

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Demam Berdarah Dengue (DBD) adalah penyakit infeksi yang disebabkan salah satu dari empat virus dengue dan dapat menyerang semua umur terutama anak-anak. Virus Dengue ditularkan melalui gigitan nyamuk *Aedes aegypti* dan nyamuk *Aedes albopictus*.^{1,2}

Infeksi virus dengue merupakan masalah kesehatan global. DBD menjadi perhatian di seluruh dunia terutama di Asia dikarenakan sebagai penyebab utama kesakitan dan kematian anak. Dilaporkan 500.000 penderita DBD memerlukan rawat inap setiap tahunnya, dimana sebagian besar adalah anak-anak dan 2,5% diantaranya dilaporkan meninggal dunia.^{2,3}

DBD telah menjadi masalah kesehatan masyarakat di Indonesia selama 47 tahun terakhir. Sejak tahun 1968 terjadi peningkatan jumlah kasus DBD di provinsi dan kabupaten/kota dari 2 provinsi dan 2 kota, menjadi 34 provinsi dan 436 (85%) kabupaten/kota pada tahun 2015. Terjadi juga peningkatan jumlah kasus DBD dari tahun 1968 yaitu 58 kasus menjadi 126.675 kasus pada tahun 2015. Angka kematian (*case fatality rate*/CFR) sangat tinggi, yaitu sebesar 41,4% pada awal kasus DBD dan menurun sampai sebesar 0,97% pada tahun 2015. Penurunan CFR tersebut terjadi kemungkinan karena pengobatan yang semakin baik. Peningkatan dan penyebaran kasus DBD tersebut dapat disebabkan oleh mobilitas penduduk yang tinggi, perkembangan wilayah perkotaan, perubahan iklim, perubahan kepadatan dan distribusi penduduk serta faktor epidemiologi lainnya yang masih memerlukan penelitian lebih lanjut.^{4,5}

Berdasarkan laporan data World Health Organization (WHO) tentang kasus DBD di region Asia Tenggara, Indonesia menduduki peringkat pertama pada regio Asia Tenggara dengan jumlah kasus pada

tahun 2012 sebanyak 74.062 kasus dan angka kematian 646 orang. Berdasarkan data Pusat Data dan Informasi (PUSDATIN) Kementerian Kesehatan Republik Indonesia tahun 2017, prevalensi penyakit DBD di Indonesia mencapai angka 68.407 kasus dan Sumatera Utara menduduki peringkat ke empat dengan angka kejadian DBD sebanyak 5327 kasus dan angka kematian sebanyak 29 orang.⁴ Berdasarkan data Dinas Kesehatan Kota Medan pada tahun 2016 dilaporkan sebanyak 1.784 kasus dan yang meninggal 11 orang.⁶

Leukopenia adalah pertanda 24 jam kemudian, demam akan turun dan pasien akan masuk dalam masa kritis. Pada fase awal demam infeksi dengue, nilai dari neutrofil akan mengalami peningkatan, selanjutnya diikuti penurunan jumlah neutrofil yang mencapai titik terendah pada akhir fase demam. Perubahan jumlah rasio antara neutrofil dan limfosit (neutrofil < limfosit) berguna dalam memprediksi masa kritis perembesan plasma. Sering kali ditemukan limfositosis relatif dengan peningkatan limfosit atipik pada fase akhir demam.⁷ Sementara pada nilai trombosit sendiri pada fase awal demam jumlah trombosit cenderung normal. Namun, jumlah trombosit akan menurun dan dapat diamati setelah fase awal demam. Penurunan jumlah trombosit akan menurun secara drastis < 100.000 sel/mm³ pada akhir fase demam.⁸ Nilai hematokrit biasanya mulai meningkat pada hari ketiga dari perjalanan penyakit dan semakin meningkat sesuai dengan proses perjalanan penyakit DBD. Peningkatan nilai hematokrit >20% dari nilai *base line* merupakan manifestasi hemokonsentrasi yang terjadi akibat kebocoran plasma ke ruang ekstrasvaskular.⁹

Menurut Sri Rezeki Hadinegoro et al dalam buku yang berjudul pedoman diagnosis dan tatalaksana infeksi virus dengue pada anak menyatakan bahwa perubahan jumlah (<5000 sel/mm³) dan rasio antara neutrofil dan limfosit (neutrofil<limfosit) berguna dalam memprediksi masa kritis perembesan plasma.¹⁰ Hal ini didukung oleh Sutaryo di dalam bukunya yang berjudul dengue menyatakan bahwa semakin berat proses

apoptosisnya, semakin berat penyakitnya.¹¹ Pernyataan ini juga didukung oleh Galani IE et al, bahwa tingkat apoptosis neutrofil berkorelasi positif dengan tingkat keparahan penyakit sehingga mendukung peran protektif neutrofil dalam respon antivirus.¹²

Penelitian yang dilakukan oleh Karla C. Nusa et.al., mengenai hubungan rasio neutrofil dan limfosit pada penderita penyakit infeksi virus dengue menunjukkan hasil yang bertentangan yaitu tidak didapati hubungan yang signifikan antara neutrofil dan limfosit dengan infeksi virus dengue.¹³

Penelitian Tri setyawati et.al., mengenai hubungan antara jumlah leukosit dan hematokrit pada DBD menunjukkan tidak terdapat hubungan antara jumlah leukosit dan hematokrit dengan derajat beratnya penyakit DBD pada pasien anak.¹⁴ Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Jaya, yang menyatakan bahwa tidak terdapat hubungan antara peningkatan hematokrit diawal dengan derajat beratnya penyakit DBD.¹⁵

Penelitian Hidayat et al, mengenai hubungan jumlah trombosit dengan hematocrit menunjukkan tidak terdapat hubungan yang bermakna antara jumlah trombosit dengan leukosit.¹⁶

1.2 Rumusan Masalah

Apakah terdapat perbandingan antara ratio neutrofil limfosit dan trombosit pada kebocoran plasma pada pasien anak DBD di Rumah Sakit Umum Dr. Pirngadi Medan.

