homology untuk menentukan tipe/subtipe virus Dengue. Adapun teknik pemeriksaannya adalah sebagai berikut :

PROTOKOL DETEKSI VIRUS DENGUE DALAM SERUM

1. EKSTRAKSI RNA : menggunakan larutan Trizol





II. REVERSE TRANSCRIPTION UNTUK MEMBUAT cDNA

4µl of 5 x RT Buffer

4µl of dNTPs mix

0.5µl of Ribonuclease inhibitor

0.5µl of Reverse transcriptase

1.0µl of Primer D-2 (100 pm/µl)

10µl

Panaskan larutan RNA (10µl, lihat I)
pada 65°C selama 2 menit

campur baik-baik dengan pemipetan berulang, dan selanjutnya
inkubasi 42°C selama 60 menit

cDNA yang terbentuk dapat disimpan pada suhu
-20°C sampai siap untuk digunakan

Setelah sintesis cDNA dilakukan PCR dengan menggunakan primer yang spesifik untuk masing-masing tipe virus Dengue.

Primer yang digunakan adalah sbb :

Primer	Urutan nukleotida primer	Posisi primer	PCR product
D1	5'-TCAATATGCTGAAACGCGCGAGAAACCG-3'	134 - 161	511
D2	5'-TTGCACCAACAGTCAATGTCTTCAGGTTTC-3'	616 - 644	511
TS-1	5'-CGTCTCAGTGATCCGGGG-3'	568 - 586	482 (D1 & TS-1)
TS-2	5'-CGCCACAAGGGCCATGAACAG-3'	232 - 252	119 (D1 & TS-2)
TS-3	5'-TAACATCATCATGAGACAGAGC-3'	400 - 421	290 (D1 & TS-3)
TS-4	5'-CTCTGTTGTCTTAAACAAGAGA-3'	506 - 527	392 (D1 & TS-4)

III. PCR TAHAP I:

Pipet 5 µl cDNA yang terbentuk dan masukkan dalam tabung Eppendorf 0,5 ml.

Tambahkan : 76 µl DW
8 µl dNTPs mix
9 µl 10x Tth buffer
0,5µl Primer D-1 (100 pm/µl)
0,5µl Primer D-2 (100 pm/µl)

Panaskan pada 94°C selama 5 menit
setelah itu lakukan *spindown* beberapa detik

94 µl
Tambahkan 1 µl of Tth DNA Polymerase (2U/µl)
Campur baik-baik dengan pipetan (at 72°C)
Tambahkan 100µl of mineral oil

PCR : 94°C ⇒ 30 detik
55°C ⇒ 60 detik
72°C ⇒ 2 menit } 35 cycles

Pada akhir siklus ke 35, pertahankan sampel pada suhu 72°C selama 10 menit.

IV. PCR TAHAP II:

Pipet 5 µl hasil PCR tahap I, dan tampung dalam tabung Eppendorf 0,5 ml baru,
Kemudian encerkan dalam 20 ul H₂O.

Pipet 5µl of hasil PCR Tahap I yang telah diencerkan dalam tabung Eppendorf 0,5 ml baru

Tambahkan : 72µl DW
2µl dNTPs mix
10µl 10xTth Buffer
2µl Primer D-1 (100 pm/µl)
2µl Primer TS-1 (100 pm/µl)
2µl Primer TS-2 (100 pm/µl)
2µl Primer TS-3 (100 pm/µl)
2µl Primer TS-4 (100 pm/µl)

94 µl

Panaskan pada 94°C selama 5 menit
spindown selama beberapa detik

Tambahkan 1 µl Tth DNA polymerase (2U/µl)
Campur baik-baik dengan pipet (at 72°C)
Tambahkan diatasnya 100µl mineral oil

PCR : 94°C ⇒ 30 detik
55°C ⇒ 60 detik
72°C ⇒ 2 menit } 35 cycles

Pada akhir siklus ke 35, pertahankan suhu sampel pada 72°C selama 10 menit.

V. ELECTROFORESIS

Electroforesis dengan menggunakan gel agarose :

Siapkan 4% agarose minigel dalam 0,5xTBE

Yang mengandung Ethidium Bromide (konsentrasi akhir 1.0 µg/ml)

Untuk Gel : 8 wells : 20cc 0,5xTBE ⇔ 0,8g agarose ⇔ ethidium bromide 2µl

17 wells : 40cc 0,5xTBE ⇔ 1,6g agarose ⇔ ethidium bromide 4µl



Ambil 10µl hasil PCR tahap II, lalu masukkan dalam tabung Eppendorf baru

┆
┆----- tambahkan 1,5µl larutan BBP-glycerol (sebagai Stop buffer)
┆
┆
┆----- campur dengan pempetan dan kemudian spin down beberapa detik

Pipet 10µl lalu aplikasikan pada agarose gel

ELP dalam system bufer yang mengandung 0,5xTBE

Gunakan marker sebanyak : 4 µl

Selanjutnya jalankan elektroforesis



Buat foto (untuk dokumentasi)

Gambar dibawah ini menunjukkan hasil PCR tahap II yang dilakukan elektroforesis. Hasil PCR yang positif ditunjukkan dengan adanya pita-pita pada agarose. Pada setiap kali melakukan pemeriksaan ekstraksi RNA sampai dengan elektroforesis selalu menyertakan kontrol negatif dan juga kontrol positif. Kontrol negatif dimaksudkan untuk mengetahui apakah hasil kerja kita bebas atau tidak dari kontaminan. Kontrol positif untuk menunjukkan bahwa prosedur yang kita jalankan sudah benar dan juga reagensia yang kita gunakan dalam keadaan baik. Gambar di bawah ini menunjukkan bahwa kontrol negatif tidak memberikan pita sedangkan kontrol positif memberikan pita. Dengan menggunakan pelacak (marker) Hae III Digest dapat diketahui berapa pasangan basa pita yang dihasilkan. Ternyata pita yang terbentuk adalah sebesar 119 bp dan ini sesuai dengan Den -2.

**Hasil Pemeriksaan Serologi IgM & IgG Anti Dengue dan Pemeriksaan
semi nested-Polymerase Chain Reaction (sn-PCR)**

A. Sampel Daerah Surabaya

No	Kode	IgM	IgG	PCR	Dx Klinis
1	S-001	+	+	+ (Den-2 & Den-3)	Grade 4
2	S-002	-	-	- (Negatif)	Grade 2
3	S-003	-	-	- (Negatif)	Grade 2
4	S-004	-	-	- (Negatif)	Grade 1
5	S-005	-	-	- (Negatif)	Grade 2
6	S-006	-	-	- (Negatif)	Grade 2
7	S-007	+	+	+ (Den-2)	Grade 3
8	S-008	+	+	- (Negatif)	Grade 2
9	S-009	equivocal	+	- (Negatif)	Grade 2
10	S-010	+	+	- (Negatif)	Grade 2
11	S-011	+	+	+ (Den - 2)	Grade 3
12	S-012	+	-	+ (Den - 2)	Grade 2
13	S-013	+	-	+ (Den - 2)	Grade 2
14	S-014	-	-	+ (Den - 2)	Grade 1
15	S-015	-	equivocal	+ (Den - 2)	Grade 1
16	S-016	-	equivocal	- (Negatif)	Grade 1
17	S-017	-	-	- (Negatif)	Grade 1
18	S-018	-	-	- (Negatif)	Grade 1
19	S-019	+	+	- (Negatif)	Grade 1
20	S-020	-	-	- (Negatif)	Grade 1
21	S-021	+	-	- (Negatif)	Grade 1
22	S-022	-	-	+ (Den - 2)	Grade 1
23	S-023	+	+	- (Negatif)	Grade 2
24	S-024	-	+	- (Negatif)	Grade 1
25	S-025	-	-	+ (Den - 2)	Grade 1
26	S-026	-	-	+ (Den - 2)	Grade 1
27	S-027	-	+	- (Negatif)	Grade 2
28	S-028	-	-	- (Negatif)	Grade 1

Catatan , Kriteria :

IgM positif	: bila kadar > 1.1
Equivocal	: bila kadar > 0.9 - 1.1
Negatif	: bila kadar < 0.9
IgG positif	: bila kadar > 2.2
Equivocal	: bila kadar > 1.8 - 2.2
Negatif	: bila kadar < 1.8

Infeksi Sekunder Akut bila IgG > 2.2

B. Sampel Daerah Malang

No	Kode	IgM	IgG	PCR	Dx Klinis
1	M-001	+	+	+ (Den - 2)	Grade 2
2	M-002	-	-	+ (Den - 2)	Grade 2
3	M-003	+	+	+ (Den - 2)	Grade 2
4	M-004	+	-	+ (Den - 2)	Grade 2
5	M-005	+	+	- (Negatif)	Grade 2
6	M-006	+	+	- (Negatif)	Grade 2
7	M-007	+	+	+ (Den - 2)	Grade 2
8	M-008	-	-	- (Negatif)	Grade 2
9	M-009	+	+	- (Negatif)	Grade 2
10	M-010	equivocal	-	+ (Den - 2)	Grade 2
11	M-011	+	+	+ (Den - 2)	Grade 4
12	M-012	equivocal	+	- (Negatif)	Grade 2
13	M-013	+	-	- (Negatif)	Grade 2
14	M-014	equivocal	+	- (Negatif)	Grade 1
15	M-015	-	+	- (Negatif)	Grade 2
16	M-016	+	+	- (Negatif)	Grade 1
17	M-017	+	+	- (Negatif)	Grade 1
18	M-018	+	+	- (Negatif)	Grade 4
19	M-019	-	+	+ (Den - 2)	Grade 2
20	M-020	equivocal	+	- (Negatif)	Grade 3
21	M-021	+	+	- (Negatif)	Grade 2

Catatan, Kriteria :

- IgM positif : bila kadar > 1,1
 Equivocal : bila kadar > 0,9 - 1,1
 Negatif : bila kadar < 0,9
 IgG positif : bila kadar > 2,2
 Equivocal : bila kadar > 1,8 - 2,2
 Negatif : bila kadar < 1,8

Infeksi Sekunder Akut bila IgG > 2,2

C. Sampel Daerah Jember

No	Kode	IgM	IgG	PCR	Dx Klinis
1	J-001	+	+	+(Den - 2)	Grade 2
2	J-002	+	+	+(Den - 2)	Grade 2
3	J-003	+	+	+(Den - 2)	Grade 2
4	J-004	+	+	-(Negatif)	Grade 4
5	J-005	-	+	-(Negatif)	Grade 1
6	J-006	+	+	-(Negatif)	Grade 3
7	J-007	-	-	-(Negatif)	Grade 1
8	J-008	+	equivocal	-(Negatif)	Grade 1
9	J-009	-	-	-(Negatif)	Grade 1
10	J-010	-	-	-(Negatif)	Grade 1
11	J-011	+	+	-(Negatif)	Grade 2
12	J-012	+	+	-(Negatif)	Grade 2
13	J-013	-	-	-(Negatif)	Grade 1
14	J-014	-	-	-(Negatif)	Grade 1
15	J-015	-	-	-(Negatif)	Grade 2
16	J-016	+	+	-(Negatif)	Grade 1
17	J-017	+	+	-(Negatif)	Grade 2
18	J-018	-	-	-(Negatif)	Grade 2
19	J-019	-	-	-(Negatif)	Grade 1
20	J-020	+	+	-(Negatif)	Grade 1
21	J-021	-	equivocal	+(Den - 2)	Grade 1
22	J-022	+	-	-(Negatif)	Grade 1
23	J-023	-	+	+(Den - 2)	Grade 2
24	J-024	-	+	-(Negatif)	Grade 2
25	J-025	-	-	-(Negatif)	Grade 1
26	J-026	+	+	-(Negatif)	Grade 3
27	J-027	+	+	-(Negatif)	Grade 3
28	J-028	+	+	+(Den - 2)	Grade 2
29	J-029	-	-	-(Negatif)	Grade 1
30	J-030	-	+	-(Negatif)	Grade 2
31	J-031	-	-	-(Negatif)	Grade 1

Catatan , Kriteria :

IgM positif	: bila kadar > 1,1
Equivocal	: bila kadar > 0,9 - 1,1
Negatif	: bila kadar < 0,9
IgG positif	: bila kadar > 2,2
Equivocal	: bila kadar > 1,8 - 2,2
Negatif	: bila kadar < 1,8

Infeksi Sekunder Akut bila IgG > 2.2

Crosstabs

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
KLINIS * IgM	80	100.0%	0	0%	80	100.0%
KLINIS * IgG	80	100.0%	0	0%	80	100.0%
KLINIS * serologis	80	100.0%	0	0%	80	100.0%

KLINIS * IgM Crosstabulation

		IgM		Total	
		negatif	positif		
KLINIS	grade I	Count	24	8	32
		% within IgM	57.1%	21.1%	40.0%
grade II	Count	17	21	38	
		% within IgM	40.5%	55.3%	47.5%
grade III	Count	1	5	6	
		% within IgM	2.4%	13.2%	7.5%
grade IV	Count	0	4	4	
		% within IgM	.0%	10.5%	5.0%
Total	Count	42	38	80	
	% within IgM	100.0%	100.0%	100.0%	

KLINIS * IgG Crosstabulation

		IgG		Total	
		negatif	positif		
KLINIS	grade I	Count	24	8	32
		% within IgG	64.9%	18.6%	40.0%
grade II	Count	13	25	38	
		% within IgG	35.1%	58.1%	47.5%
grade III	Count	0	6	6	
		% within IgG	.0%	14.0%	7.5%
grade IV	Count	0	4	4	
		% within IgG	.0%	9.3%	5.0%
Total	Count	37	43	80	
	% within IgG	100.0%	100.0%	100.0%	

Crosstab-2

KLINIS * serologis Crosstabulation

			serologis		Total
			negatif	positif	
KLINIS	grade I	Count	21	11	32
		% within serologis	70.0%	22.0%	40.0%
	grade II	Count	9	29	38
		% within serologis	30.0%	58.0%	47.5%
	grade III	Count	0	6	6
		% within serologis	.0%	12.0%	7.5%
	grade IV	Count	0	4	4
		% within serologis	0%	8.0%	5.0%
Total		Count	30	50	80
		% within serologis	100.0%	100.0%	100.0%

Crosstabs

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
KLINIS * IgM	28	100.0%	0	0%	28	100.0%
KLINIS * IgG	28	100.0%	0	0%	28	100.0%
KLINIS * serologis	28	100.0%	0	0%	28	100.0%

KLINIS * IgM Crosstabulation

			IgM		Total
			negatif	positif	
KLINIS	grade I	Count	12	2	14
		% within IgM	66.7%	20.0%	50.0%
	grade II	Count	6	5	11
		% within IgM	33.3%	50.0%	39.3%
	grade III	Count	0	2	2
		% within IgM	.0%	20.0%	7.1%
	grade IV	Count	0	1	1
		% within IgM	0%	10.0%	3.6%
Total		Count	18	10	28
		% within IgM	100.0%	100.0%	100.0%

KLINIS * IgG Crosstabulation

		IgG		Total	
		negatif	positif		
KLINIS	grade I	Count	12	2	14
		% within IgG	66.7%	20.0%	50.0%
	grade II	Count	6	5	11
		% within IgG	33.3%	50.0%	39.3%
	grade III	Count	0	2	2
		% within IgG	.0%	20.0%	7.1%
	grade IV	Count	0	1	1
		% within IgG	.0%	10.0%	3.6%
Total		Count	18	10	28
		% within IgG	100.0%	100.0%	100.0%

KLINIS * serologis Crosstabulation

		serologis		Total	
		negatif	positif		
KLINIS	grade I	Count	11	3	14
		% within serologis	73.3%	23.1%	50.0%
	grade II	Count	4	7	11
		% within serologis	26.7%	53.8%	39.3%
	grade III	Count	0	2	2
		% within serologis	.0%	15.4%	7.1%
	grade IV	Count	0	1	1
		% within serologis	.0%	7.7%	3.6%
Total		Count	15	13	28
		% within serologis	100.0%	100.0%	100.0%

Crosstabs

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
KLINIS * IgM	21	100.0%	0	.0%	21	100.0%
KLINIS * IgG	21	100.0%	0	.0%	21	100.0%
KLINIS * serologis	21	100.0%	0	.0%	21	100.0%