1.3 Hipotesis

Semakin rendah nilai ratio neutrofil limfosit semakin tinggi risiko kebocoran plasma. Semakin rendah nilai kadar trombosit semakin tinggi risiko kebocoran plasma.

1.4 Tujuan Penelitian

1.4.1 Tujuan umum

Penelitian ini secara umum bertujuan untuk membandingkan antara ratio neutrofil limfosit dan kadar trombosit pada kebocoran plasma pasien anak
DBD.

1.4.2 Tujuan khusus

Penelitian ini secara khusus bertujuan untuk:

1. Mengetahui nilai neutrofil dan limfosit pada pasien anak demam berdarah dengue Di RSUD Dr. Pirngadi Kota Medan.
2. Mengetahui nilai trombosit pada pasien anak demam berdarah dengue Di RSUD Dr. Pirngadi Kota Medan.
3. Mengetahui nilai kebocoran plasma pada pasien anak demam berdarah dengue Di RSUD Dr. Pirngadi Kota Medan.

1.5 Manfaat Penelitian

1.5.1 Manfaat untuk peneliti

Menambah pengalaman dan pengetahuan dalam melakukan karya tulis ilmiah khususnya mengenai ratio neutrofil limfosit dan kadar trombosit pada kebocoran plasma pada pasien anak demam berdarah dengue (DBD).

1.5.2 Manfaat untuk institusi

Menambah bahan referensi penelitian di Fakultas Kedokteran Universitas HKBP Nommensen dan dapat sebagai rujukan bagi penelitian selanjutnya.

1.5.3 Manfaat untuk ilmu pengetahuan

Hasil penelitian ini diharapkan memberikan manfaat untuk dapat menambah pengetahuan tentang hitung rasio neutrofil limfosit dan kadar trombosit pada kebocoran plasma.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Demam Berdarah Dengue (DBD)

2.1.1 Definisi

Definisi Demam Berdarah Dengue (DBD) adalah penyakit infeksi yang disebabkan oleh virus dengue melalui gigitan nyamuk *Aedes aegypti* dengan manifestasi klinis demam tinggi, nyeri otot dan atau nyeri sendi yang disertai leukopenia, ruam, limfadenopati, trombositopenia, perdarahan mukosa, epistaksis, perdarahan gusi dan diastasis hemoragik. Pasien ini dapat mengalami syok hipovolemik akibat kebocoran plasma. Syok ini disebut syok sindrom dengue dan dapat menjadi fatal.^{17,18}

2.1.2 Epidemiologi

Penyakit DBD merupakan masalah dunia, lebih dari 100 negara di dunia khususnya beriklim tropis dan sub-tropis merupakan endemik penyakit DBD. Data 50 tahun terakhir kasus DBD meningkat sebesar 30%. Kasus DBD ditemukan pertama kali di tahun 1779 sampai 1780 di 3 benua yaitu Asia, Afrika dan Amerika. Kejadian DBD di benua Afrika pertama kali di daerah pantai timur Afrika dan benua Amerika di wilayah Amerika Selatan, Amerika Tengah, dan Amerika Serikat. Seperti di Asia, penyakit ini ditemukan pertama kali di Filipina pada tahun 1958 lalu diikuti Thailand dan Vietnam. Sejak tahun 1960 penyakit ini mulai mewabah hampir di seluruh wilayah Asia Tenggara seperti Malaysia Sri Lanka Singapura dan Indonesia.^{17,19,20}

Di Indonesia, DBD pertama kali ditemukan di Surabaya dan Jakarta di tahun 1968, dimana sebanyak 58 orang terinfeksi dan 24 orang diantaranya meninggal dunia (Angka Kematian (AK) sebesar 41,3%). Di tahun 1972 penyakit ini ditemukan di Lampung dan Sumatera Barat, sejak saat itu penyakit ini menyebar luas ke seluruh Indonesia dan mengalami peningkatan yang signifikan. Sejak tahun 1968 telah terjadi peningkatan

persebaran jumlah provinsi dan kabupaten/kota yang endemis DBD, dari 2 provinsi dan 2 kota, menjadi 32 provinsi (97%) dan 382 kabupaten/kota (77%) pada tahun 2009. Selain itu terjadi juga peningkatan jumlah kasus DBD, pada tahun 1968 hanya 58 kasus menjadi 158.912 kasus pada tahun 2009.^{2,4,19,21}

Berdasarkan jenis kelamin kejadian DBD adalah sama pada pria dan wanita, jika dilihat dari segi usia, DBD dapat terjadi di segala usia. Akan tetapi lebih banyak menyerang anak di bawah usia 15 tahun. Jika ditinjau dari segi ras, penyakit ini dapat menyerang semua ras.^{1,2}

2.1.3 Etiologi

Demam Berdarah *dengue* disebabkan oleh virus *dengue* dari kelompok Arbovirus B, yaitu *arthropod-borne* virus atau virus yang disebarkan oleh anthropoda. Virus ini termasuk genus *Flavivirus* dari family *flaviviridae* yang terdiri dari asam ribonukleat rantai tunggal dengan panjang 11 kb (kilobase)^{2,22,23}

Terdapat 4 serotipe virus, yaitu Dengue-1 (DEN-1), Dengue-2 (DEN-2), Dengue-3 (DEN-3), Dengue-4 (DEN-4) yang menyebabkan DBD. Keempat serotipe ditemukan di Indonesia dengan DEN-3 merupakan serotipe terbanyak. Infeksi dengan salah satu antibody akan menimbulkan antibody seumur hidup terhadap serotipe yang bersangkutan tetapi tidak ada perlindungan terhadap serotipe yang lain. Infeksi berikutnya oleh serotipe lain meningkatkan risiko penyakit yang lebih parah.^{17,24}

Virus dengue mempunyai dua macam protein yaitu protein structural dan protein non-struktural. Protein structural terdiri dari protein E, protein M, protein C, sedangkan protein non-struktural terdiri dari tujuh protein non-struktural protein 1 (NS1), non-struktural protein 2 (NS2), non-struktural protein 2B (NS2B), non-struktural protein 3 (NS3), non-struktural protein 4A (NS4A), non-struktural protein 4B (NS4B) dan non-struktural protein 5 (NS5). Protein non-struktural diasumsikan terlibat dalam replikasi RNA (Ribonucleic Acid) Virus.^{23,25}

2.1.6 Patogenesis dan Patofisiologi

Patofisiologi primer Demam Berdarah Dengue dan Dengue syok syndrome adalah peningkatan akut permeabilitas vaskuler yang mengarah ke kebocoran plasma ke dalam ruang ekstravaskular, sehingga menimbulkan hemokonsentrasi dan penurunan tekanan darah. Setelah virus masuk ke dalam tubuh manusia, virus dengue akan berkembang biak dalam sel retikuloendotelial yang selanjutnya diikuti dengan viremia yang berlangsung 5-7 hari. Akibat dari virus ini muncul respon imun baik humoral maupun selular. Antibodi yang muncul pada umumnya adalah Immunoglobulin G (IgG) dan Immunoglobulin M (IgM), pada infeksi dengue primer antibodi mulai terbentuk, dan pada infeksi sekunder kadar antibody yang telah ada jadi meningkat.^{2,23}

Antibodi terhadap virus dengue dapat ditemukan di dalam darah sekitar demam hari ke-5, meningkat pada minggu pertama sampai dengan ketiga, dan menghilang setelah 60-90 hari. Pada infeksi primer antibodi IgG meningkat sekitar demam hari ke-14 sedangkan pada infeksi sekunder antibodi IgG meningkat pada hari kedua. Oleh karena itu diagnose dini infeksi primer hanya dapat ditegakkan dengan mendeteksi antibody IgM setelah hari sakit kelima, dagnosa infeksi sekunder dapat ditegakkan lebih dini dengan melihat peningkatan antibodi IgG dan IgM yang cepat.^{2,23}

Patofisiologi Demam Berdarah Dengue dan dengue syok syndrome sampai sekarang belum jelas, oleh karena itu muncul banyak teori tentang respon imun. Pada infeksi pertama terjadi aktifitas netralisasi yang mengenali protein E dan monoclonal antibody terhadap NS1, Pro M dan NS3 dari virus penyebab infeksi akibatnya terjadi proses lisis yang telah terinfeksi melalui aktifitas netralisasi atau aktifasi komplemen. Akhirnya banyak virus yang dilenyapkan dan penderita mengalami penyembuhan, selanjutnya terjadi proses kekebalan seumur hidup terhadap serotipe virus yang sama, tetapi apabila serotipe yang berbeda menginfeksi keadaan penderita akan menjadi parah.^{2,23}

Apabila penderita terinfeksi kedua kalinya dengan virus dengue serotipe yang berbeda, maka virus dengue tersebut akan berperan sebagai super antigen setelah difagosit oleh makrofag atau monosit. Makrofag ini akan menampilkan Antigen Presenting Cell (APC). Antigen ini membawa muatan polipeptida spesifik yang berasal dari Major Histocompatibility Complex (MHC II). Antigen yang bermuatan peptide MHC II akan berikatan dengan CD4+ (TH-1 dan TH-2) dengan perantara T Cell Receptor (TCR) sebagai reaksi infeksi. Kemudian limfosit TH-1 akan mengeluarkan substansi imunomodulator yaitu INF , IL-2, dan Colony Stimulating Factor (CSF). INF akan merangsang makrofag untuk mengeluarkan IL-1 dan TNF . Interleukin-1 (IL-1) memiliki efek sel endotel, membentuk prostaglandin, dan merangsang ekspresi intercellular adhesion molecule 1 (ICAM 1).²⁶

CSF akan merangsang neutrofil, oleh pengaruh ICAM 1. Neutrofil yang telah terangsang oleh CSF akan beradhesi dengan sel endotel dan mengeluarkan lisosim yang membuat dinding endotel lisis dan endotel terbuka. Neutrofil juga membawa superoksida yang akan mempengaruhi oksigenisasi pada mitokondria dan siklus GMPs, sehingga endotel menjadi nekrosis dan mengakibatkan terjadi gangguan vaskuler. Neutrofil merupakan lini pertama pertahanan tubuh. Aktivasi neutrofil akan mengaktifkan sitokin dan kemokin TNF, IL-6, IL-8 dan IFN yang dapat merekrut dan mengaktifkan lebih banyak neutrofil ke tempat infeksi dan meningkatkan respon imun. Selain itu, melalui pelepasan neutrofil extracellular traps (NETs) dapat menjebak virus dan menonaktifkan virus tersebut melalui antimicrobial yang terikat pada NETs. Infeksi virus menyebabkan terjadinya apoptosis pada neutrofil. Rentang normal hidup neutrofil adalah 8-20 jam sebelum memasuki program kematian sel dan di bersihkan oleh makrofag.^{26,27}