KLINIS * IgM Crosstabulation

		IgM		Total	
		negatif	positif		
KLINIS	grade I	Count	1	2	3
		% within IgM	12.5%	15.4%	14.3%
grade II	Count	6	9	15	
		% within IgM	75.0%	69.2%	71.4%
grade III	Count	1	0	1	
		% within IgM	12.5%	.0%	4.8%
grade IV	Count	0	2	2	
		% within IgM	.0%	15.4%	9.5%
Total	Count	8	13	21	
		% within IgM	100.0%	100.0%	100.0%

KLINIS * IgG Crosstabulation

		IgG		Total	
		negatif	positif		
KLINIS	grade I	Count	0	3	3
		% within IgG	.0%	18.8%	14.3%
grade II	Count	5	10	15	
		% within IgG	100.0%	82.5%	71.4%
grade III	Count	0	1	1	
		% within IgG	.0%	6.3%	4.8%
grade IV	Count	0	2	2	
		% within IgG	.0%	12.5%	9.5%
Total	Count	5	16	21	
		% within IgG	100.0%	100.0%	100.0%

KLINIS * serologis Crosstabulation

		serologis		Total	
		negatif	positif		
KLINIS	grade I	Count	0	3	3
		% within serologis	.0%	16.7%	14.3%
grade II	Count	3	12	15	
		% within serologis	100.0%	66.7%	71.4%
grade III	Count	0	1	1	
		% within serologis	.0%	5.6%	4.8%
grade IV	Count	0	2	2	
		% within serologis	.0%	11.1%	9.5%
Total	Count	3	18	21	
		% within serologis	100.0%	100.0%	100.0%

Crosstabs**Case Processing Summary**

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
KLINIS * IgM	31	100.0%	0	0%	31	100.0%
KLINIS * IgG	31	100.0%	0	0%	31	100.0%
KLINIS * serologis	31	100.0%	0	0%	31	100.0%

KLINIS * IgM Crosstabulation

			IgM		Total
			negatif	positif	
KLINIS	grade I	Count	11	4	15
		% within IgM	68.8%	26.7%	48.4%
grade II	Count	5	7	12	
	% within IgM	31.3%	46.7%	38.7%	
grade III	Count	0	3	3	
	% within IgM	0%	20.0%	9.7%	
grade IV	Count	0	1	1	
	% within IgM	0%	6.7%	3.2%	
Total	Count	16	15	31	
	% within IgM	100.0%	100.0%	100.0%	

KLINIS * IgG Crosstabulation

			IgG		Total
			negatif	positif	
KLINIS	grade I	Count	12	3	15
		% within IgG	85.7%	17.6%	48.4%
grade II	Count	2	10	12	
	% within IgG	14.3%	58.8%	38.7%	
grade III	Count	0	3	3	
	% within IgG	0%	17.6%	9.7%	
grade IV	Count	0	1	1	
	% within IgG	0%	5.9%	3.2%	
Total	Count	14	17	31	
	% within IgG	100.0%	100.0%	100.0%	

KLINIS * serologis Crosstabulation

		serologis		Total	
		negatif	positif		
KLINIS	grade I	Count	10	5	15
		% within serologis	83.3%	26.3%	48.4%
grade II	Count	2	10	12	
		% within serologis	16.7%	52.6%	38.7%
grade III	Count	0	3	3	
		% within serologis	0%	15.8%	9.7%
grade IV	Count	0	1	1	
		% within serologis	0%	5.3%	3.2%
Total	Count	12	19	31	
	% within serologis	100.0%	100.0%	100.0%	

Crosstabs

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
KLINIS * PCR	80	100.0%	0	0%	80	100.0%

KLINIS * PCR Crosstabulation

		PCR		Total	
		negatif	positif		
KLINIS	grade I	Count	20	6	32
		% within PCR	46.4%	25.0%	40.0%
grade II	Count	24	14	38	
		% within PCR	42.9%	58.3%	47.5%
grade III	Count	4	2	6	
		% within PCR	7.1%	8.3%	7.5%
grade IV	Count	2	2	4	
		% within PCR	3.6%	8.3%	5.0%
Total	Count	56	24	80	
	% within PCR	100.0%	100.0%	100.0%	

Crosstabs

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
KLINIS * PCR	28	100.0%	0	0%	28	100.0%

KLINIS * PCR Crosstabulation

		PCR		Total	
		negatif	positif		
KLINIS	grade I	Count	9	5	14
		% within PCR	50.0%	50.0%	50.0%
	grade II	Count	9	2	11
		% within PCR	50.0%	20.0%	39.3%
	grade III	Count	0	2	2
		% within PCR	.0%	20.0%	7.1%
	grade IV	Count	0	1	1
		% within PCR	0%	10.0%	3.6%
Total	Count	18	10	28	
	% within PCR	100.0%	100.0%	100.0%	

Crosstabs

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
KLINIS * PCR	21	100.0%	0	.0%	21	100.0%

KLINIS * PCR Crosstabulation

		PCR		Total	
		negatif	positif		
KLINIS	grade I	Count	3	0	3
		% within PCR	23.1%	.0%	14.3%
	grade II	Count	8	7	15
		% within PCR	61.5%	87.5%	71.4%
	grade III	Count	1	0	1
		% within PCR	7.7%	.0%	4.8%
	grade IV	Count	1	1	2
		% within PCR	7.7%	12.5%	9.5%
Total	Count	13	8	21	
	% within PCR	100.0%	100.0%	100.0%	

Crosstabs

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
KLINIS * PCR	31	100.0%	0	.0%	31	100.0%

KLINIS * PCR Crosstabulation

			PCR		Total
			negatif	positif	
KLINIS	grade I	Count	14	1	15
		% within PCR	56.0%	16.7%	48.4%
	grade II	Count	7	5	12
		% within PCR	28.0%	83.3%	38.7%
	grade III	Count	3	0	3
		% within PCR	12.0%	.0%	9.7%
	grade IV	Count	1	0	1
		% within PCR	4.0%	0%	3.2%
Total		Count	25	6	31
		% within PCR	100.0%	100.0%	100.0%



NPar Tests Mann-Whitney Test

Ranks				
	IgM	N	Mean Rank	Sum of Ranks
KLINIS	negatif	42	32.02	1345.00
	positif	38	49.87	1895.00
	Total	80		

Test Statistics(a)	
	KLINIS
Mann-Whitney U	442.000
Wilcoxon W	1345.000
Z	-3.768
Asymp. Sig. (2-tailed)	.000

a. Grouping Variable: IgM

NPar Tests Mann-Whitney Test

Ranks				
	IgM	N	Mean Rank	Sum of Ranks
KLINIS	negatif	18	11.67	210.00
	positif	10	19.60	196.00
	Total	28		

Test Statistics(b)	
	KLINIS
Mann-Whitney U	39.000
Wilcoxon W	210.000
Z	-2.709
Asymp. Sig. (2-tailed)	.007
Exact Sig. (2*, 1-tailed Sig.)	.014(a)

a. Not corrected for ties
b. Grouping Variable: IgM

NPar Tests Mann-Whitney Test

Ranks				
	IgM	N	Mean Rank	Sum of Ranks
KLINIS	negatif	8	10.68	87.00
	positif	13	11.08	144.00
	Total	21		

Man-Whitny

Test Statistics(b)

	KLINIS
Mann-Whitney U	51.000
Wilcoxon W	87.000
Z	-.091
Asymp. Sig. (2-tailed)	.927
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.972(a)

a. Not corrected for ties
b. Grouping Variable: IgM

NPar Tests**Mann-Whitney Test****Ranks**

	IgM	N	Mean Rank	Sum of Ranks
KLINIS	negatif	16	12.22	195.50
	positif	15	20.03	300.50
	Total	31		

Test Statistics(b)

	KLINIS
Mann-Whitney U	59.500
Wilcoxon W	195.500
Z	-2.627
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.015(a)

a. Not corrected for ties.
b. Grouping Variable: IgM

NPar Tests**Mann-Whitney Test****Ranks**

	IgG	N	Mean Rank	Sum of Ranks
KLINIS	negatif	37	28.80	1065.50
	positif	43	50.57	2174.50
	Total	80		

Test Statistics(a)

	KLINIS
Mann-Whitney U	362.500
Wilcoxon W	1065.500
Z	-4.591
Asymp. Sig. (2-tailed)	.000

a. Grouping Variable: IgG

Man-Witny

NPar Tests

Mann-Whitney Test

		Ranks		
	IgG	N	Mean Rank	Sum of Ranks
KLINIS	negatif	18	11.67	210.00
	positif	10	19.60	196.00
	Total	28		

Test Statistics(b)		KLINIS
Mann-Whitney U		39.000
Wilcoxon W		210.000
Z		2.709
Asymp. Sig. (2-tailed)		.007
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]		.014(a)

a. Not corrected for ties

b. Grouping Variable: IgG

NPar Tests

Mann-Whitney Test

		Ranks		
	IgG	N	Mean Rank	Sum of Ranks
KLINIS	negatif	5	11.00	55.00
	positif	16	11.00	176.00
	Total	21		

Test Statistics(b)		KLINIS
Mann-Whitney U		40.000
Wilcoxon W		176.000
Z		.000
Asymp. Sig. (2-tailed)		1.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]		1.000(a)

a. Not corrected for ties

b. Grouping Variable: IgG

Mann-Whitney

NPar Tests Mann-Whitney Test

		Ranks		
	IgG	N	Mean Rank	Sum of Ranks
KLINIS	negatif	14	9.93	139.00
	positif	17	21.00	357.00
Total		31		

Test Statistics(b)		KLINIS
Mann-Whitney U		34.000
Wilcoxon W		139.000
Z		-3.707
Asymp. Sig. (2-tailed)		.000
Exact Sig. (2* (1-tailed Sig.))		.000(a)

a. Not corrected for ties.
b. Grouping Variable: IgG

NPar Tests Mann-Whitney Test

		Ranks		
	serologis	N	Mean Rank	Sum of Ranks
KLINIS	negatif	30	27.00	810.00
	positif	50	48.60	2430.00
Total		80		

Test Statistics(a)		KLINIS
Mann-Whitney U		345.000
Wilcoxon W		810.000
Z		-4.422
Asymp. Sig. (2-tailed)		.000

a. Grouping Variable: serologis

MILIE
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA

Man-Witny

NPar Tests

Mann-Whitney Test

Ranks

	serologis	N	Mean Rank	Sum of Ranks
KLINIS	negatif	15	10,83	162,50
	positif	13	18,73	243,50
	Total	28		

Test Statistics(b)

	KLINIS
Mann-Whitney U	42,500
Wilcoxon W	162,500
Z	-2,806
Asymp. Sig. (2-tailed)	,005
Exact Sig. (2*1-tailed Sig.)	,010(a)

a. Not corrected for ties

b. Grouping Variable: serologis

NPar Tests

Mann-Whitney Test

Ranks

	serologis	N	Mean Rank	Sum of Ranks
KLINIS	negatif	3	11,00	33,00
	positif	18	11,00	198,00
	Total	21		

Test Statistics(b)

	KLINIS
Mann-Whitney U	27,000
Wilcoxon W	198,000
Z	,000
Asymp. Sig. (2-tailed)	1,000
Exact Sig. (2*1-tailed Sig.)	1,000(a)

a. Not corrected for ties

b. Grouping Variable: serologis

NPar Tests

Mann-Whitney Test

Ranks

	serologis	N	Mean Rank	Sum of Ranks
KLINIS	negatif	12	10.25	123.00
	positif	19	19.65	373.00
	Total	31		

Test Statistics(b)

	KLINIS
Mann-Whitney U	45.000
Wilcoxon W	123.000
Z	-3.074
Asymp. Sig. (2-tailed)	.002
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.004(a)

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: serologis

NPar Tests

Mann-Whitney Test

Ranks

	PCR	N	Mean Rank	Sum of Ranks
KLINIS	negatif	56	37.79	2116.00
	positif	24	46.83	1124.00
	Total	80		

Test Statistics(a)

	KLINIS
Mann-Whitney U	520.000
Wilcoxon W	2116.000
Z	-1.753
Asymp. Sig. (2-tailed)	.080

a. Grouping Variable: PCR

NPar Tests

Mann-Whitney Test

Ranks

	PCR	N	Mean Rank	Sum of Ranks
KLINIS	negatif	18	13.75	247.50
	positif	10	15.85	158.50

Man-Witny

Total	28
-------	----

Test Statistics(b)

	KLINIS
Mann-Whitney U	76.500
Wilcoxon W	247.500
Z	-.717
Asymp. Sig. (2-tailed)	.473
Exact Sig. (2*(1-tailed Sig.))	.524(a)

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: PCR

NPar Tests**Mann-Whitney Test****Ranks**

	PCR	N	Mean Rank	Sum of Ranks
KLINIS	negatif	13	10.27	133.50
	positif	8	12.19	97.50
Total		21		

Test Statistics(b)

	KLINIS
Mann-Whitney U	42.500
Wilcoxon W	133.500
Z	-.865
Asymp. Sig. (2-tailed)	.387
Exact Sig. (2*(1-tailed Sig.))	.500(a)

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: PCR

NPar Tests**Mann-Whitney Test****Ranks**

	PCR	N	Mean Rank	Sum of Ranks
KLINIS	negatif	25	15.22	380.50
	positif	6	19.25	115.50
Total		31		

Mann-Whitney

Test Statistics(b)

	KLINIS
Mann-Whitney U	55.500
Wilcoxon W	380.500
Z	-1.071
Asymp. Sig. (2-tailed)	.284
Exact Sig. (2*(1-tailed Sig.))	.339(a)

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: PCR

Frequencies**Statistics**

		IgM	IgG	serologis	PCR	kombinasi pemeriksaan serologis dan PCR
N	Valid	80	80	80	80	80
	Missing	0	0	0	0	0

kombinasi pemeriksaan serologis dan PCR

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	negatif	22	27.5	27.5	27.5
	positif	58	72.5	72.5	100.0
Total		80	100.0	100.0	

Man-Witny

Crosstabs

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
PCR * IgM	80	100.0%	0	0%	80	100.0%
PCR * IgG	80	100.0%	0	0%	80	100.0%
PCR * serologis	80	100.0%	0	0%	80	100.0%

PCR * IgM

Crosstab

		IgM		Total
		negatif	positif	
PCR	negatif	Count 32	Count 24	Count 56
		% within IgM 75.2%	% within IgM 63.2%	% within IgM 70.0%
	positif	Count 10	Count 14	Count 24
		% within IgM 23.8%	% within IgM 36.8%	% within IgM 30.0%
Total		Count 42	Count 38	Count 80
		% within IgM 100.0%	% within IgM 100.0%	% within IgM 100.0%

Symmetric Measures

		Value	Asymp. Std. Error(a)	Approx. T(b)	Approx. Sig.
Measure of Agreement	Kappa	.133	.104	1.270	.204
N of Valid Cases		80			

a. Not assuming the null hypothesis.

b. Using the asymptotic standard error assuming the null hypothesis.

PCR * IgG

Crosstab

		IgG		Total
		negatif	positif	
PCR	negatif	Count 26	Count 30	Count 56
		% within IgG 70.3%	% within IgG 69.8%	% within IgG 70.0%
	positif	Count 11	Count 13	Count 24
		% within IgG 29.7%	% within IgG 30.2%	% within IgG 30.0%
Total		Count 37	Count 43	Count 80
		% within IgG 100.0%	% within IgG 100.0%	% within IgG 100.0%

Symmetric Measures

		Value	Asymp. Std. Error(a)	Approx. T(b)	Approx. Sig.
Measure of Agreement	Kappa	.005	.099	.049	.961
N of Valid Cases		80			

a. Not assuming the null hypothesis.

b. Using the asymptotic standard error assuming the null hypothesis.

Crosstab-1

PCR * serologis

Crosstab

			serologis		Total
			negatif	positif	
PCR	negatif	Count	22	34	56
		% within serologis	73.3%	68.0%	70.0%
	positif	Count	8	16	24
		% within serologis	26.7%	32.0%	30.0%
Total		Count	30	50	80
		% within serologis	100.0%	100.0%	100.0%

Symmetric Measures

		Value	Asymp. Std. Error(a)	Approx. T(b)	Approx. Sig.
Measure of Agreement	Kappa	.045	.089	.504	.614
N of Valid Cases		80			

a. Not assuming the null hypothesis.

b. Using the asymptotic standard error assuming the null hypothesis.