Sementara pada teori Antigen-Presenting Cell menjelaskan bahwa respon imun dibagi menjadi respon imun bawaan dan didapat. Secara umum mikroorganisme atau protein asing akan diterima oleh sel khusus, yaitu

APC. Sel ini akan memakan mikroorganisme, kalau tidak dapat mematikan mikroorganisme tersebut sel APC akan meminta bantuan kepada sel Limfosit T. Saat sel T aktif sel tersebut akan tumbuh, membelah dan menghasilkan klon sel T helper. Sel T helper kemudian akan mensekresi sitokin IL-2, yang memperbesar respon yang diperantarai sel dengan cara merangsang proliferasi dan aktivitas semua sel T helper di daerah tersebut. IL-2 dan sitokin lain juga membantu mengaktifkan sel B, yang berfungsi dalam kekebalan tubuh humoral, dan sel T sitotoksik, yang berfungsi dalam respon kekebalan yang diperantau sel.²⁷

Patogenesis dari Demam Berdarah Dengue sendiri masih belum jelas. Berdasarkan data epidemiologi dianut 2 hipotesis yang sering dijadikan rujukan untuk menerangkannya. Kedua teori tersebut adalah *The Secondary Heterotypic Antibody Dependent Enhancement of A Dengue Virus Infection* yang lebih banyak dianut, dan gabungan efek jumlah virus, virulensi virus dan respon inang.^{1,19}

Virus dengue masuk ke dalam tubuh inang kemudian mencapai sel target yaitu makrofag. Sebelum mencapai sel target maka respon imun non-spesifik dan spesifik tubuh akan berusaha menghalanginya. Aktivitas komplemen pada infeksi virus dengue diketahui meningkat seperti komplemen 3a (C3a) dan komplemen 5a (C5a), mediator-mediator ini menyebabkan terjadinya kenaikan permeabilitas kapiler. Akibat kejadian ini maka terjadi ekstrasvasasi cairan dari intravaskuler ke extravaskuler dan menyebabkan terjadinya tanda kebocoran plasma seperti hemokonsentrasi, hipoproteinemia, efusi pleura, asites, penebalan dinding vesica fellea dan syok hipovolemik.^{1,19}

2.1.7 Gejala Klinis DBD

Pasien penyakit Demam Berdarah Dengue pada umumnya disertai tanda dan gejala seperti demam selama 2-7 hari tanpa sebab yang jelas disertai perdarahan dengan tes Rumpel Leed (+), mulai dari ptekie (+) sampai perdarahan spontan seperti mimisan, muntah darah, atau BAB

berwarna hitam serta dapat dijumpai tanda-tanda syok seperti tekanan darah rendah atau nadi lemah (tidak teraba) serta dapat dijumpai pembesaran hati.^{28,29}

Pada hasil pemeriksaan laboratorium dijumpai trombositopenia ($100.000/\mu\text{l}$), adanya tanda kebocoran plasma seperti dijumpai efusi pleura, asites, peningkatan hematokrit 20% dari nilai standar atau hematokrit menurun 20% setelah pemberian terapi cairan. Dua kriteria klinis pertama ditambah satu dari kriteria laboratorium atau hanya terjadi peningkatan hematokrit 20% cukup untuk menegakkan diagnosis Demam Berdarah Dengue.^{8,29}

2.1.8 Klasifikasi DBD

Klasifikasi kasus disepakati sekarang adalah

1. Dengue tanpa bahaya
2. Dengue dengan tanda bahaya
3. Dengue berat^{1,30}

Kriteria dengue tanpa/dengan tanda bahaya

Dengue probable

1. Bertempat tinggal di/berpergian ke daerah endemik dengue
2. Demam disertai 2 dari hal berikut
 - a. Mual, muntah
 - b. Ruam
 - c. Sakit dan nyeri
 - d. Uji turniket positif
 - e. Leukopenia
 - f. Adanya tanda bahaya
3. Tanda bahaya, seperti
 - a. Nyeri perut
 - b. Muntah berkepanjangan
 - c. Terdapat akumulasi cairan
 - d. Perdarahan mukosa
 - e. Letargi, lemah

- f. Pembesaran hati > 2 cm
- g. Kenaikan hematokrit seiring dengan penurunan jumlah trombosit yang cepat

Dengue dengan konfirmasi laboratorium (penting bila bukti kebocoran plasma tidak jelas).

Kriteria dengue berat

1. Kebocoran plasma berat, yang dapat menyebabkan Sindrom Syok Dengue (SSD), akumulasi cairan dengan distress pernafasan Efusi pleura, hematokrit tinggi atau meningkat secara progresif, asites, syok, nadi lemah atau tidak terdeteksi dan tekanan nadi yang menyempit
2. Perdarahan hebat, sesuai pertimbangan klinisi
3. Gangguan organ berat (gagal hati akut, gagal ginjal akut, ensefalopati/ensefalitis, dan kardiomiopati)
4. Gangguan kesadaran
5. Gangguan gastrointestinal berat (muntah berkelanjutan, nyeri abdomen hebat dan ikterik)^{1,30}

Derajat Demam Berdarah Dengue

Demam Berdarah Dengue memiliki empat derajat dimana derajat pertama akan menunjukkan tanda Demam 2-7 hari lalu pada uji Tes *Turniquet* didapati hasil positif dan terdapat tanda kebocoran plasma serta dijumpai trombositopenia dengan angka 100.000 dan nilai hematokrit 20% dari nilai standar. Sementara pada derajat II terjadi perdarahan spontan ditambah tanda dan gejala pada derajat I. Demam Berdarah Derajat III dijumpai kegagalan sirkulasi pada pasien seperti denyut nadi cepat, hipotensi, keringat dingin, gelisah dan ditambah tanda dan gejala tambahan pada derajat II. Sementara pada Demam Berdarah Dengue derajat IV dijumpai syok pada pasien ,nadi lemah atau tidak teraba dan tekanan darah tidak terukur.^{2,8}

Gambaran Klinis penderita dengue terdiri dari 3 fase yaitu fase febris, fase kritis dan fase pemulihan.