Crosstabs

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
PCR * IgM	28	100.0%	0	0%	28	100.0%
PCR * IgG	28	100.0%	0	0%	28	100.0%
PCR * serologis	28	100.0%	0	0%	28	100.0%

PCR * IgM

Crosstab

			IgM		Total
			negatif	positif	
PCR	negatif	Count	13	5	18
		% within IgM	72.2%	50.0%	64.3%
	positif	Count	5	5	10
		% within IgM	27.8%	50.0%	35.7%
Total		Count	18	10	28
		% within IgM	100.0%	100.0%	100.0%

Symmetric Measures

		Value	Asymp. Std. Error(a)	Approx. T(b)	Approx. Sig.
Measure of Agreement	Kappa	.222	.189	1.176	.240
N of Valid Cases		28			

a. Not assuming the null hypothesis.

b. Using the asymptotic standard error assuming the null hypothesis.

PCR * IgG**Crosstab**

		IgG		Total	
		negatif	positif		
PCR	negatif	Count	11	7	18
		% within IgG	61.1%	70.0%	64.3%
	positif	Count	7	3	10
		% within IgG	38.9%	30.0%	35.7%
Total		Count	18	10	28
		% within IgG	100.0%	100.0%	100.0%

Symmetric Measures

		Value	Asymp. Std. Error(a)	Approx. T(b)	Approx. Sig.
Measure of Agreement	Kappa	-.089	.185	-.470	.638
N of Valid Cases		28			

a. Not assuming the null hypothesis.

b. Using the asymptotic standard error assuming the null hypothesis.

PCR * serologis**Crosstab**

		serologis		Total	
		negatif	positif		
PCR	negatif	Count	10	8	18
		% within serologis	66.7%	61.5%	64.3%
	positif	Count	5	5	10
		% within serologis	33.3%	38.5%	35.7%
Total		Count	15	13	28
		% within serologis	100.0%	100.0%	100.0%

Symmetric Measures

		Value	Asymp. Std. Error(a)	Approx. T(b)	Approx. Sig.
Measure of Agreement	Kappa	.052	.185	.282	.778
N of Valid Cases		28			

a. Not assuming the null hypothesis.

b. Using the asymptotic standard error assuming the null hypothesis.

Crosstabs**Case Processing Summary**

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
PCR * IgM	21	100.0%	0	0%	21	100.0%
PCR * IgG	21	100.0%	0	0%	21	100.0%
PCR * serologis	21	100.0%	0	0%	21	100.0%

PCR * IgM**Crosstab**

		IgM		
		negatif	positif	Total
PCR	negatif	Count 5	Count 8	Count 13
		% within IgM 62.5%	% within IgM 61.5%	% within IgM 61.9%
	positif	Count 3	Count 5	Count 8
		% within IgM 37.5%	% within IgM 38.5%	% within IgM 38.1%
Total		Count 8	Count 13	Count 21
		% within IgM 100.0%	% within IgM 100.0%	% within IgM 100.0%

Symmetric Measures

		Value	Asymp. Std. Error(a)	Approx. T(b)	Approx. Sig.
Measure of Agreement	Kappa	.009	.195	.044	.965
N of Valid Cases		21			

a. Not assuming the null hypothesis.

b. Using the asymptotic standard error assuming the null hypothesis.

PCR * IgG

Crosstab

			IgG		Total
			negatif	positif	
PCR	negatif	Count	2	11	13
		% within IgG	40.0%	68.8%	61.9%
	positif	Count	3	5	8
		% within IgG	60.0%	31.3%	38.1%
Total		Count	5	16	21
		% within IgG	100.0%	100.0%	100.0%

Symmetric Measures

		Value	Asymp. Std. Error(a)	Approx. T(b)	Approx. Sig.
Measure of Agreement	Kappa	.185	.173	-1.156	.248
N of Valid Cases		21			

a. Not assuming the null hypothesis.

b. Using the asymptotic standard error assuming the null hypothesis.

PCR * serologis

Crosstab

			serologis		Total
			negatif	positif	
PCR	negatif	Count	1	12	13
		% within serologis	33.3%	66.7%	61.9%
	positif	Count	2	6	8
		% within serologis	66.7%	33.3%	38.1%
Total		Count	3	18	21
		% within serologis	100.0%	100.0%	100.0%

Symmetric Measures

		Value	Asymp. Std. Error(a)	Approx. T(b)	Approx. Sig.
Measure of Agreement	Kappa	.140	.143	-1.101	.271
N of Valid Cases		21			

a. Not assuming the null hypothesis.

b. Using the asymptotic standard error assuming the null hypothesis.

Crosstabs

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
PCR * IgM	31	100.0%	0	0%	31	100.0%
PCR * IgG	31	100.0%	0	0%	31	100.0%
PCR * serologis	31	100.0%	0	0%	31	100.0%

PCR * IgM

Crosstab

		IgM		Total	
		negatif	positif		
PCR	negatif	Count	14	11	25
		% within IgM	87.5%	73.3%	80.6%
	positif	Count	2	4	6
		% within IgM	12.5%	26.7%	19.4%
Total		Count	16	15	31
		% within IgM	100.0%	100.0%	100.0%

Symmetric Measures

		Value	Asymp. Std. Error(a)	Approx. T(b)	Approx. Sig.
Measure of Agreement	Kappa	.144	.144	.998	.318
N of Valid Cases		31			

a. Not assuming the null hypothesis.

b. Using the asymptotic standard error assuming the null hypothesis.

PCR * IgG

Crosstab

		IgG		Total	
		negatif	positif		
PCR	negatif	Count	13	12	25
		% within IgG	92.9%	70.6%	80.6%
	positif	Count	1	5	6
		% within IgG	7.1%	29.4%	19.4%
Total		Count	14	17	31
		% within IgG	100.0%	100.0%	100.0%

Symmetric Measures

		Value	Asymp. Std. Error(a)	Approx. T(b)	Approx. Sig.
Measure of Agreement	Kappa	.208	.126	1.562	.118
N of Valid Cases		31			

a. Not assuming the null hypothesis.

b. Using the asymptotic standard error assuming the null hypothesis.

PCR * serologis

Crosstab

			serologis		Total
			negatif	positif	
PCR	negatif	Count	11	14	25
		% within serologis	91.7%	73.7%	80.6%
	positif	Count	1	5	6
		% within serologis	8.3%	26.3%	19.4%
Total		Count	12	19	31
		% within serologis	100.0%	100.0%	100.0%

Symmetric Measures

		Value	Asymp	Approx	Approx Sig
			Std Error(a)	T(b)	
Measure of Agreement	Kappa	.150	.112	1.234	.217
N of Valid Cases		31			

a. Not assuming the null hypothesis

b. Using the asymptotic standard errors assuming the null hypothesis

Crosstabs

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
PCR * IgM	80	100.0%	0	0%	80	100.0%

PCR * IgM Crosstabulation

		IgM		Total	
		negatif	positif		
PCR	negatif	Count	32	24	56
		% within IgM	76.2%	63.2%	70.0%
	positif	Count	10	14	24
		% within IgM	23.8%	36.8%	30.0%
Total		Count	42	38	80
		% within IgM	100.0%	100.0%	100.0%

Chi-Square Tests

	Value	Exact Sig. (2-sided)
McNemar Test		.024(a)
N of Valid Cases	80	

a. Binomial distribution used.

Symmetric Measures

	Value	Asymp. Std. Error(a)	Approx. I (b)	Approx. Sig.	
Measure of Agreement	Kappa	.133	.104	1.270	.204
N of Valid Cases	80				

a. Not assuming the null hypothesis.

b. Using the asymptotic standard error assuming the null hypothesis.

Crosstabs

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
PCR * IgG	80	100.0%	0	0%	80	100.0%
PCR * serologis	80	100.0%	0	0%	80	100.0%

Chi-square

1

PCR * IgG

			IgG		Total
			negatif	positif	
PCR	negatif	Count	26	30	56
		% within IgG	70.3%	69.8%	70.0%
	positif	Count	11	13	24
		% within IgG	29.7%	30.2%	30.0%
Total		Count	37	43	80
		% within IgG	100.0%	100.0%	100.0%

Chi-Square Tests

	Value	Exact Sig. (2-sided)
McNemar Test		.004(a)
N of Valid Cases	80	

a. Binomial distribution used.

Symmetric Measures

	Value	Asymp. Std. Error(a)	Approx. T(b)	Approx. Sig.
Measure of Agreement Kappa	.005	.099	.049	.961
N of Valid Cases	80			

a. Not assuming the null hypothesis.

b. Using the asymptotic standard error assuming the null hypothesis.

PCR * serologis

			serologis		Total
			negatif	positif	
PCR	negatif	Count	22	34	56
		% within serologis	73.3%	68.0%	70.0%
	positif	Count	8	16	24
		% within serologis	26.7%	32.0%	30.0%
Total		Count	30	50	80
		% within serologis	100.0%	100.0%	100.0%

Chi-Square Tests

	Value	Exact Sig. (2-sided)
McNemar Test		.000(a)
N of Valid Cases	80	

a. Binomial distribution used.

Symmetric Measures

	Value	Asymp. Std. Error(a)	Approx. T(b)	Approx. Sig.
Measure of Agreement Kappa	.045	.089	.504	.614
N of Valid Cases	80			

a. Not assuming the null hypothesis.

b. Using the asymptotic standard error assuming the null hypothesis.

Chi-square

2

Crosstabs**Case Processing Summary**

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
PCR * IgM	28	100.0%	0	.0%	28	100.0%
PCR * IgG	28	100.0%	0	.0%	28	100.0%
PCR * serologis	28	100.0%	0	.0%	28	100.0%

PCR * IgM**Crosstab**

		IgM		Total	
		negatif	positif		
PCR	negatif	Count	13	5	18
		% within IgM	72.2%	50.0%	64.3%
	positif	Count	5	5	10
		% within IgM	27.8%	50.0%	35.7%
Total		Count	18	10	28
		% within IgM	100.0%	100.0%	100.0%

Chi-Square Tests

	Value	Exact Sig. (2-sided)
McNemar Test		1.000(a)
N of Valid Cases	28	

a. Binomial distribution used.

Symmetric Measures

		Value	Asymp. Std. Error(a)	Approx. T(b)	Approx. Sig.
Measure of Agreement	Kappa	.222	.189	1.176	.240
N of Valid Cases		28			

a. Not assuming the null hypothesis.

b. Using the asymptotic standard error assuming the null hypothesis.

PCR * IgG**Crosstab**

		IgG		Total	
		negatif	positif		
PCR	negatif	Count	11	7	18
		% within IgG	61.1%	70.0%	64.3%
	positif	Count	7	3	10
		% within IgG	38.9%	30.0%	35.7%
Total		Count	18	10	28
		% within IgG	100.0%	100.0%	100.0%

Chi-Square Tests

Chi-square

3

PCR * IgM

			IgM		Total
			negatif	positif	
PCR	negatif	Count	5	8	13
		% within IgM	62.5%	61.5%	61.9%
	positif	Count	3	5	8
		% within IgM	37.5%	38.5%	38.1%
Total		Count	8	13	21
		% within IgM	100.0%	100.0%	100.0%

Chi-Square Tests

	Value	Exact Sig. (2-sided)
McNemar Test		.227(a)
N of Valid Cases	21	

a. Binomial distribution used

Symmetric Measures

		Value	Asymp. Std. Error(a)	Approx. T(b)	Approx. Sig.
Measure of Agreement	Kappa	.009	.195	.044	.965
N of Valid Cases		21			

a. Not assuming the null hypothesis.

b. Using the asymptotic standard error assuming the null hypothesis.

PCR * IgG

			IgG		Total
			negatif	positif	
PCR	negatif	Count	2	11	13
		% within IgG	40.0%	68.8%	61.9%
	positif	Count	3	5	8
		% within IgG	60.0%	31.3%	38.1%
Total		Count	5	16	21
		% within IgG	100.0%	100.0%	100.0%

Chi-Square Tests

	Value	Exact Sig. (2-sided)
McNemar Test		.057(a)
N of Valid Cases	21	

a. Binomial distribution used

Symmetric Measures

		Value	Asymp. Std. Error(a)	Approx. T(b)	Approx. Sig.
Measure of Agreement	Kappa	.185	.173	-.156	.246
N of Valid Cases		21			

a. Not assuming the null hypothesis.

b. Using the asymptotic standard error assuming the null hypothesis.

PCR * serologis**Crosstab**

		serologis		Total	
		negatif	positif		
PCR	negatif	Count	1	12	13
		% within serologis	33.3%	66.7%	61.9%
	positif	Count	2	6	8
		% within serologis	66.7%	33.3%	38.1%
Total		Count	3	18	21
		% within serologis	100.0%	100.0%	100.0%

Chi-Square Tests

	Value	Exact Sig. (2-sided)
McNemar Test		.013(a)
N of Valid Cases	21	

a. Binomial distribution used.

Symmetric Measures

		Value	Asymp. Std. Error(a)	Approx. T(b)	Approx. Sig.
Measure of Agreement	Kappa	.140	.143	-.101	.271
N of Valid Cases		21			

a. Not assuming the null hypothesis.

b. Using the asymptotic standard error assuming the null hypothesis.

Crosstabs**Case Processing Summary**

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
PCR * IgM	31	100.0%	0	0%	31	100.0%
PCR * IgG	31	100.0%	0	0%	31	100.0%
PCR * serologis	31	100.0%	0	0%	31	100.0%

PCR * IgM

			IgM		Total
			negatif	positif	
PCR	negatif	Count	14	11	25
		% within IgM	87.5%	73.3%	80.6%
	positif	Count	2	4	6
		% within IgM	12.5%	26.7%	19.4%
Total	Count		16	15	31
	% within IgM		100.0%	100.0%	100.0%

Chi-Square Tests

	Value	Exact Sig. (2-sided)
McNemar Test		.022(a)
N of Valid Cases	31	

a. Binomial distribution used.

Symmetric Measures

	Value	Asymp. Std. Error(a)	Approx. T.(b)	Approx. Sig.
Measure of Agreement Kappa	.144	.144	.998	.318
N of Valid Cases	31			

a. Not assuming the null hypothesis.

b. Using the asymptotic standard error assuming the null hypothesis.

PCR * IgG

			IgG		Total
			negatif	positif	
PCR	negatif	Count	13	12	25
		% within IgG	92.9%	70.6%	80.6%
	positif	Count	1	5	6
		% within IgG	7.1%	29.4%	19.4%
Total	Count		14	17	31
	% within IgG		100.0%	100.0%	100.0%

Chi-Square Tests

	Value	Exact Sig. (2-sided)
McNemar Test		.003(a)
N of Valid Cases	31	

a. Binomial distribution used.

Symmetric Measures

		Value	Asymp. Std. Error(a)	Approx. T(b)	Approx. Sig.
Measure of Agreement	Kappa	.208		1.26	.118
N of Valid Cases		31			

a. Not assuming the null hypothesis.

b. Using the asymptotic standard error assuming the null hypothesis.

PCR * serologis**Crosstab**

		serologis		Total
		negatif	positif	
PCR	negatif	Count: 11	14	25
		% within serologis: 9.7%	73.7%	80.6%
	positif	Count: -	5	6
		% within serologis: 8.3%	26.3%	19.4%
Total		Count: 12	19	31
		% within serologis: 100.0%	100.0%	100.0%

Chi-Square Tests

		Value	Exact Sig. (2-sided)
McNemar Test			.001(a)
N of Valid Cases		31	

a. Binomial distribution used.

Symmetric Measures

		Value	Asymp. Std. Error(a)	Approx. T(b)	Approx. Sig.
Measure of Agreement	Kappa	.150	.112	1.234	.217
N of Valid Cases		31			

a. Not assuming the null hypothesis.

b. Using the asymptotic standard error assuming the null hypothesis.