Fase Febris

Biasanya demam mendadak tinggi 2-7 hari, disertai muka kemerahan, eritema kulit, nyeri seluruh tubuh, myalgia, artalgia dan sakit kepala. Pada beberapa kasus ditemukan nyeri tenggorok, infeksi faring dan konjungtiva, anoreksia, mual dan muntah. Pada fase ini dapat ditemukan tanda perdarahan seperti petekie, perdarahan mukosa.^{19,24}

Fase Kritis

Fase ini terjadi pada hari 3-7 sakit dan ditandai dengan penurunan suhu tubuh disertai kenaikan permeabilitas kapiler dan timbulnya kebocoran plasma yang biasanya berlangsung selama 24-48 jam. Kebocoran plasma sering didahului oleh leukopenia progresif disertai penurunan hitung jumlah trombosit. Pada fase ini dapat terjadi syok.^{19,24}

Fase Pemulihan

Bila fase kritis berhasil dilewati selanjutnya masuk ke fase pemulihan dimana terjadi pengembalian cairan dari ekstavaskular ke intravascular secara perlahan pada 48-72 jam setelahnya. Keadaan umum penderita membaik, nafsu makan pulih kembali, hemodinamik stabil dan diuresis membaik.^{19,24}

2.1.9 Pemeriksaan Penunjang

1. Pemeriksaan laboratorium

Pemeriksaan laboratorium yang dapat dilakukan untuk menunjang diagnosis DBD adalah pemeriksaan darah lengkap, urine serologi dan isolasi virus. Yang signifikan dilakukan adalah pemeriksaan darah, selain itu untuk mendiagnosis DBD secara definitive serologis.^{19,21,31}

Darah Lengkap

Pemeriksaan darah rutin dilakukan untuk memeriksa kadar haemoglobin, hematokrit, jumlah trombosit. Peningkatan nilai hematokrit yang selalu dijumpai pada DBD merupakan indikator perembesan plasma, selain hemokonsentrasi juga didapatkan trombositopenia dan leukopenia.^{19,21,31}

Uji Serologi

a. Uji Hemaglutinasi Inhibisi (HI)

Uji ini merupakan gold standard untuk mengetahui pemeriksaan serologi, pemeriksaan ini sensitive tetapi tidak spesifik artinya pemeriksaan ini tidak dapat mendeteksi tipe virus yang menginfeksi. Antibodi HI dapat bertahan selama 48 jam.^{19,31}

b. Uji neutralisasi

Uji ini paling sensitive dan spesifik jika dilakukan untuk virus dengue. Biasanya memakai cara *Plaque Reduction Neutralization Test*. Anti bodi ini dapat bertahan di tubuh selama 4-8 tahun tetapi pemeriksaan ini membutuhkan waktu lama dan tenaga kesehatan yang berkompeten^{19,31}

c. IgM Elisa

Uji Ig M Elisa merupakan alat uji yang paling banyak digunakan. Sesuai nama uji ini melihat kandungan IgM dalam serum pasien. Dengan mendeteksi IgM pada serum pasien, maka diagnosis secara cepat dan tepat dapat ditegakkan. Jika hasil dijumpai negative pada hari ke lima dapat dilakukan uji ulang dan jika pada hari ke enam serum pasien dinyatakan negative terdapat IgM maka pasien dinyatakan negative.^{19,31}

d. IgG Elisa

Uji IgG Elisa sebanding dengan uji HI hanya saja pada uji IgG Elisa sedikit lebih spesifik. Uji ini untuk melihat infeksi yang terjadi baik itu infeksi primer maupun sekunder.^{19,31}

Metode RTPCR

Metode ini merupakan metode terbaru yang berkembang dari Ilmu biologi molekuler sel. Metode ini metode yang sangat sensitive dan spesifik, hasil cepat didapat dan jika terjadi kesalahan dapat diulang kembali. Metode ini dapat mendeteksi asam ribonukleat (RNA) virus yang masuk ke darah dan jaringan tubuh manusia.^{19,31}

2. Pemeriksaan Radiologi

Kelainan yang didapati saat dilakukan pemeriksaan ini guna untuk melihat kejadian perembesan plasma pada tubuh dimana didapati adanya dilatasi pembuluh darah paru, efusi pleura, kardiomegali, efusi perikardium, hepatomegali, cairan dalam rongga peritoneum dan penebalan dinding *vesika felea*.^{19,31}

2.2 Rasio Neutrofil Limfosit

Rasio neutrofil limfosit merupakan perhitungan jumlah neutrofil absolut dengan jumlah limfosit absolut yang bisa diukur menggunakan alat otomatis *hematology analyser*. Neutrofil dan limfosit merupakan 80% dari keseluruhan jumlah leukosit serta berperan aktif sebagai respon inflamasi dan infeksi, sehingga sebagian besar respon imun dapat digambarkan dari proporsi kedua sel tersebut.^{7,32,33}