NPar Tests

Hasil Uji Kendall's W Untuk Wilayah Surabaya

Ranks

	Mean Rank
Klinis Surabaya	3.84
IgM Surabaya	2.04
IgG Surabaya	2.04
PCR Surabaya	2.09

Test Statistics

N	28
Kendall's W ^a	.660
Chi-Square	55.463
df	3
Asymp. Sig.	.000

a. Kendall's Coefficient of Concordance

NPar Tests

Hasil Uji Kendall's W Untuk Wilayah Malang

Ranks

	Mean Rank
Klinis Malang	3.88
IgM Malang	2.10
IgG Malang	2.33
PCR Malang	1.69

Test Statistics

N	21
Kendall's W ^a	.693
Chi-Square	43.635
df	3
Asymp. Sig.	.000

a. Kendall's Coefficient of Concordance

NPar Tests

Hasil Kendall's W Untuk Wilayah Jember

Ranks

	Mean Rank
Klinis Jember	3.87
IgM Jember	2.18
IgG Jember	2.26
PCR Jember	1.69

Test Statistics

N	31
Kendall's W ^a	.745
Chi-Square	69.308
df	3
Asymp. Sig.	.000

a. Kendall's Coefficient of Concordance

NPar Tests

Hasil Uji Kendall's W Secara Bersama-sama di Tiga Wilayah Penc

Ranks

	Mean Rank
Hasil Pemeriksaan Klinis Diagnosis	3.86
Kadar IgM dalam Serum Penderita DBD	2.11
Kadar IgG dalam Serum Penderita DBD	2.20
Hasil Pemeriksaan PCR	1.83

Test Statistics

N	80
Kendall's W ^a	.667
Chi-Square	164.763
df	3
Asymp. Sig.	.000

a. Kendall's Coefficient of Concordance

Analisis homologi nukleotida antar berbagai isolat virus Dengue di Jawa Timur (Surabaya, Malang, Jember, Pacitan) dan Jakarta dibandingkan dengan referensi Jamaica dan USA

Den2-Malang-6	1: C-CTCA---CAGC-TGGT-G-TGCTGGAGC-A-G-AACT-CATG-GGGCC--CT-T--	4 3
Den2-Malang-19	1: C-C-----GC--C--G-TA-AAGC-CCGAGCAACGCA-TACA-G-GGGCC--CT-T--	3 8
Den2-Jember-1	1: --C-C---CAGCATGGT-G-TGCTGGAGC-A-G-AACT-CATG-GGGCC--CT-T--	4 0
Den2-Jember-2	1: --C-C---CAGCATGGT-G-TGCTGGAGC-A-G-AACT-CATG-GGGCC--CT-T--	4 0
Den2-Surabaya-11	1: C-C-TCA- NATCATG-CAG-TGCTG-GA--AGCATACT-CAAG-GGGCC--CT-T--	4 3
Den2-Pacitan-5	1: CAC-T-AGGCC-CC--GCTAGAA-C--C-ATCAAC-TAA-T---G-GGGCC--CT-T--	3 9
Den2-Jakarta-1	1: C-----CC-----A-GC-----A-G-----C---C---T-A-----C	1 2
den2-usa	1: CA-AT-A-TG--C-TG--AAACGC-GAGA-GA-----AAC--C--GCCTGTAACTGTAC	4 1
Den2-Jamaica (N1409)-den2	1: CA-AT-A-TG--C-TG--AAACGC-GAGA-GA-----AAC--C--GCCTGTAACTGTAC	4 1
Den2-Malang-8	44: -----TGGT-C--AG--GTCTG-T-CTCTGTC-CAGCACTTGGCCCT-CA----A--A--	8 0
Den2-Malang-19	39: -----TGGTAC--AGA-GTCTG-TGCTGTGTC-CAGCACTTGGCCCT-CA---GA--A--	7 9
Den2-Jember-1	41: -----TGGTAC--AG--GTCTG-T-CTCTGTC-CAGCACTTGGCCCT-CA----A--A--	7 8
Den2-Jember-2	41: -----TGGTAC--AG--GTCTG-T-CTCTGTC-CAGCACTTGGCCCT-CA----A--A--	7 8
Den2-Surabaya-11	44: -----TGGT-C--AG--GTCTG-T-CTCTGTC-CAGCACTTGGCCCT-CA----A--A--	8 0
Den2-Pacitan-5	40: -----TGGTCC--AG--GTCTG-T-CTCTGTC-CAGCACTTGGCCCT-CA---GA--A--	7 8
Den2-Jakarta-1	13: -AC--CF---C---G-TAT-TGCTGC-CT-TGCC-OCA-AT-G-CTACAGGGGACGAGG	5 4
den2-usa	42: AACAGTT-G-ACAAAGAGAT-T-CT-CACT-T-G-G-A-AT-G-CTGCAC-GGACGAGC	8 7
Den2-Jamaica (N1409)-den2	42: AACAGTT-G-ACAAAGAGAT-T-CT-CACT-T-G-G-A-AT-G-CTGCAC-GGACGAGC	8 7
Den2-Malang-8	81: C-CC--C-----CCG--AA--C-AC-T--GA--GA--ACG	1 00
Den2-Malang-19	80: C-CC--C-----CCG--ATA--C-AC-T--GA--GA--ACG	1 00
Den2-Jember-1	79: C-CC--C-----CCGT-ATA--C-AC-T--GA--GA--ACG	1 00
Den2-Jember-2	75: C-CC--C-----CCGT-ATA--C-AC-T--GA--GA--ACG	1 00
Den2-Surabaya-11	81: C-CC--C-----CCG--ATA--C-AC-T--GA--GA--ACG	1 00
Den2-Pacitan-5	79: C-CC--C-----CCGT-ATA--C-AC-T--GA--GA--ACG	1 00
Den2-Jakarta-1	55: CACCATTCGAAACTCGTTCATAGGCCCTTGGTGGGCACTGAACACC	1 00
den2-usa	88: -ACCA--CTAAAATTTTTCAT--GG-CC--C-T-G-G--TG-GCA--	1 18
Den2-Jamaica (N1409)-den2	88: -ACCAT-AAACT-TTTCAT--GGCCCT-T--G--G--G--CC	1 18

Lampiran 13 Hasil Sekuensing Nukleotida

(4E.2M / 56 bp) OPT.Score : < 39 >

```

1' CACTAGCGCGCGCTAGAACCATCAACTAATGGGGGCTTTGGTCCAGGKTTGTCCTCTGTC
      * * * * *
1'                               CCAQCAGCCTACACCTCGPATIKKKTGCCITT
61' CAGCACTTGGCCTCAGAACCCCGGTATACACTGAGAAGG
      * * * * *
31' C-GCCCAATGCTACAGGGGACGAGGCA-CCATTCGAAACTCCTTCATAGKTCCTGCTGG

```

1st Nucleotide Sequence
File Name : Den2-Facitau-5
Sequence Size : 100

2nd Nucleotide Sequence
File Name : Den2-Surabaya-11
Sequence Size : 100

Unit Size to Compare = 5
Pick up Location = 1

(B).0% / 100 bp) OPT.Score : < 247 >

```

1' CACTAGCGCGCGCTAGAACCATCAACTAATGGGGGCTTTGGTCCAGGKTTGTCCTCTGTC
      * * * * *
1' CCTCANATCATGCAGTCTGGGAGCA-TRACTCAAGGGGCGCTTTTACT-CAGGTCTGTCT
56' CTGTCCAGCACTTGGCCTCAGAACCCCGGTATACACTGAGAAGG
      * * * * *
59' CTGTCCAGCACTTGGCCTCA-AACCCCGG-AT-CACTGAGAAGG

```

Date : 2004.10.14

ADLN-Perpustakaan Universitas Airlangga

1st Nucleotide Sequence

File Name : Den2-Pacitan-5
Sequence Size : 100

2nd Nucleotide Sequence

File Name : Den2-Malang-8
Sequence Size : 100

Unit Size to Compare = 5

Pick up Location = 1

{87.2% / 94 bp} OPT.Score : < 270 >

```

1' CACTAGGGGGCGGCTAGAAACCATCAACTAATGGGGGGCCTTTGGTCCAGGTCTGTCT
  * * * * *
1' CCTTCACAGCTGGTGTGCTGGGAGCA-GAACTCATGGGGGGCCTTTGGT-CAGGTCTGTCT

56' CTGTCCAGCACATGGCCTCAGAACCCCGGTATACACTGAGAACG
  * * * * *
59' CTGTCCAGCACTTGGCCCTCA-AACCCCGG--TACACTGAGAACG

```

1st Nucleotide Sequence

File Name : Den2-Pacitan-5
Sequence Size : 100

2nd Nucleotide Sequence

File Name : Den2-Jember-1
Sequence Size : 100

Unit Size to Compare = 5

Pick up Location = 1

{87.0% / 100 bp} OPT.Score : < 302 >

```

1' CACTAGGGGGCGGCTAGAAACCATCAACTAATGGGGGGCCTTTGGTCCAGGTCTGTCTCTG
  * * * * *
1' CCUAGCATGGTGTGCTGGGAGCA-GAACTCATGGGGGGCCTTTGGTACAGGTCTGTCTCTG

59' TCCAGCACTTGGCCTCAGAACCCCGGTATACACTGAGAACG
  * * * * *
60' TCCAGCACTTGGCCTCA-AACCCCGGTTATACACTGAGAACG

```

1st Nucleotide Sequence

File Name : Den2-Pacitan-5
Sequence Size : 100

2nd Nucleotide Sequence

File Name : Den2-Jember-2
Sequence Size : 100

Unit Size to Compare = 5

Pick up Location = 1

1st Nucleotide Sequence ADLN-Perpustakaan Universitas Airlangga

File Name : Den2-Pacitan-5
Sequence Size : 100

2nd Nucleotide Sequence

File Name : den2-usa
Sequence Size : 118

Unit Size to Compare = 5
Pick up Location = 1

[72.7% / 22 bp] OPT.Score : < 42 >

```

1' CACTAGGGGCGCGCTAGAACCATCAACTAATGGGGCCCTTTGGTCCAGGTCTGTGTC-TCTGT
                                     ****  ****
1'                               CAATATGCTGAAACGGGAGAGAAAACCGCGTGTCAACTGT

60' CCAGCACTTGGCCCTCAGAAACCCCGGTATACACTGAGAACG
   ** ** *** *
40' ACAACAGTTGACAAAGAGATTCTCACTTGGAAATGCTGCGAGGGACGAGGACCACTAAAATT

```

1st Nucleotide Sequence

File Name : Den2-Pacitan-5
Sequence Size : 100

2nd Nucleotide Sequence

File Name : Den2-Jamaica (N1409)-den2
Sequence Size : 118

Unit Size to Compare = 5
Pick up Location = 1

[68.2% / 22 bp] OPT.Score : < 36 >

```

1' CACTAGGGGCGCGCTAGAACCATCAACTAATGGGGCCCTTTGGTCCAGGTCTGTGTC-TCTGT
                                     ****  ****
1'                               CAATATGCTGAAACGGGAGAGAAAACCGCGTGTCAACTGT

60' CCAGCACTTGGCCCTCAGAAACCCCGGTATACACTGAGAACG
   ** ** *** *
40' GCAACAGCTGACAAAGAGATTCTCACTTGGAAATGCTGCGAAGGACGAGGACCACTAAAACT

```

1st Nucleotide Sequence

File Name : Den2-Pacitan-5
Sequence Size : 100

2nd Nucleotide Sequence

File Name : Den2-Jakarta-1
Sequence Size : 100

Unit Size to Compare = 5
Pick up Location = 1

[52.4% / 63 bp] OPT.Score : < 62 >

```

1' CCGCCGTAAGCGCGAGCAACGCAATACAGGGGGCCCTTTGGTACA-GAGTCTGTGCTCTG
      * * * * *
1' CCAGCAGCCTACACCTCGTATTGCTGCCCTTCGCGCAATGCTACAGGGGACGAGGCCACCA

60' TCCAGCACTTTGGCCTCAGAACCCCCGGATACACTGAGAACG
      * * * * *
60' TTCGAAACTCGTTTCATAGGCCCTTCGTGGCGACTGAAACAG

```

1st Nucleotide Sequence

File Name : Den2-Malang-19
Sequence Size : 100

2nd Nucleotide Sequence

File Name : Den2-Surabaya-11
Sequence Size : 100

Unit Size to Compare = 5
Pick up Location = 1

[77.1% / 96 bp] OPT.Score : < 212 >

```

1' CCGCCGTAAGCGCGAGCAACGCAATACAGGGGGCCCTTTGGTACAGAGTCTGTGCT
      * * * * *
1' CCTCANATCATGTCAGTGCCTGGAAGCATAACTCAAGGGGGCCCTTTAGTCAG-GTCTGT-CT

57' CTGTCCAGCACTTTGGCCTCAGAACCCCCGGATACACTGAGAACG
      * * * * *
59' CTGTCCAGCACTTTGGCCTCA-AACCCCCGGAT-CACTGAGAACG

```

[78.2% / 101 bp] OPT.Score : < 242 >

```

1' CCGCCGTAAGCGCGAGCAACGCAATACA-GGGGGCCTTTGGTACAGAGTCTGTGCTCT
  * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *
1' CCCAGCATGGTGTGCTGGGAGCAGAACTCATGGGGGCCTTTGGTACAG-GTCTGT-CTCT

59' GTCCAGCACTTGGCCTCAGAACCCCCGGATACACTGAGAACG
  * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *
59' GTCCAGCACTTGGCCTCAAACCCCCGGTATACACTGAGAACG

```

1st Nucleotide Sequence

File Name : Den2-Malang-19
Sequence Size : 100

2nd Nucleotide Sequence

File Name : Den2-Malang-19
Sequence Size : 100

Unit Size to Compare = 5
Pick up Location = 1

[100.0% / 100 bp] OPT.Score : < 400 >

```

1' CCGCCGTAAGCGCGAGCAACGCAATACAGGGGGCCTTTGGTACAGAGTCTGTGCTCTGT
  * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *
1' CCGCCGTAAGCGCGAGCAACGCAATACAGGGGGCCTTTGGTACAGAGTCTGTGCTCTGT

61' CCAGCACTTGGCCTCAGAACCCCCGGATACACTGAGAACG
  * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *
61' CCAGCACTTGGCCTCAGAACCCCCGGATACACTGAGAACG

```

1st Nucleotide Sequence

File Name : Den2-Malang-19
Sequence Size : 100

2nd Nucleotide Sequence

File Name : Den2-Pacitan-5
Sequence Size : 100

Unit Size to Compare = 5
Pick up Location = 1

[84.6% / 91 bp] OPT.Score : < 250 >

```

1' CCGCCGTAAGCGCGAGCAACGCAATACAGGGGGCCTTTGGTACAGAGTCTGTGCTCTG
  * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *
1' CACTAGGGCGCGCTAGAACCATCAACTAATGGGGGCCTTTGGTCCAG-GTCTGT-CTCTG

60' TCCAGCACTTGGCCTCAGAACCCCCGG-ATACACTGAGAACG
  * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *
59' TCCAGCACTTGGCCTCAGAACCCCCGGTATACACTGAGAACG

```


Date : 2004.10.14

1st Nucleotide Sequence

File Name : Den2-Malang-19
Sequence Size : 100

2nd Nucleotide Sequence

File Name : Den2-Malang-8
Sequence Size : 100

Unit Size to Compare = 5
Pick up Location = 1

[83.5% / 91 bp] OPT.Score : < 214 >

```

1'   CCGCCGTAAGCGCGAGCAACGCAATACA-GGGGGCCTTTGGTACAGAGTCTGTGC
      * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *
1'   CCTTCACAGCTGGTGTGCTGGGAGCAGAACTCATGGGGCCCTTGGT-CAG-GTCTGT-C

56'  TCTGTCCAGCACTTGGCCTCAGAACCCCGGATACACTGAGAACG
      * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *
58'  TCTGTCCAGCACTTGGCCTCA-AACCCCGG-TACACTGAGAACG

```

1st Nucleotide Sequence

File Name : Den2-Malang-19
Sequence Size : 100

2nd Nucleotide Sequence

File Name : Den2-Jember-1
Sequence Size : 100

Unit Size to Compare = 5
Pick up Location = 1

[78.2% / 101 bp] OPT.Score : < 242 >

```

1'   CCGCCGTAAGCGCGAGCAACGCAATACA-GGGGGCCTTTGGTACAGAGTCTGTGCTCT
      ** * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *
1'   CCCAGCATGGTGTGCTGGGAGCAGAACTCATGGGGCCCTTGGTACAG-GTCTGT-CTCT

59'  GTCCAGCACTTGGCCTCAGAACCCCGGATACACTGAGAACG
      * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *
59'  GTCCAGCACTTGGCCTCAAACCCCGGTATACACTGAGAACG

```

1st Nucleotide Sequence

File Name : Den2-Malang-19
Sequence Size : 100

2nd Nucleotide Sequence

File Name : Den2-Jember-2
Sequence Size : 100

Unit Size to Compare = 5
Pick up Location = 1

[52.4% / 63 bp] OPT.Score : < 50 >

```

1' CCCAGCATGGTGTGCTGGGAGCAGAACTCATGGGGGCTTTGGGTACA--GGTC-TGTCTC
      * * * * *
1'   CCAGCAGCCYACACCTCGTATGTGCTGCCTTTCGGCCAATGCTACAGGGGACGAGGCAC

58' TGTCCAGCACTTTGGCCTCAAACCCCCCGGTATACACTGAGAAACG
      * * * * *
58' CATTCGAAACTGTGTCATAGGCCCTTCGTGGGCACTGAACACC
    
```

1st Nucleotide Sequence

File Name : Den2 Jember-1
 Sequence Size : 100

2nd Nucleotide Sequence

File Name : Den 4
 Sequence Size : 10649

Unit Size to Compare = 5
 Pick up Location = 1

[51.0% / 100 bp] OPT.Score : < 64 >

```

1'   CCCAGCATGGTGTGCTGGGAGCAGAAC-TCATGG-GGGCCTTTG
      * * * * *
9901' TATGCTCAGCAGTTCCAACGGAATGGTTTCCAACAAGCAGAACAACATGGTCAATCCACC

43' GTACAGGTCTGTCTCTGTCCA--GCACTTGGGCTCAAACCCCCCGGTATACACTGAGAAACG
      * * * * *
9961' CTCATCACCCAGTGGATGACCACTGAAGATATGCTCAA-GTGTGGAACAGAGTGTGGATA
    
```

1st Nucleotide Sequence

File Name : Den2-Jember-1
 Sequence Size : 100

2nd Nucleotide Sequence

File Name : Den2-Surabaya-11
 Sequence Size : 100

Unit Size to Compare = 5
 Pick up Location = 1

[87.0% / 100 bp] OPT.Score : < 295 >

```

1'   CCCAGCATGGTGTGCTGGGAGCAGAACTCATGGGGGCTTTGGGTACAGGTCTGTCTC
      * * * * *
1'   CCTCANATCATGCAGTGTGGAAGCATAACTCAAGGGGCCCTTTAGT-CAGGTCTGTCTC

58' TGTCCAGCACTTTGGCCTCAAACCCCCCGGTATACACTGAGAAACG
      * * * * *
60' TGTCCAGCACTTTGGCCTCAAACCCCCGG-AT-CACTGAGAAACG
    
```

1st Nucleotide Sequence

File Name : Den2-Jember-1
Sequence Size : 100

2nd Nucleotide Sequence

File Name : den2-usa
Sequence Size : 118

Unit Size to Compare = 5
Pick up Location = 1

[44.9% / 69 bp] OPT.Score : < 48 >

```

1' CCCAGCATGGTGTGCTGGGAGCAGAACTCATGGGGCCCTTGGTACAGGTCTGTCTCTGT
  .. *** ** * *** *** * ** * **** *
1' CAATATGCTGAAACGCGAGAGAAAACCGGTGTCAACTGTACAACAGTTGACAAAGAGA

61' CCAGCACTTGGCCCTCAAACCCCGGTATACACTGAGAACG
  *****
59' TTCTCACTTGGAAATGCTGCAAGGACGAGGACCACTAAAATTGTTTCATGGCCCTGGTGGCA

```

1st Nucleotide Sequence

File Name : Den2-Jember-1
Sequence Size : 100

2nd Nucleotide Sequence

File Name : Den2-Jamaica (N1409)-den2
Sequence Size : 118

Unit Size to Compare = 5
Pick up Location = 1

[46.4% / 69 bp] OPT.Score : < 54 >

```

1' CCCAGCATGGTGTGCTGGGAGCAGAACTCATGGGGCCCTTGGTACAGGTCTGTCTCTGT
  ** *** ** * *** *** * ** ** **** *
1' CAATATGCTGAAACGCGAGAGAAAACCGGTGTCAACTGTGCAACAGCTGACAAAGAGA

61' CCAGCACTTGGCCCTCAAACCCCGGTATACACTGAGAACG
  *****
59' TTCTCACTTGGAAATGCTGCAAGGACGAGGACCACTAAAATTGTTTCATGGCCCTGGTGGCG

```

1st Nucleotide Sequence

File Name : Den2-Jember-1
Sequence Size : 100

2nd Nucleotide Sequence

File Name : Den2-Jakarta-1
Sequence Size : 100

Unit Size to Compare = 5
Pick up Location = 1

```

1'  CCCAGCATGGTGTGCTGGGAGCAGAACTCATGGGGGCGCTTTGGTACAGGTCTGTCTCTGT
*****
1*  CCCAGCATGGTGTGCTGGGAGCAGAACTCATGGGGGCGCTTTGGTACAGGTCTGTCTCTGT

61'  CCAGCACTTGGCCTCAAACCCCCGGTATACACTGAGAACG
*****
61*  CCAGCACTTGGCCTCAAACCCCCGGTATACACTGAGAACG

```

1st Nucleotide Sequence

File Name : Den2-Jember-1
Sequence Size : 100

2nd Nucleotide Sequence

File Name : Den2-Malang-19
Sequence Size : 100

Unit Size to Compare = 5
Pick up Location = 1

```

1'  CCCAGCATGGTGTGCTGGGAGCAGAACTCATGGGGGCGCTTTGGTACAG-GTCTGT-CTCT
** * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *
1*  CCGCCGTAAAGCGGAGCAACGCAATACA-GGGGGCGCTTTGGTACAGAGTCTGTGCTCT

59'  GTCCAGCACTTGGCCTCAAACCCCCGGTATACACTGAGAACG
*****
59*  GTCCAGCACTTGGCCTCAGAACCCCCGGTATACACTGAGAACG

```

1st Nucleotide Sequence

File Name : Den2-Jember-1
Sequence Size : 100

2nd Nucleotide Sequence

File Name : Den2-Pacitan-5
Sequence Size : 100

Unit Size to Compare = 5
Pick up Location = 1

```

1'  CCCAGCATGGTGTGCTGGGAGCA-GAACTCATGGGGGCGCTTTGGTACAGGTCTGTCTCTG
** * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *
1*  CACTAGGGCGCGCTAGAACCATCAACTAATGGGGGCGCTTTGGTCCAGGTCTGTCTCTG

60'  TCCAGCACTTGGCCTCA-AACCCCCGGTATACACTGAGAACG
*****
59'  TCCAGCACTTGGCCTCAGAACCCCCGGTATACACTGAGAACG

```

[GENETYX-MAC : Nucleotide Sequence Homology Data]
 ADLN Perpustakaan Universitas Airlangga

Date : 2004.10.14

1st Nucleotide Sequence

File Name : Den2-Jember-1
 Sequence Size : 100

2nd Nucleotide Sequence

File Name : Den2-Malang-8
 Sequence Size : 100

Unit Size to Compare = 5
 Pick up Location = 1

[95.0% / 100 bp] OPT.Score : < 346 >

```

1'   CCCAGCATGGTGTGCTGGGAGCAGAACTCATGGGGCCTTTGGTACAGGTCTGTCT
   * * * * *
1'   CCTTCACAGC-TGGTGTGCTGGGAGCAGAACTCATGGGGCCTTTGGT-CAGGTCTGTCT

57' CTGTCCAGCACTTGGCCTCAAACCCCCGGTATACACTGAGAACG
   * * * * *
59' CTGTCCAGCACTTGGCCTCAAACCCCCGG--TACACTGAGAACG
  
```

1st Nucleotide Sequence

File Name : Den2-Jember-1
 Sequence Size : 100

2nd Nucleotide Sequence

File Name : Den2-Jember-1
 Sequence Size : 100

Unit Size to Compare = 5
 Pick up Location = 1

[100.0% / 100 bp] OPT.Score : < 400 >

```

1'   CCCAGCATGGTGTGCTGGGAGCAGAACTCATGGGGCCTTTGGTACAGGTCTGTCTCTGT
   * * * * *
1'   CCCAGCATGGTGTGCTGGGAGCAGAACTCATGGGGCCTTTGGTACAGGTCTGTCTCTGT

61' CCAGCACTTGGCCTCAAACCCCCGGTATACACTGAGAACG
   * * * * *
61' CCAGCACTTGGCCTCAAACCCCCGGTATACACTGAGAACG
  
```

1st Nucleotide Sequence

File Name : Den2-Jember-1
 Sequence Size : 100

2nd Nucleotide Sequence

File Name : Den2-Jember-2
 Sequence Size : 100

Unit Size to Compare = 5
 Pick up Location = 1

[55.2% / 29 bp] OPT.Score : < 41 >

```

1' CCAGCAGCCTACACCTCGTATTGCTGCCTTCGGGCAATGCTACAGGGGACGAGGCACCCAT
   ** * *** * ** *** *
1' CCTCANATCATGCAGTGTCTGGAAGCATAAC

61' TCGAAACTCGTTTCATAGGCCCTTCGTGGCGACTGAACAAG
   ** *
31' TCAAGGGGCCCTTTAGTCAGGTCTGTCTCTGTCCAGCACTTGGCCTCAAACCCCGGATC
    
```

1st Nucleotide Sequence

File Name : Den2-Jakarta-1
 Sequence Size : 100

2nd Nucleotide Sequence

File Name : den2-usa
 Sequence Size : 118

Unit Size to Compare = 5
 Pick up Location = 1

[69.3% / 88 bp] OPT.Score : < 104 >

```

1' CCAGCAGCCTACACCTCGTAT
   ** *** ** * **
1' CAATATGCTGAAAACCGAGAGAAAACCGGTGTCAACTGTACAACAGTTGACAAAGAG-AT

22' TCCTGCCTTCGGGCAATGCTACAGGGGACGAGGCACCCATTCGAAACTCGTTTCATAGGCC
   * * * ** * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *
60' T-CTCACP---GGAATGCTGCA-GGGACGAGG-ACCA--CTAAAATTTGTTTCAT-GGCC
82' TTCGTGGCGACTGAACAGG
   * * * * *
111' -TGGTGCCA
    
```

1st Nucleotide Sequence

File Name : Den2-Jakarta-1
 Sequence Size : 100

2nd Nucleotide Sequence

File Name : Den2-Jamaica (N1409)-den2
 Sequence Size : 118

Unit Size to Compare = 5
 Pick up Location = 1

[73.0% / 89 bp] OPT.Score : < 118 >

```

1' CCAGCAGCCTACACCTCGTAT
   ** **** * ** * **
1' CAATATGCTGAAAACCGAGAGAAAACCGGTGTCAACTGTGCAACAGCTGACAAAGAG-AT

22' TCCTGCCTTCGGGCAATGCTACAGGGGACGAGGCACCCATTCGAAACTCGTTTCATAGGCC
    
```

```

* * * * *
60 * T-CTCACTT---GGAATGCTGCA-AGGACGACG-ACCATT-AAAACCT-GTTCAT-GGCC
82 * TTGGTGGGACTGAACAG
   * * * * *
111 * TT-GTGGCG

```



1st Nucleotide Sequence

File Name : Den2-Jakarta-1
Sequence Size : 100

2nd Nucleotide Sequence

File Name : Den2-Malang-19
Sequence Size : 100

Unit Size to Compare = 5
Pick up Location = 1

[52.4% / 63 bp] OPT.Score : < 62 >

```

1' CCAGCAGCCTACACCTCGTATTGCTGCCTTCGGGCAATGCTACAGGGGACGAGGCACCA
   ** **** * * * * *
1* CCGCCGTAAAGCGGAGCAACGCAATACAGGGGGCCTTTGGTACA-GAGTCGTGCTCTG
60' TTCGAAACTCGTTCATAGGCCCTTCGTGGGACTGAACACG
   * * * * * * * * * * * * * * * * *
60' TCCAGCACTTGGCCTCAGAACCCCGGATACACTGAGAACG

```

1st Nucleotide Sequence

File Name : Den2-Jakarta-1
Sequence Size : 100

2nd Nucleotide Sequence

File Name : Den2-Pacitan-5
Sequence Size : 100

Unit Size to Compare = 5
Pick up Location = 1

[52.3% / 44 bp] OPT.Score : < 28 >

```

1'                                     CCAGCAGC
1' CACTAGGGGCGCTAGAAACCATCAACTAATGGGGGCTTTGGTCCAGGTCGTCTCTGTC
9' CTACACCTCGTATTGCTGCCTTCGGGCAATGCTACAGGGGACGAGGCACCATTCGAAACT
   * * * * * * * * * * * * * * * * *
61' CAGCACTTGGCCTCAGAACC--CCCGGTATAC-ACTGAGAACG

```

1st Nucleotide Sequence

File Name : Den2-Jakarta-1
Sequence Size : 100

2nd Nucleotide Sequence

File Name : Den2-Surabaya-11
Sequence Size : 100

Unit Size to Compare = 5
Pick up Location = 1

[GENETYX-MAC : Nucleotide Comparison Universitas Airlangga]

Date : 2004.10.14

1st Nucleotide Sequence

File Name : Den2-Jakarta-1
Sequence Size : 100

2nd Nucleotide Sequence

File Name : Den2-Malang-8
Sequence Size : 100

Unit Size to Compare = 5

Pick up Location = 1

[70.6% / 17 bp] OPT.Score : < 26 >

```

1'   CCAGCAGCCTACACCTGGTATTGCTGCCTTGGCGCAATGCTACAGGGGACGAGGCACC
      ***** ** ****
61'  GTCCAGCA--CTTGGCCTCAAACCCCGGTACACTGAGAACG

```

1st Nucleotide Sequence

File Name : Den2-Jakarta-1
Sequence Size : 100

2nd Nucleotide Sequence

File Name : Den2-Jember-1
Sequence Size : 100

Unit Size to Compare = 5

Pick up Location = 1

: [61.1% / 18 bp] OPT.Score : < 30 >

```

1'   CCAGCAGCCTACACCTGGTATTGCTGCCTTGGCGCAATGCTACAGGGGACGAG
      ** * ** ** ****
61'  CCAGCACTTGGCCTCAAACCCCGGTATACACTGAGAACG

```

1st Nucleotide Sequence

File Name : Den2-Jakarta-1
Sequence Size : 100

2nd Nucleotide Sequence

File Name : Den2-Jember-2
Sequence Size : 100

Unit Size to Compare = 5

Pick up Location = 1

[61.1% / 18 bp] OPT.Score : < 30 >

```

1'   CCAGCAGCCTACACCTGGTATTGCTGCCTTGGCGCAATGCTACAGGGGACGAG
      ** * ** ** ****
61'  CCAGCACTTGGCCTCAAACCCCGGTATTACACTGAGAACG

```


1st Nucleotide Sequence

File Name : Den2-Surabaya-11
Sequence Size : 100

2nd Nucleotide Sequence

File Name : den2-usa
Sequence Size : 118

Unit Size to Compare = 5
Pick up Location = 1

[72.7% / 22 bp] OPT.Score : < 42 >

```

1' CCTCANATCATGCAGTGTCTGGAAGCATAACTCAAGGGGCCCTTTAGTCAGGTCTGTGTC-TC
                                     **** *
1'                               CAATATGCTGAAACGGAGAGAAACCGCGTGTCAAC

60' TGTCCAGCACTTGGCCTCAAACCCCGGATCACTGAGAACG
   *** ** ** ** *
37' TGTACAACAGCTGACAAAGAGATTCTCACTTGGAAATGCTGCAAGGACGAGGACCACTAAA

```

1st Nucleotide Sequence

File Name : Den2-Surabaya-11
Sequence Size : 100

2nd Nucleotide Sequence

File Name : Den2-Jamaica (N1409)-den2
Sequence Size : 118

Unit Size to Compare = 5
Pick up Location = 1

[68.2% / 22 bp] OPT.Score : < 36 >

```

1' CCTCANATCATGCAGTGTCTGGAAGCATAACTCAAGGGGCCCTTTAGTCAGGTCTGTGTC-TC
                                     **** *
1'                               CAATATGCTGAAACGGAGAGAAACCGCGTGTCAAC

60' TGTCCAGCACTTGGCCTCAAACCCCGGATCACTGAGAACG
   *** ** ** ** *
37' TGTGCAACAGCTGACAAAGAGATTCTCACTTGGAAATGCTGCAAGGACGAGGACCACTAAA