Rasio neutrofil limfosit ialah suatu biomarker yang langsung dapat diketahui berdasarkan hasil pengukuran darah rutin, yang didapati melalui pembagian neutrofil dan limfosit pada darah tepi. Biasanya rasio neutrofil limfosit dihitung ketika seseorang mengalami infeksi bakteri dan juga bagi biomarker tumor Untuk mendapatkan nilai dari rasio neutrofil dan limfosit diperlukan sampel darah yang diambil dari pembuluh darah vena kemudian darah dimasukkan ke dalam tabung EDTA untuk disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rotasi per menit (rpm) selama 15 menit dan plasma dibekukan di suhu -80°C sampai dianalisis.^{7,34}

Menurut Sri Rezeki Hadinegoro dkk dalam bukunya yang berjudul pedoman diagnosis dan tatalaksana pada virus dengue pada anak menyatakan bahwa leukopenia adalah pertanda dalam 24 jam kemudian demam akan turun dan pasien akan masuk dalam masa kritis. Pada fase awal infeksi dengue, hitung leukosit dapat normal atau terjadi peningkatan neutrofil, selanjutnya diikuti penurunan jumlah leukosit dan neutrofil yang mencapai titik terendah pada akhir fase demam. Perubahan jumlah (<5000 sel/mm³) dan rasio antara neutrofil limfosit (neutrofil $<$ limfosit) berguna dalam memprediksi masa kritis pada perembesan plasma.¹⁰ Menurut Dr.dr.Sutaryo di dalam bukunya yang berjudul dengue menyatakan bahwa, pada apoptosis, virus dengue yang masuk sel sasaran akan menyebabkan sel melepaskan sitokrom-c. Sitokrom-c melalui Apaf-1 akan mengaktifasi prokaspase-9 inaktif menjadi kaspase-9 aktif. Kaspase-9 aktif mengaktifkan prokaspase-3 inaktif menjadi kaspase-3 aktif. Kaspase-3 aktif yang akan merangsang proses apoptosis. Teori ini muncul setelah penelitian yang dilakukan di Perancis dimana virus dengue ditanam pada kultur jaringan neuroblastoma mencit dan sel hepatoma manusia ternyata terjadi proses apoptosis sehingga diduga semakin berat proses apoptosisnya, semakin berat penyakitnya.¹¹

Penelitian yang dilakukan oleh Karla C.Nusa dkk, mengenai hubungan rasio neutrofil dan limfosit pada penderita infeksi virus dengue menunjukkan hasil yang bertentangan dengan penelitian ini yaitu tidak didapatkan hubungan yang signifikan antara rasio neutrofil dan limfosit dengan infeksi virus dengue karena ada beberapa hal yang mempengaruhi hasil perhitungan jumlah leukosit yaitu kualitas dan jenis alat yang digunakan dan keterampilan petugas laboratorium yang memeriksa serta hitung jenis sel darah putih untuk neutrofil dan limfosit dilakukan pada hari yang berbeda yaitu pada hari ke 2,3,4,5,6,dan 7. Pada penelitian ini didapatkan hasil yang signifikan karena pengambilan data pemeriksaan hitung jenis sel darah putih untuk neutrofil dan limfosit hanya dilakukan pada hari ke 3.¹³ Menurut Penelitian Permatasari et al , menyatakan tidak

ada hubungan antara anak umur 5 tahun dengan kerentanan infeksi dengue karena kurang dari usia 5 tahun pembentukan antibodi spesifik terhadap antigen sudah sempurna terbentuk.³⁵

Penelitian yang dilakukan oleh Jaya, yang menemukan bahwa tidak terdapat hubungan antara peningkatan kadar hematokrit diawali dengan derajat beratnya penyakit DBD. Kadar hematokrit awal tidak berhubungan dengan derajat beratnya klinis DBD hal ini dikarenakan faktor awal yang mendominasi pada patogenesis sehingga kadar hematokrit tidak bisa menjadi prediktor dalam penegakan derajat klinis DBD.¹⁵

2.3 Trombosit

Trombosit (keping-keping darah) adalah fragmen sitoplasmik tanpa inti berdiameter 2-4 μ m yang berasal dari megakariosit. Jumlah trombosit normal dalam darah tepi adalah 150.000-400.000/ μ l dengan proses pematangan selama 7-10 hari di dalam sumsum tulang.³⁶ Trombosit merupakan sel darah yang berfungsi dalam hemostasis. Sel ini tidak memiliki nukleus dan dihasilkan oleh megakariosit dalam sumsum tulang.³⁷

Trombositopenia pada infeksi Dengue hingga saat ini belum diketahui secara pasti. Para peneliti mengajukan beberapa hipotesis antara lain; pertama, DENV mempengaruhi produksi sel progenitor di sumsum tulang, sehingga mengakibatkan penurunan kemampuan proliferasi dari sel. Hipotesis ini didasarkan atas penelitian yang melaporkan terjadi hypoplasia di sumsum tulang pada fase akut infeksi dengue.³⁸

Trombosit yang dihasilkan oleh sumsum tulang yang berdiferensiasi menjadi megakariosit lalu melakukan reflikasi inti endomitotiknya, kemudian volume sitoplasma membesar lalu menjadi granula dan trombosit dilepaskan dalam bentuk keping-keping atau platelet. Trombosit sangat penting untuk menjaga hemostasis tubuh. Abnormalitas pada vaskuler, trombosit, koagulasi, atau fibrinolysis akan mengganggu hemostasis sistem vaskuler yang mengakibatkan perdarahan abnormal atau gangguan perdarahan.³⁶

2.4. Kebocoran Plasma (Hematokrit)

Kebocoran plasma merupakan salah satu tanda yang khas dari infeksi dengue, selain tanda lain yaitu trombositopenia atau gangguan koagulasi.³⁰ Kebocoran plasma terjadi karena adanya kerusakan sel endotel pembuluh darah yang disebabkan oleh DENV dimana virus dengue melakukan replikasi di retikulum endoplasma sel yang terinfeksi, dengan melibatkan protein non structural dan protein seluler sel.^{39,40}