```

1st Nucleotide Sequence

File Name : Den2-Surabaya-11
Sequence Size : 100

2nd Nucleotide Sequence

File Name : Den2-Jakarta-1
Sequence Size : 100

Unit Size to Compare = 5
Pick up Location = 1

DATA HUJAN SURABAYA

2001	JAN	FEB	MAR	APR	MAY	JUN	JUL	AUG	SEP	OCT	NOV	DEC
JUMLAH CURAH HUJAN (mm)	325.5	327.7	589.0	231.9	109.6	236.6	90.7	0.0	0.0	107.5	135.6	415.9
JUMLAH HARI HUJAN	24	19	26	17	12	13	4	0	0	12	13	16
HUJAN MAX/hari (mm)	68.4	115.9	90.8	54.9	32.0	112.5	60.6	0.0	0.0	31.2	38.5	87.8
RATA-RATA/bln	13.6	17.2	22.7	13.6	9.1	18.2	22.7	0.0	0.0	9.0	10.4	26.0
STD DEV	18.8	28.3	26.4	17.5	13.0	30.3	27.6	0.0	0.0	11.3	10.9	25.8

2000	JAN	FEB	MAR	APR	MAY	JUN	JUL	AUG	SEP	OCT	NOV	DEC
JUMLAH CURAH HUJAN (mm)	539.8	302.8	273.2	235.1	179.7	35.6	6.9	0.0	0.0	187.5	191.2	232.9
JUMLAH HARI HUJAN	26	17	18	17	15	5	2	0	0	8	22	11
HUJAN MAX/hari (mm)	83.5	56.5	77.9	45.5	59.1	32.0	4.4	0.0	0.0	68.5	44.1	68.0
RATA-RATA/bln	20.6	17.8	15.2	13.6	12.0	7.1	3.5	0.0	0.0	23.4	8.7	21.2
STD DEV	24.2	16.6	19.5	12.9	17.1	13.9	1.3	0.0	0.0	26.2	13.7	20.7

1999	JAN	FEB	MAR	APR	MAY	JUN	JUL	AUG	SEP	OCT	NOV	DEC
JUMLAH CURAH HUJAN (mm)	456.0	167.9	304.6	338.6	100.7	10.0	34.7	2.0	0.0	26.3	268.4	355.1
JUMLAH HARI HUJAN	31	21	31	29	31	30	31	31	0	31	30	25
HUJAN MAX/hari (mm)	87.0	33.1	82.7	82.8	38.6	7.8	23.0	2.0	0.0	19.6	77.8	72.3
RATA-RATA/bln	14.7	8.0	9.8	11.7	3.2	0.3	1.1	0.1	0.0	0.8	8.9	14.2
STD DEV	20.7	10.6	14.2	21.4	8.9	1.5	4.4	0.0	0.0	3.6	18.1	18.3

1998	JAN	FEB	MAR	APR	MAY	JUN	JUL	AUG	SEP	OCT	NOV	DEC
JUMLAH CURAH HUJAN (mm)	430.1	531.7	423.0	354.0	256.0	373.0	166.0	37.0	5.0	130.0	223.0	521.0
JUMLAH HARI HUJAN	21	18	22	20	14	18	20	5	3	14	20	22
HUJAN MAX/hari (mm)	109.0	85.0	127.0	66.0	56.0	72.0	34.0	28.0	2.0	31.0	46.0	115.0
RATA-RATA/bln	20.5	29.5	19.2	17.7	18.4	20.7	8.3	7.4	1.7	9.3	11.2	23.7
STD DEV	27.7	27.3	29.6	17.6	17.9	21.0	8.2	11.6	0.8	10.3	13.4	29.5

1997	JAN	FEB	MAR	APR	MAY	JUN	JUL	AUG	SEP	OCT	NOV	DEC
JUMLAH CURAH HUJAN (mm)	311.2	198.0	133.0	95.0	217.0	13.0	0.0	0.0	0.0	0.0	19.0	232.0
JUMLAH HARI HUJAN	26	19	11	10	10	6	0	0	0	0	1	22
HUJAN MAX/hari (mm)	57.9	93.0	41.0	36.0	78.0	7.0	0.0	0.0	0.0	0.0	19.0	60.0
RATA-RATA/bln	12.0	10.4	12.1	9.5	21.7	2.2	0.0	0.0	0.0	0.0	19.0	10.5
STD DEV	16.9	21.3	12.2	11.2	30.3	2.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	15.1

Sumber: BMG WI III Juanda

DATA HUJAN MALANG

2001	JAN	FEB	MAR	APR	MAY	JUN	JUL	AUG	SEP	OCT	NOV	DEC
JUMLAH CURAH HUJAN (mm)	278.0	375.0	181.0	85.0	2.0	9.0	4.0	92.0	4.0	255.0	459.0	245.0
JUMLAH HARI HUJAN	19	23	11	3	1	2	1	2	1	9	18	9
HUJAN MAX/hari (mm)	47.0	49.0	63.0	46.0	2.0	7.0	4.0	62.0	4.0	69.0	85.0	69.0

2000	JAN	FEB	MAR	APR	MAY	JUN	JUL	AUG	SEP	OCT	NOV	DEC
JUMLAH CURAH HUJAN (mm)	235.0	85.0	203.0	63.0	18.0	15.0	20.0	5.0	7.0	122.0	96.0	179.0
JUMLAH HARI HUJAN	19	11	13	6	6	6	1	1	1	9	10	9
HUJAN MAX/hari (mm)	40	31	37	18	5	9	20	5	7	29	30	125

1999	JAN	FEB	MAR	APR	MAY	JUN	JUL	AUG	SEP	OCT	NOV	DEC
JUMLAH CURAH HUJAN (mm)	991.0	582.0	825.0	933.0	96.0	18.0	0.0	1.0	6.0	323.0	305.0	241.0
JUMLAH HARI HUJAN	26	21	27	23	4	4	0	1	1	9	22	20
HUJAN MAX/hari (mm)	97.0	62.0	91.0	102.0	41.0	9.0	0.0	1.0	8.0	62.0	44.0	47.0

1998	JAN	FEB	MAR	APR	MAY	JUN	JUL	AUG	SEP	OCT	NOV	DEC
JUMLAH CURAH HUJAN (mm)	161.0	838.0	534.0	658.0	221.0	108.0	357.0	97.0	132.0	342.0	727.0	782.0
JUMLAH HARI HUJAN	21	10	26	10	9	10	17	6	8	20	18	17
HUJAN MAX/hari (mm)	44.0	108.0	71.0	100.0	169.0	130.0	61.0	31.0	32.0	57.0	80.0	86.0

1997	JAN	FEB	MAR	APR	MAY	JUN	JUL	AUG	SEP	OCT	NOV	DEC
JUMLAH CURAH HUJAN (mm)	342.0	493.0	81.0	265.0	73.0	22.0	1.0	5.0	10.0	45.0	142.0	200.0
JUMLAH HARI HUJAN	14	15	7	19	3	1	1	1	1	5	4	10
HUJAN MAX/hari (mm)	43.0	74.0	38.0	42.0	54.0	22.0	1.0	5.0	10.0	20.0	71.0	44.0

Sumber: BMKG WJ. III. Juanda

DATA HUJAN JEMBER

2001	JAN	FEB	MAR	APR	MAY	JUN	JUL	AUG	SEP	OCT	NOV	DEC
JUMLAH CURAH HUJAN (mm)	463.0	432.0	112.0	45.0	190.0	75.0	2.0	0.0	0.0	19.0	112.0	209.0
JUMLAH HARI HUJAN	22	22	8	9	7	4	1	0	0	4	10	15
HUJAN MAX/hari (mm)	70.0	97.0	61.0	14.0	60.0	30.0	2.0	0.0	0.0	9.0	32.0	35.0

2000	JAN	FEB	MAR	APR	MAY	JUN	JUL	AUG	SEP	OCT	NOV	DEC
JUMLAH CURAH HUJAN (mm)	269.0	307.0	536.0	185.0	62.0	91.0	0.0	0.0	0.0	171.0	447.0	140.0
JUMLAH HARI HUJAN	10	13	20	10	4	6	0	0	0	9	18	8
HUJAN MAX/hari (mm)	52	79	65	39	29	41	0	0	0	47	96	85

1999	JAN	FEB	MAR	APR	MAY	JUN	JUL	AUG	SEP	OCT	NOV	DEC
JUMLAH CURAH HUJAN (mm)	342.0	521.0	287.0	300.0	50.0	8.0	15.0	28.0	26.0	311.0	251.0	550.0
JUMLAH HARI HUJAN	17	18	17	16	4	1	3	2	3	13	16	22
HUJAN MAX/hari (mm)	66.0	163.0	114.0	77.0	35.0	8.0	10.0	26.0	14.0	62.0	67.0	141.0

1998	JAN	FEB	MAR	APR	MAY	JUN	JUL	AUG	SEP	OCT	NOV	DEC
JUMLAH CURAH HUJAN (mm)	356.0	402.0	221.0	250.0	60.0	81.0	179.0	70.0	70.0	275.0	183.0	368.0
JUMLAH HARI HUJAN	18	18	5	15	8	10	13	4	7	9	13	19
HUJAN MAX/hari (mm)	58.0	94.0	76.0	76.0	18.6	41.0	41.0	52.0	25.0	67.0	55.0	64.0

1997	JAN	FEB	MAR	APR	MAY	JUN	JUL	AUG	SEP	OCT	NOV	DEC
JUMLAH CURAH HUJAN (mm)	588.0	368.0	98.0	143.0	138.0	40.0	7.0	0.0	0.0	83.0	148.0	350.0
JUMLAH HARI HUJAN	23	14	7	15	5	4	1	0	0	5	10	17
HUJAN MAX/hari (mm)	72.0	92.0	38.0	39.0	61.0	20.0	7.0	0.0	0.0	35.0	39.0	66.0

Sumber : BMG Wil. III. Juanda

DATA SUHU UDARA SURABAYA

Tahun	Uraian	Jan	Peb	Mar	Apr	Mei	Jun	Jul	Ags	Sep	Okt	Nop	Des
2001	Rata-rata ($^{\circ}\text{C}$)	27.1	27.1	27.0	27.4	27.8	27.1	26.4	26.2	27.9	28.3	28.3	27.4
	Maksimum ($^{\circ}\text{C}$)	33.9	34.5	33.8	33.2	33.0	34.4	32.0	32.2	34.0	34.5	34.6	33.8
	Minimum ($^{\circ}\text{C}$)	23.0	23.0	22.6	23.4	20.0	22.1	18.7	19.8	22.0	23.6	23.9	23.4
2000	Rata-rata ($^{\circ}\text{C}$)	26.8	27.1	27.2	27.6	27.9	27.0	26.8	26.7	28.1	28.6	27.9	28.2
	Maksimum ($^{\circ}\text{C}$)	33.8	32.8	33.9	32.8	32.6	32.0	32.1	32.7	34.4	34.4	33.4	35.2
	Minimum ($^{\circ}\text{C}$)	22.4	22.6	22.3	23.0	23.0	21.2	20.2	20.7	21.6	22.6	23.3	23.2
1999	Rata-rata ($^{\circ}\text{C}$)	26.7	27.1	27.3	27.6	27.5	27.3	26.3	26.5	27.4	28.6	27.8	27.7
	Maksimum ($^{\circ}\text{C}$)	33.4	33.4	32.8	33.0	33.0	32.8	31.8	32.8	33.7	34.4	33.9	34.2
	Minimum ($^{\circ}\text{C}$)	23.4	23.7	22.6	22.8	22.2	21.8	20.3	19.0	18.8	21.9	23.2	23.2
1998	Rata-rata ($^{\circ}\text{C}$)	28.5	27.9	27.8	28.5	28.8	28.0	27.7	27.9	29.1	28.5	27.6	27.3
	Maksimum ($^{\circ}\text{C}$)	33.8	32.9	32.6	32.9	32.4	32.0	31.6	32.4	32.5	32.3	32.3	31.8
	Minimum ($^{\circ}\text{C}$)	24.7	24.6	24.8	25.1	25.2	24.8	23.8	23.7	23.8	25.1	24.7	24.2
1997	Rata-rata ($^{\circ}\text{C}$)	26.9	27.1	26.1	26.0	27.9	27.5	26.0	25.9	26.6	26.5	29.6	28.5
	Maksimum ($^{\circ}\text{C}$)	33.8	34.2	34.8	33.0	33.4	32.0	32.5	31.7	33.9	36.3	36.4	35.2
	Minimum ($^{\circ}\text{C}$)	22.4	22.6	22.2	23.0	22.5	20.0	19.3	18.8	19.4	18.1	20.0	22.4

Sumber : BMG Wil III Juanda

DATA SUHU UDARA MALANG

Tahun	Uraian	Jan	Peb	Mar	Apr	Mei	Jun	Jul	Ags	Sep	Okt	Nop	Des
2001	Rata-rata ($^{\circ}\text{C}$)	23.6	23.5	23.9	23.6	23.8	22.4	22.5	22.5	23.8	24.5	23.7	23.8
	Maksimum ($^{\circ}\text{C}$)	29.4	29.4	29.6	30.0	30.6	29.6	29.6	30.4	31.2	31.0	30.2	29.2
	Minimum ($^{\circ}\text{C}$)	19.6	19.6	18.8	17.4	17.8	15.8	15.0	15.4	17.0	19.0	19.6	17.0
2000	Rata-rata ($^{\circ}\text{C}$)	23.6	23.6	23.8	23.6	23.7	22.6	21.8	22.2	23.6	23.7	23.8	23.7
	Maksimum ($^{\circ}\text{C}$)	29.0	29.3	29.2	29.4	29.1	28.9	29.3	29.6	30.6	30.5	29.4	29.4
	Minimum ($^{\circ}\text{C}$)	19.8	19.4	19.2	16.4	15.2	15.8	14.0	14.9	17.0	18.2	20.2	18.1
1999	Rata-rata ($^{\circ}\text{C}$)	22.8	22.9	23.4	23.4	23.3	22.7	22.8	23.2	23.3	24.0	23.7	25.6
	Maksimum ($^{\circ}\text{C}$)	29.0	30.7	30.4	30.0	30.6	30.2	30.0	30.4	31.8	31.8	30.0	31.2
	Minimum ($^{\circ}\text{C}$)	19.4	18.2	17.4	17.3	15.4	16.6	13.2	14.0	12.0	16.8	18.8	18.4
1998	Rata-rata ($^{\circ}\text{C}$)	24.4	24.3	23.9	24.6	24.6	24.1	25.5	25.2	24.8	24.6	21.3	23.4
	Maksimum ($^{\circ}\text{C}$)	30.9	29.8	29.8	30.1	30.4	30.0	29.3	29.6	30.4	30.6	28.5	28.5
	Minimum ($^{\circ}\text{C}$)	19.5	20.4	20.3	20.3	20.0	19.3	19.6	16.4	16.4	19.1	16.8	16.8
1997	Rata-rata ($^{\circ}\text{C}$)	23.4	23.2	23.3	23.9	23.4	23.2	21.8	22.4	23.2	24.1	24.7	23.9
	Maksimum ($^{\circ}\text{C}$)	29.5	29.6	30.2	29.6	29.5	29.6	30.0	32.2	32.2	33.1	32.4	28.0
	Minimum ($^{\circ}\text{C}$)	18.5	19.3	17.0	18.8	17.0	15.8	13.2	14.4	14.4	14.0	18.2	18.5

Sumber : BMG WJ III Juanda

DATA SUHU UDARA JEMBER

Tahun	Uraian	Jan	Peb	Mar	Apr	Mei	Jun	Jul	Ags	Sep	Okt	Nop	Des
2001	Rata-rata ($^{\circ}\text{C}$)	27.4	26.9	26.7	26.5	27.0	27.3	26.4	27.0	27.3	26.3	26.5	27.1
	Maksimum ($^{\circ}\text{C}$)	33.0	33.0	32.0	32.0	34.0	34.0	33.0	33.0	33.0	33.0	33.0	33.0
	Minimum ($^{\circ}\text{C}$)	22.0	21.0	22.0	22.0	20.0	21.0	20.0	20.0	21.0	21.0	21.0	22.0
2000	Rata-rata ($^{\circ}\text{C}$)	26.9	26.8	27.1	26.8	27.0	25.4	25.2	25.4	27.1	27.3	27.0	27.9
	Maksimum ($^{\circ}\text{C}$)	35.0	34.8	35.0	34.6	35.0	33.0	34.3	35.6	35.3	35.0	35.0	34.8
	Minimum ($^{\circ}\text{C}$)	20.7	20.4	21.0	20.0	19.8	17.2	17.0	15.7	17.8	20.0	22.8	20.7
1999	Rata-rata ($^{\circ}\text{C}$)	27.9	28.1	27.8	27.0	28.0	27.9	27.5	27.6	27.8	28.5	28.1	28.1
	Maksimum ($^{\circ}\text{C}$)	33.2	33.2	33.1	33.4	33.6	33.2	33.1	33.3	33.5	33.5	33.3	33.3
	Minimum ($^{\circ}\text{C}$)	23.2	23.2	22.4	22.8	22.2	23.1	20.5	18.5	22.7	22.5	22.0	23.5
1998	Rata-rata ($^{\circ}\text{C}$)	28.5	28.1	28.2	28.1	28.3	28.0	27.9	27.8	27.1	27.9	28.0	27.8
	Maksimum ($^{\circ}\text{C}$)	33.7	33.2	33.1	33.4	33.5	33.5	33.1	33.3	33.3	33.0	33.3	33.5
	Minimum ($^{\circ}\text{C}$)	22.9	23.2	22.5	23.5	23.0	23.0	22.5	22.4	23.7	23.7	23.8	23.0
1997	Rata-rata ($^{\circ}\text{C}$)	27.5	27.0	27.8	27.2	28.0	27.2	26.4	26.4	26.7	27.7	28.6	28.7
	Maksimum ($^{\circ}\text{C}$)	33.2	33.0	32.6	32.2	33.6	33.8	32.5	32.2	33.0	34.1	33.5	33.5
	Minimum ($^{\circ}\text{C}$)	22.0	22.6	21.9	20.7	21.3	20.0	20.0	21.8	21.2	20.6	22.4	22.0

Sumber : BMG Wil III Juanda

ARAH & KECEPATAN ANGIN DAERAH SURABAYA

TAHUN	BULAN	RATA-RATA ANGIN		MAXIMUM	
		ARAH	KECEPATAN (Knots)	ARAH	KECEPATAN (Knots)
1997	JANUARY	W	7.0	NW	15.0
	FEBRUARY	W	6.0	W	17.0
	MARCH	E	6.0	NW	20.0
	APRIL	E	6.0	E	13.0
	MAY	E	5.0	E	10.0
	JUNE	E	6.0	E	13.0
	JULY	E	6.0	E	14.0
	AUGUST	E	7.0	E	17.0
	SEPTEMBER	E	7.0	E	12.0
	OCTOBER	E	6.0	E	13.0
	NOVEMBER	E	6.0	NE	13.0
	DECEMBER	E	5.0	W	15.0

TAHUN	BULAN	RATA-RATA ANGIN		MAXIMUM	
		ARAH	KECEPATAN (Knots)	ARAH	KECEPATAN (Knots)
1998	JANUARY	W	6.0	W	15.0
	FEBRUARY	E	5.0	W	20.0
	MARCH	E	5.0	W	20.0
	APRIL	E	6.0	E	10.0
	MAY	E	5.0	E	12.0
	JUNE	E	6.0	E	12.0
	JULY	E	6.0	E	12.0
	AUGUST	E	5.0	E	12.0
	SEPTEMBER	E	5.0	E	13.0
	OCTOBER	E	8.0	E	12.0
	NOVEMBER	W	5.0	W	12.0
	DECEMBER	W	5.0	W	15.0

Sumber : BMG Wil. III Juanda

ARAH & KECEPATAN ANGIN DAERAH SURABAYA

TAHUN	BULAN	RATA-RATA ANGIN		MAXIMUM	
		ARAH	KECEPATAN (Knots)	ARAH	KECEPATAN (Knots)
1969	JANUARY	W	7.0	SW	17.0
	FEBRUARY	W	6.0	NW	17.0
	MARCH	VRB	5.0	NW	17.0
	APRIL	E	5.0	E	12.0
	MAY	E	6.0	E	12.0
	JUNE	E	7.0	E	13.0
	JULY	E	6.0	E	14.0
	AUGUST	E	8.0	E	15.0
	SEPTEMBER	E	9.0	E	14.0
	OCTOBER	E	9.0	E	15.0
	NOVEMBER	E	6.0	SW	24.0
	DECEMBER	VRB	9.0	NW	25.0

TAHUN	BULAN	RATA-RATA ANGIN		MAXIMUM	
		ARAH	KECEPATAN (Knots)	ARAH	KECEPATAN (Knots)
2000	JANUARY	W	7.0	NE	25.0
	FEBRUARY	W	7.0	NW	15.0
	MARCH	W	8.0	W	20.0
	APRIL	E	8.0	NE	20.0
	MAY	E	8.0	E	20.0
	JUNE	E	8.0	E	20.0
	JULY	E	9.0	E	23.0
	AUGUST	E	9.0	E	19.0
	SEPTEMBER	E	10.0	E	17.0
	OCTOBER	E	8.0	SE	20.0
	NOVEMBER	E	8.0	NW	23.0
	DECEMBER	W	9.0	NW	40.0

Sumber : BMG Wil. III Juanda

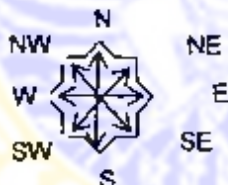
ARAH & KECEPATAN ANGIN DAERAH SURABAYA

TAHUN	BULAN	RATA-RATA ANGIN		MAXIMUM	
		ARAH	KECEPATAN (Knots)	ARAH	KECEPATAN (Knots)
2001	JANUARY	W	7.0	NW	22
	FEBRUARY	W	9.0	NW	26
	MARCH	NW	6.0	NW	15
	APRIL	E	6.0	NE	20
	MAY	E	6.0	E	12
	JUNE	E	7.0	E	14
	JULY	E	6.0	E	12
	AUGUST	E	7.0	E	17
	SEPTEMBER	E	5.0	NE	13
	OCTOBER	E	5.0	NE	12
	NOVEMBER	SE	5.0	NW	20
	DECEMBER	W	5.0	W	11

Sumber : BMG Wil. III Juanda

KETERANGAN

Arah angin :



Kecepatan :

1 Knots = 1.852 Km/Jam

ARAH & KECEPATAN ANGIN DAERAH MALANG

TAHUN	BULAN	RATA-RATA ANGIN		MAXIMUM	
		ARAH	KECEPATAN (Knots)	ARAH	KECEPATAN (Knots)
1997	JANUARY	S	8.0	NE	20.0
	FEBRUARY	NE	7.0	NE	23.0
	MARCH	NE	8.0	NE	20.0
	APRIL	NE	7.0	NE	21.0
	MAY	S	7.0	NE	20.0
	JUNE	E	8.0	NE	18.0
	JULY	E	7.0	NE	24.0
	AUGUST	S	9.0	NE	30.0
	SEPTEMBER	S	8.0	NE	20.0
	OCTOBER	S	9.0	NE	20.0
	NOVEMBER	VRB	5.0	W	16.0
	DECEMBER	VRB	6.0	W	12.0

TAHUN	BULAN	RATA-RATA ANGIN		MAXIMUM	
		ARAH	KECEPATAN (Knots)	ARAH	KECEPATAN (Knots)
1998	JANUARY	S	5.0	N	14.0
	FEBRUARY	NE	6.0	NE	18.0
	MARCH	NE	7.0	NE	20.0
	APRIL	NE	7.0	NE	20.0
	MAY	NE	6.0	N	14.0
	JUNE	E	7.0	N	20.0
	JULY	VRB	4.0	N	20.0
	AUGUST	S	6.0	S	14.0
	SEPTEMBER	S	7.0	NE	20.0
	OCTOBER	NE	8.0	NE	20.0
	NOVEMBER	S	6.0	S	16.0
	DECEMBER	S	7.0	S	19.0

Sumber : BMG Wil. III Juanda

ARAH & KECEPATAN ANGIN DAERAH MALANG

TAHUN	BULAN	RATA-RATA ANGIN		MAXIMUM	
		ARAH	KECEPATAN (Knots)	ARAH	KECEPATAN (Knots)
1999	JANUARY	SE	6.0	N	15.0
	FEBRUARY	S	6.0	NE	18.0
	MARCH	S	8.0	NE	20.0
	APRIL	S	5.0	S	12.0
	MAY	S	4.0	SW	18.0
	JUNE	S	3.0	E	14.0
	JULY	S	6.0	S	14.0
	AUGUST	S	6.0	S	14.0
	SEPTEMBER	S	8.0	E	25.0
	OCTOBER	S	3.0	S	12.0
	NOVEMBER	S	3.0	E	12.0
	DECEMBER	S	5.0	W	23.0

TAHUN	BULAN	RATA-RATA ANGIN		MAXIMUM	
		ARAH	KECEPATAN (Knots)	ARAH	KECEPATAN (Knots)
2000	JANUARY	S	4.0	W	22.0
	FEBRUARY	S	3.0	W	16.0
	MARCH	VRB	3.0	W	24.0
	APRIL	S	4.0	NE	12.0
	MAY	S	3.0	SE	20.0
	JUNE	E	3.0	SE	12.0
	JULY	S	5.0	NE	30.0
	AUGUST	S	3.0	E	16.0
	SEPTEMBER	S	6.0	N	20.0
	OCTOBER	S	4.0	S	14.0
	NOVEMBER	S	3.0	E	20.0
	DECEMBER	S	5.0	S	20.0

Sumber : BMG Wil. III Juanda

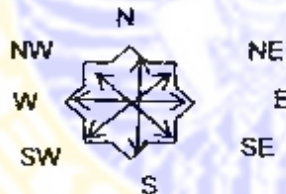
ARAH & KECEPATAN ANGIN DAERAH MALANG

TAHUN	BULAN	RATA-RATA ANGIN		MAXIMUM	
		ARAH	KECEPATAN (Knots)	ARAH	KECEPATAN (Knots)
2001	JANUARY	VRB	2.0	W	20
	FEBRUARY	S	4.0	NW	26
	MARCH	VRB	2.0	S	14
	APRIL	VRB	2.0	E	16
	MAY	VRB	4.0	E	20
	JUNE	E	4.0	E	20
	JULY	S	3.0	E	16
	AUGUST	S	4.0	E	16
	SEPTEMBER	S	5.0	E	20
	OCTOBER	S	5.0	E	20
	NOVEMBER	S	7.0	S	20
	DECEMBER	S	3.0	S	18

Sumber : BMG Wil. III Juanda

KETERANGAN

Arah angin :



Kecepatan :

1 Knots = 1.852 Km/Jam

ARAH & KECEPATAN ANGIN DAERAH JEMBER

TAHUN	BULAN	RATA-RATA ANGIN		MAXIMUM	
		ARAH	KECEPATAN (Knots)	ARAH	KECEPATAN (Knots)
1997	JANUARY	VRB	2.7	N	18.0
	FEBRUARY	N	2.2	SW	17.0
	MARCH	SE	2.6	S	22.0
	APRIL	S	1.9	N	15.0
	MAY	S	2.5	N	15.0
	JUNE	SE	2.1	NE	12.0
	JULY	S	3.2	S	20.0
	AUGUST	S	3.7	S	18.0
	SEPTEMBER	S	3.4	NE	20.0
	OCTOBER	S	4.0	S	15.0
	NOVEMBER	S	5.0	S	13.0
	DECEMBER	SE	2.4	N	20.0

TAHUN	BULAN	RATA-RATA ANGIN		MAXIMUM	
		ARAH	KECEPATAN (Knots)	ARAH	KECEPATAN (Knots)
1998	JANUARY	S	2.2	W	20.0
	FEBRUARY	U	3.3	U	20.0
	MARCH	U	3.2	U	22.0
	APRIL	NE	3.3	N	18.0
	MAY	S	2.0	NE	13.0
	JUNE	NE	3.1	N	15.0
	JULY	NE	2.7	NE	16.0
	AUGUST	S	3.6	S	15.0
	SEPTEMBER	S	3.3	N	12.0
	OCTOBER	S	2.7	N	27.0
	NOVEMBER	S	2.6	S	14.0
	DECEMBER	CALM	2.3	S	18.0

Sumber : BMG Wil. III Juanda

ARAH & KECEPATAN ANGIN DAERAH JEMBER

TAHUN	BULAN	RATA-RATA ANGIN		MAXIMUM	
		ARAH	KECEPATAN (Knots)	ARAH	KECEPATAN (Knots)
1999	JANUARY	S	2.0	SW	12.0
	FEBRUARY	NE	2.3	SW	18.0
	MARCH	S	2.9	NE	18.0
	APRIL	S	2.1	S	10.0
	MAY	S	2.5	S	10.0
	JUNE	S	2.8	N	15.0
	JULY	S	2.6	S	10.0
	AUGUST	S	2.8	N	15.0
	SEPTEMBER	S	3.2	S	10.0
	OCTOBER	S	2.6	S	13.0
	NOVEMBER	S	2.0	S	12.0
	DECEMBER	S	2.3	SW	15.0

TAHUN	BULAN	RATA-RATA ANGIN		MAXIMUM	
		ARAH	KECEPATAN (Knots)	ARAH	KECEPATAN (Knots)
2000	JANUARY	S	2.1	N	25.0
	FEBRUARY	NE	2.5	SE	15.0
	MARCH	N	2.2	N	20.0
	APRIL	S	1.9	NE	20.0
	MAY	S	2.2	S	12.0
	JUNE	S	2.9	S	12.0
	JULY	S	3.0	N	15.0
	AUGUST	S	2.2	S	10.0
	SEPTEMBER	SW	4.0	SE	12.0
	OCTOBER	S	3.1	SE	14.0
	NOVEMBER	S	3.5	SW	15.0
	DECEMBER	S	3.2	W	17.0

Sumber : BMG Wil. III Juanda

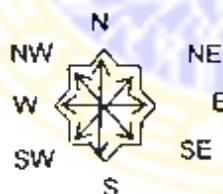
ARAH & KECEPATAN ANGIN DAERAH JEMBER

TAHUN	BULAN	RATA-RATA ANGIN		MAXIMUM	
		ARAH	KECEPATAN (Knots)	ARAH	KECEPATAN (Knots)
2001	JANUARY	W	1.8	N	14
	FEBRUARY	N	2.6	SW	22
	MARCH	N	2.0	N	18
	APRIL	S	2.2	NE	12
	MAY	SW	2.6	E	10
	JUNE	E	3.1	N	15
	JULY	S	3.1	W	16
	AUGUST	S	3.3	SE	15
	SEPTEMBER	S	3.5	S	12
	OCTOBER	S	2.4	SE	12
	NOVEMBER	SE	2.1	W	12
	DECEMBER	S	3.7	SW	26

Sumber : BMG Wil. III Juanda

KETERANGAN

Arah angin :



Kecepatan :

1 Knots = 1.852 Km/Jam

DATA KELEMBABAN NISBI UDARA SURABAYA

Tahun	Uraian	Jan	Peb	Mar	Apr	Mei	Jun	Jul	Ags	Sep	Okt	Nop	Des
2001	Rata-rata (%)	83	81	84	81	76	59	78	74	70	71	75	79
	Maksimum (%)	100	100	100	99	97	71	100	98	94	96	99	98
	Minimum (%)	52	47	51	44	44	47	40	21	40	34	32	44
2000	Rata-rata (%)	78	79	89	78	78	72	75	74	72	73	81	75
	Maksimum (%)	83	79	91	83	82	74	79	79	76	94	95	95
	Minimum (%)	78	77	81	76	78	71	75	73	67	33	57	35
1999	Rata-rata (%)	91	87	81	77	78	75	76	71	74	75	77	73
	Maksimum (%)	97	91	85	84	78	77	77	71	74	79	80	83
	Minimum (%)	86	88	83	74	76	74	76	71	72	70	70	70
1998	Rata-rata (%)	80	84	85	83	80	83	82	74	73	78	81	81
	Maksimum (%)	97	97	97	98	98	97	97	97	87	93	93	92
	Minimum (%)	52	59	57	58	56	62	59	45	39	49	57	48
1997	Rata-rata (%)	78	81	77	80	79	75	73	72	70	64	67	77
	Maksimum (%)	93	93	95	95	97	98	93	88	88	84	88	95
	Minimum (%)	53	57	51	59	55	43	42	47	38	33	37	47