Nilai hematokrit adalah konsentrasi (dinyatakan dalam persen) eritrosit dalam 100 mL darah lengkap. Nilai hematokrit akan meningkat (hemokonsentrasi) karena peningkatan kadar sel darah atau penurunan kadar plasma darah, misalnya pada kasus DBD. Sebaliknya nilai hematokrit akan menurun (hemodilusi) karena penurunan seluler darah atau peningkatan kadar plasma darah, seperti pada anemia.⁴¹

BAB 3

METODOLOGI

3.1 Desain Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian *cross sectional* yang bersifat analitik untuk melihat hubungan antara rasio neutrofil limfosit dan kadar trombosit pada kebocoran plasma pasien anak yang terdiagnosa Demam Berdarah Dengue di Rumah Sakit Dr. Pirngadi Medan.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

3.2.1 Tempat Penelitian

Pengambilan data dilakukan dari rekam medik di Rumah Sakit Dr. Pirngadi Medan.

3.2.2 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan selama bulan Desember 2019.

3.3 Populasi

3.3.1 Populasi Target

Populasi target adalah penderita infeksi virus dengue.

3.3.2 Populasi Terjangkau

Populasi terjangkau adalah penderita infeksi virus dengue anak di RSUD Dr. Pirngadi Medan periode tahun 2017-2018 sebanyak 45 sampel.

3.4 Sampel dan Cara Pemilihan Sampel

3.4.1 Sampel

Sampel penelitian adalah anak-anak yang terdiagnosa Demam Berdarah Dengue di Rumah Sakit Dr. Pirngadi Medan.

3.4.2. Cara Pemilihan Sampel

Cara pemilihan sampel dilakukan dengan metode pengambilan data dengan total sampling. Data yang digunakan data sekunder yang diperoleh dari rekam medis di Rumah Sakit Dr. Pirngadi Medan pada tahun 2017-2018.

3.5 Kriteria Inklusi dan Eksklusi

3.5.1 Kriteria Inklusi

- a) Demam Dengue derajat 1 dan derajat 2
- b) Umur 0-18 tahun
- c) Telah terdiagnosa penyakit demam berdarah dengue oleh dokter
RSU Dr. Pirngadi Medan yang tertera dalam rekam medik.

3.5.2 Kriteria eksklusi

- a) Menderita infeksi lain yang dapat berpengaruh terhadap jumlah atau fungsi limfosit dan neutrofil (*dual infection*), antara lain infeksi bakteri seperti infeksi saluran kemih, pneumonia, TB paru, demam tifoid.
- b) Menderita kelainan hematologis yang melibatkan jumlah dan fungsi neutrofil dan limfosit, antara lain leukimia, thalassemia, idiopatik trombositopenia purpura (ITP) dan sebagainya
- c) Data tidak lengkap

3.6 Prosedur Kerja

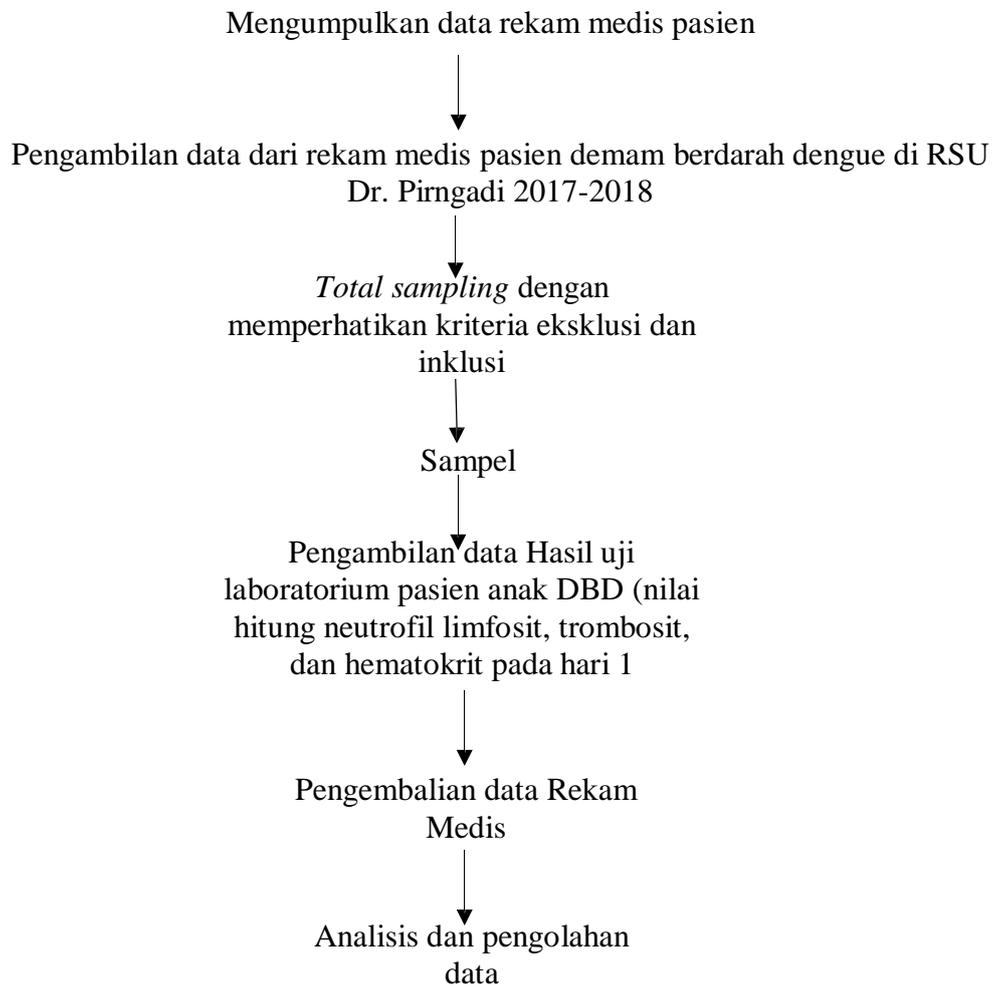
- a) Peneliti meminta izin permohonan pelaksanaan penelitian yang diajukan pada institusi pendidikan Fakultas Kedokteran Universitas HKBP Nommensen.
- b) Peneliti meminta izin permohonan penggunaan rekam medis yang diajukan pada RSU Dr. Pirngadi Medan.
- c) Mengumpulkan rekam medis yang didiagnosis DBD di RSU Dr. Pirngadi Medan.
- d) Pengambilan data meliputi umur, jenis kelamin, diagnose penyakit, hasil hitung neutrofil dan limfosit, trombosit dan nilai hematokrit hari pertama
- e) Data dianalisis untuk mencari perbandingan antara neutrofil limfosit dan trombosit pada kebocoran plasma

3.7 Definisi Operasional

Tabel 3.1. Definisi Operasional

Variabel	Definisi Operasional	Alat Ukur	Cara Ukur	Hasil Ukur	Skala Ukur
Demam Berdarah Dengue	Demam berdarah adalah penyakit yang ditularkan ke manusia melalui nyamuk <i>Aedes aegyti</i> yang terinfeksi virus dengue	Rekam medik	Dengan melihat diagnosis pasien yang tertera dalam rekam medis	Derajat 1 Derajat 2	Ordinal
Rasio Neutrofil Limfosit	Hasil perhitungan pemeriksaan neutrofil dibagi limfosit pada darah tepi	Rekam Medik	Hasil laboratorium Rekam Medik dari nilai neutrofil absolut dan nilai limfosit absolut.		Ordinal
Kebocoran plasma	Peningkatan atau penurunan nilai hematokrit pada anak dengan infeksi dengue	%hemo-konsentrasi	Ht saat datang – Ht dasar/Ht dasar x 100%		Nominal
Trombosit	Fragmen sitoplasmik tanpa inti yang berasal dari sumsum tulang	Rekam medik	Melihat hasil laboratorium yang tercatat di rekam medik	Tromnositopenia <150.000 Trombositosis >400.000	Ordinal

3.8 Diagram Alur Penelitian



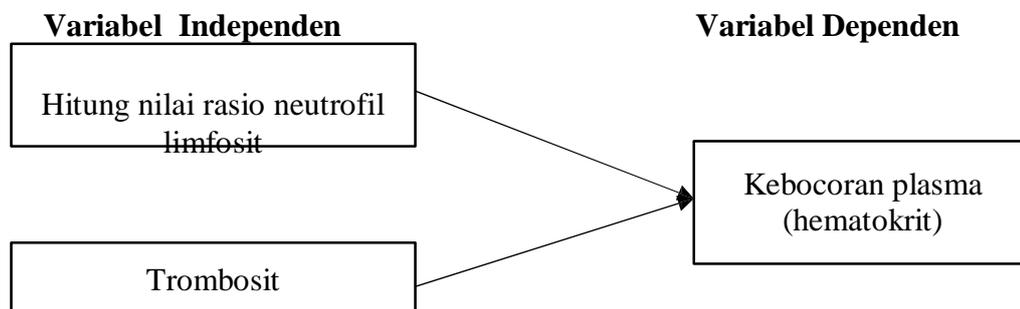
3.9 Identifikasi Variabel

Variabel penelitian ini terdiri dari variabel bebas (independen) dan variabel terikat (dependen).

Variabel bebas : Rasio neutrofil limfosit dan trombosit

Variabel terikat : Kebocoran Plasma (hematokrit) pasien Demam berdarah dengue

3.10 Kerangka Konsep



Gambar 3.1. Kerangka Konsep

3.11 Analisis Data

Analisis data yang digunakan adalah analisis uji perbandingan (Uji Independent Sample T-Test) dimana data yang digunakan memiliki skala pengukuran numerik dan terdiri dari 2 kelompok. Lalu sebelum dilakukan uji ini terlebih dahulu melakukan uji normalitas dimana pada uji normalitas digunakan uji Shapiro-Wilk karena berdasarkan jumlah data, jika jumlah data dibawah 50 maka uji yang paling baik dengan Uji Shapiro-Wilk..

Dalam analisis uji perbandingan yang perlu diutamakan adalah syarat-syarat yang harus terpenuhi sebelum melakukan pengujian hipotesis . Adapun syarat yang harus terpenuhi adalah kedua sample tidak saling berpasangan. Jika sampel berpasangan maka uji hipotesis dapat dilakukan dengan uji Paired Sample t-Test. Selanjutnya dilakukan uji normalitas terlebih dahulu dimana jika data berdistribusi normal lanjut untuk melakukan uji perbandingan dan jika data tidak terdistribusi normal data terlebih dahulu dilakukan transformasi data, setelah dilakukan transformasi data tetap tidak terdistribusi normal maka dipilih uji Mann-Whitney.

Dasar pengambilan keputusan Uji Independent Sample T-Test yakni Jika nilai Sig. (2-tailed) $>0,05$, maka disimpulkan tidak ada perbedaan antara variable independent terhadap dependent. Jika nilai Sig. (2-

tailed) $<0,05$ maka dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan antara variabel independent terhadap dependen.