Sumber : BMG Wil. III Juanda

DATA KELEMBABAN NISBI UDARA MALANG

Tahun	Uraian	Jan	Peb	Mar	Apr	Mei	Jun	Jul	Ags	Sep	Okt	Nop	Des
2,001	Rata-rata (%)	85	85	85	88	85	84	81	80	79	85	89	83
	Maksimum (%)	98	97	100	98	96	98	98	97	96	96	98	96
	Minimum (%)	46	54	55	59	59	51	43	40	37	40	46	44
2,000	Rata-rata (%)	76	80	79	81	76	71	72	69	74	79	82	78
	Maksimum (%)	94	98	96	94	91	91	90	84	91	98	98	91
	Minimum (%)	51	53	53	57	53	53	53	41	43	39	53	47
1,999	Rata-rata (%)	78	81	81	81	73	72	71	69	67	76	79	80
	Maksimum (%)	97	95	96	91	95	98	98	97	97	93	95	97
	Minimum (%)	64	68	73	66	43	44	46	37	27	43	59	52
1,998	Rata-rata (%)	78	82	83	80	75	77	69	75	71	74	78	85
	Maksimum (%)	95	95	98	96	97	96	97	98	97	98	97	99
	Minimum (%)	47	60	59	49	51	50	41	57	44	45	57	67
1,997	Rata-rata (%)	78	80	75	77	73	69	70	67	77	68	73	79
	Maksimum (%)	97	95	96	95	91	90	84	91	98	98	91	96
	Minimum (%)	53	54	51	56	51	49	39	30	24	24	32	44

Sumber : BMG Wil. III Juanda

DATA KELEMBABAN NISBI UDARA JEMBER

Tahun	Uraian	Jan	Peb	Mar	Apr	Mei	Jun	Jul	Ags	Sep	Okt	Nop	Des
2.001	Rata-rata (%)	79	78	80	81	79	78	81	79	77	80	80	79
	Maksimum (%)	90	90	90	90	90	90	95	89	91	90	90	90
	Minimum (%)	54	54	54	54	55	56	77	54	51	56	59	59
2.000	Rata-rata (%)	68	69	69	70	70	70	68	67	67	69	67	65
	Maksimum (%)	89	89	88	89	89	87	83	79	78	84	82	75
	Minimum (%)	45	45	45	44	46	44	42	45	43	46	46	45
1.999	Rata-rata (%)	71	71	72	73	70	67	66	70	71	67	67	67
	Maksimum (%)	89	82	89	91	80	82	82	89	91	93	83	89
	Minimum (%)	48	49	49	48	46	46	44	44	44	45	44	41
1.998	Rata-rata (%)	69	71	70	72	70	73	72	70	73	72	70	74
	Maksimum (%)	84	82	87	84	85	89	85	87	85	87	96	86
	Minimum (%)	45	45	49	47	47	45	48	46	49	48	47	48
1.997	Rata-rata (%)	77	78	77	80	76	76	76	77	76	71	66	67
	Maksimum (%)	88	83	89	92	84	83	83	83	89	92	92	96
	Minimum (%)	58	58	55	60	51	48	56	52	53	46	47	51

Sumber: BMG Wil. III Juanda

Lampiran 15 **HASIL ANALISIS PERBANDINGAN KLIMATOLOGI
ANTAR WILAYAH PENELITIAN**

Oneway

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum	
					Lower Bound	Upper Bound			
jumlah curah hujan (mm)	Surabaya	60	191.648	166.1356	21.4480	148.731	234.566	.0	589.0
	Malang	60	233.233	262.3879	33.8741	165.451	301.015	.0	991.0
	Jember	60	184.417	166.9843	21.5576	141.280	227.553	.0	588.0
	Total	180	203.099	203.5638	15.1742	173.156	233.043	.0	891.0
curah hujan maksimum	Surabaya	60	48.362	35.6741	4.6055	39.146	57.577	.0	127.0
	Malang	60	47.000	37.0693	4.7856	37.424	56.578	.0	169.0
	Jember	60	48.067	35.9546	4.6430	38.776	57.357	.0	163.0
	Total	180	47.809	36.0427	2.6865	42.508	53.111	.0	169.0
curah hujan rata-rata	Surabaya	60	11.063	8.1962	1.0561	8.946	13.181	.0	29.5
	Malang	60	19.292	15.8740	2.0483	15.191	23.393	.0	63.8
	Jember	60	15.389	9.4009	1.2136	12.960	17.817	.0	44.2
	Total	180	15.248	12.0701	0.997	13.473	17.023	.0	63.8

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
jumlah curah hujan (mm)	Between Groups	83293.523	2	41646.762	1.005	.368
	Within Groups	7335603	177	41444.083		
	Total	7418896	179			
curah hujan maksimum	Between Groups	61.579	2	30.789	.023	.977
	Within Groups	232473.5	177	1313.409		
	Total	232535.1	179			
curah hujan rata-rata	Between Groups	2033.123	2	1016.561	7.483	.001
	Within Groups	24044.821	177	135.846		
	Total	26077.943	179			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Tukey HSD

Dependent Variable	(I) kota	(J) kota	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
jumlah curah hujan (mm)	Surabaya	Malang	-41.585	37.1681	.504	-129.436	46.266
		Jember	7.232	37.1681	.979	-80.619	95.082
	Malang	Surabaya	41.585	37.1681	.504	-46.266	129.436
		Jember	48.817	37.1681	.390	-39.034	136.667
	Jember	Surabaya	-7.232	37.1681	.979	-95.082	80.619
		Malang	-48.817	37.1681	.390	-136.667	39.034
curah hujan maksimum	Surabaya	Malang	1.362	6.6167	.977	-14.277	17.001
		Jember	.295	6.6167	.999	-15.344	15.934
	Malang	Surabaya	-1.362	6.6167	.977	-17.001	14.277
		Jember	-1.067	6.6167	.986	-16.706	14.572
	Jember	Surabaya	-.295	6.6167	.999	-15.934	15.344
		Malang	1.067	6.6167	.986	-14.572	16.706
curah hujan rata-rata	Surabaya	Malang	-8.229*	2.1280	.000	-13.258	-3.199
		Jember	-4.326	2.1280	.107	-9.355	.704
	Malang	Surabaya	8.229*	2.1280	.000	3.199	13.258
		Jember	3.903	2.1280	.161	-1.126	8.933
	Jember	Surabaya	4.326	2.1280	.107	-.704	9.355
		Malang	-3.903	2.1280	.161	-8.933	1.126

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Homogeneous Subsets

jumlah curah hujan (mm)

Tukey HSD^a

kota	N	Subset for alpha = .05
		1
Jember	60	184.417
Surabaya	60	191.648
Malang	60	233.233
Sig.		.390

Means for groups in homogeneous subsets are displayed

^a Uses Harmonic Mean Sample Size = 60.000

curah hujan maksimumTukey HSD^a

kota	N	Subset for alpha = .05
		1
Malang	60	47.000
Jember	60	48.067
Surabaya	60	48.362
Sig.		.977

Means for groups in homogeneous subsets are displayed

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 60.000

curah hujan rata-rataTukey HSD^a

kota	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
Surabaya	60	11.063	
Jember	60	15.389	15.389
Malang	60		19.292
Sig.		107	.161

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 60.000.

Oneway

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
suhu rata-rata	Surabaya	60	27.465	.8153	.1053	27.254	27.676	25.9	29.8
	Malang	60	23.560	.8504	.1098	23.340	23.780	21.3	25.6
	Jember	60	31.662	.334001	.43119	23.034	40.290	25.2	286.0
	Total	180	27.562	19.4721	1.4514	24.698	30.426	21.3	286.0
suhu maksimum	Surabaya	60	33.332	1.0890	.1406	33.050	33.613	31.6	36.4
	Malang	60	30.063	.9917	.1280	29.807	30.320	28.0	33.1
	Jember	60	33.503	.8149	.1052	33.293	33.714	32.0	35.6
	Total	180	32.298	1.8582	.1385	32.026	32.573	28.0	36.4
suhu minimum	Surabaya	60	22.496	2.0477	.2644	21.969	23.027	18.1	29.8
	Malang	60	17.380	2.1010	.2712	16.817	17.903	12.0	20.4
	Jember	60	21.607	1.7777	.2295	21.147	22.066	15.7	27.0
	Total	180	20.468	2.9687	.2228	20.049	20.928	12.0	29.8

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
suhu rata-rata	Between Groups	1969.961	2	984.980	2.646	.074
	Within Groups	65900.242	177	372.318		
	Total	67870.203	179			
suhu maksimum	Between Groups	450.901	2	225.451	238.710	.000
	Within Groups	167.169	177	.944		
	Total	618.070	179			
suhu minimum	Between Groups	904.634	2	452.317	115.312	.000
	Within Groups	694.291	177	3.923		
	Total	1598.925	179			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Tukey HSD

Dependent Variable	(I) kota	(J) kota	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
suhu rata-rata	Surabaya	Malang	3.905	3.5229	.510	-4.422	12.232
		Jember	-4.197	3.5229	.460	-12.523	4.130
	Malang	Surabaya	-3.905	3.5229	.510	-12.232	4.422
		Jember	-8.102	3.5229	.058	-16.428	.225
	Jember	Surabaya	4.197	3.5229	.460	-4.130	12.523
		Malang	8.102	3.5229	.058	-.225	16.428
suhu maksimum	Surabaya	Malang	3.268*	.1774	.000	2.849	3.688
		Jember	-.172	.1774	.598	-.591	.248
	Malang	Surabaya	-3.268*	.1774	.000	-3.688	-2.849
		Jember	-3.440*	.1774	.000	-3.859	-3.021
	Jember	Surabaya	.172	.1774	.598	-.248	.591
		Malang	3.440*	.1774	.000	3.021	3.859
suhu minimum	Surabaya	Malang	5.138*	.3616	.000	4.284	5.993
		Jember	.892*	.3616	.039	.037	1.746
	Malang	Surabaya	-5.138*	.3616	.000	-5.993	-4.284
		Jember	-4.247*	.3616	.000	-5.101	-3.392
	Jember	Surabaya	-.892*	.3616	.039	-1.746	-.037
		Malang	4.247*	.3616	.000	3.392	5.101

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Homogeneous Subsets

suhu rata-rata

Tukey HSD^a

kota	N	Subset for alpha = .05
		1
Malang	60	23.560
Surabaya	60	27.465
Jember	60	31.662
Sig.		.058

Means for groups in homogeneous subsets are displayed

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 60.000.

suhu maksimumTukey HSD^a

kota	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
Malang	60	30.063	
Surabaya	60		33.332
Jember	60		33.503
Sig		1.000	.598

Means for groups in homogeneous subsets are displayed

^a Uses Harmonic Mean Sample Size = 60.000**suhu minimum**Tukey HSD^a

kota	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
Malang	60	17.360		
Jember	60		21.607	
Surabaya	60			22.498
Sig		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed

^a Uses Harmonic Mean Sample Size = 60.000

Oneway

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum	
					Lower Bound	Upper Bound			
kecepatan angin rata-rata	Surabaya	60	6.900	1.3925	.1798	6.240	6.960	5.0	10.0
	Malang	60	5.317	1.8285	.2487	4.819	5.814	2.0	9.0
	Jember	60	2.755	.8400	.1826	2.590	2.920	1.8	5.0
	Total	180	4.891	2.1370	.1583	4.578	5.205	1.8	10.0
kecepatan angin maksimum	Surabaya	60	18.487	5.1666	.8870	15.132	17.801	10.0	40.0
	Malang	60	18.487	4.1271	.5328	17.401	19.533	12.0	30.0
	Jember	60	15.733	4.0999	.5293	14.674	18.792	10.0	27.0
	Total	180	16.889	4.6148	.3440	16.210	17.568	10.0	40.0

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
kecepatan angin rata-rata	Between Groups	459.862	2	229.931	113.823	.000
	Within Groups	357.552	177	2.020		
	Total	817.414	179			
kecepatan angin maksimum	Between Groups	240.178	2	120.089	5.951	.003
	Within Groups	3571.600	177	20.179		
	Total	3811.778	179			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Tukey HSD

Dependent Variable	(I) kota	(J) kota	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
kecepatan angin rata-rata	Surabaya	Malang	1.283*	.2595	.000	.670	1.897
		Jember	3.845*	.2595	.000	3.232	4.458
		Malang	-1.283*	.2595	.000	-1.897	-.670
	Jember	Surabaya	2.562*	.2595	.000	1.948	3.175
		Malang	-3.845*	.2595	.000	-4.458	-3.232
		Surabaya	-2.562*	.2595	.000	-3.175	-1.948
kecepatan angin maksimum	Surabaya	Malang	-2.000*	.8201	.041	-3.938	-.062
		Jember	.733	.8201	.645	-1.205	2.672
	Malang	Surabaya	2.000*	.8201	.041	.062	3.938
		Jember	2.733*	.8201	.003	.795	4.672
	Jember	Surabaya	-.733	.8201	.645	-2.672	1.205
		Malang	-2.733*	.8201	.003	-4.672	-.795

* The mean difference is significant at the .05 level.

Homogeneous Subsets

kecepatan angin rata-rata

Tukey HSD^a

kota	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
Jember	60	2.755		
Malang	60		5.317	
Surabaya	60			6.800
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 60.000.

kecepatan angin maksimum

Tukey HSD^a

kota	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
Jember	60	15.733	
Surabaya	60	15.467	
Malang	60		18.467
Sig.		.645	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 60.000.

Oneway

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
kelembaban rata-rata	Surabaya	60	77.02	5.497	710	75.60	78.44	59	87
	Malang	60	77.45	5.497	710	76.03	78.87	67	89
	Jember	60	72.60	4.702	607	71.38	73.81	65	81
	Total	180	75.69	5.660	422	74.86	76.52	59	89
kelembaban maksimum	Surabaya	60	99.65	8.889	1.148	87.35	91.95	71	100
	Malang	60	96.30	3.321	429	94.44	98.16	84	100
	Jember	60	87.30	4.469	577	86.15	88.45	75	96
	Total	180	90.75	6.899	514	89.74	91.76	71	100
kelembaban minimum	Surabaya	60	56.85	16.045	2.071	52.71	60.99	21	86
	Malang	60	48.77	10.267	1.325	46.11	51.42	24	73
	Jember	60	49.43	6.057	782	47.87	51.00	41	77
	Total	180	51.68	12.049	898	49.91	53.46	21	86

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
kelembaban rata-rata	Between Groups	864.344	2	432.172	15.707	.000
	Within Groups	4870.233	177	27.515		
	Total	5734.578	179			
kelembaban maksimum	Between Groups	2028.900	2	1014.450	27.663	.000
	Within Groups	6490.850	177	36.671		
	Total	8519.750	179			
kelembaban minimum	Between Groups	2415.833	2	1207.917	9.070	.000
	Within Groups	23573.117	177	133.181		
	Total	25988.950	179			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Tukey HSD

Dependent Variable	(I) kota	(J) kota	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
kelembaban rata-rata	Surabaya	Malang	-.43	.958	.893	-2.70	1.83
		Jember	4.42*	.958	.000	2.15	6.68
	Malang	Surabaya	.43	.958	.893	-1.83	2.70
		Jember	4.85*	.958	.000	2.59	7.11
	Jember	Surabaya	-4.42*	.958	.000	-6.68	-2.15
		Malang	-4.85*	.958	.000	-7.11	-2.59
kelembaban maksimum	Surabaya	Malang	-5.65*	1.106	.000	-8.26	-3.04
		Jember	2.35	1.106	.088	-.26	4.96
	Malang	Surabaya	5.65*	1.106	.000	3.04	8.26
		Jember	8.00*	1.106	.000	5.39	10.61
	Jember	Surabaya	-2.35	1.106	.088	-4.96	.26
		Malang	-8.00*	1.106	.000	-10.61	-5.39
kelembaban minimum	Surabaya	Malang	8.08*	2.107	.001	3.10	13.06
		Jember	7.42*	2.107	.002	2.44	12.40
	Malang	Surabaya	-8.08*	2.107	.001	-13.06	-3.10
		Jember	-.67	2.107	.946	-5.65	4.31
	Jember	Surabaya	-7.42*	2.107	.002	-12.40	-2.44
		Malang	.67	2.107	.946	-4.31	6.65

*. The mean difference is significant at the .05 level

Homogeneous Subsets

kelembaban rata-rata

Tukey HSD^a

kota	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
Jember	60	72.60	
Surabaya	60		77.02
Malang	60		77.45
Sig.		1.000	.893

Means for groups in homogeneous subsets are displayed

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 60.000

kelembaban maksimum

Tukey HSD^a

kota	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
Jember	60	87.30	
Surabaya	60	89.65	
Malang	60		95.30
Sig.		.088	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 60.000

kelembaban minimumTukey HSD^a

kota	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
Malang	60	48.77	
Jember	60	49.43	
Surabaya	60		56.85
Sig		946	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed

^a Uses Harmonic Mean Sample Size = 60.000

