



Deteksi Interleukin-10 (IL-10) pada Mice Balb/C yang diinfeksi dengan Virus Dengue: Telaah patogenesis antara teori infeksi sekunder dan virulensi

Detection of Interleukin-10 (IL-10) in Mice Balb/C that were challenged with Dengue Viruses: Pathogenesis study of secondary dengue infection versus virulence theory

Iwang Yusuf⁽¹⁾, P.G. Konthen⁽²⁾, Fedik A. Rantam⁽³⁾

¹Islamic University of Sultan Agung School of Medicine, Semarang

²Department of Internal Medicine, Airlangga University School of Medicine. Surabaya

³Tropical Diseases Centre Laboratory Airlangga University, Surabaya

KEYWORDS *inflammatory cytokine; secondary monospecific infection; secondary heterologous infection; vasculopathy Plasma leakage*

ABSTRACT *Since the pathogenesis/immunopathogenesis of vasculopathy plasma leakage in DHF/DSS was not clearly understood, this study was conducted. Considering the equilibrium between pro and anti inflammatory cytokine in homeostatic process in inflammation, this study was aimed to; first, detect the increase of secretion of IL-10 of immune responses of Mice Balb/c that were challenged with dengue virus serotype Den-1 & Den-3. Second, compare the secretion of IL-10 of immune responses of Mice Balb/c that were challenged with dengue viruses in primary infection, secondary monospecific infection and secondary heterologous infection. This study was experimental laboratory, with randomised pretest-posttest with spread control group design. Balb/C mice were used as animal laboratory models. The dengue viruses Den-1 & Den-3 that used in this study were isolated from dengue suspected patients and the viruses were inoculated and bred in BHK 21 clone 13 cell line, before they were injected to the models. Serum samples were collected from blood by centrifuging the blood for 10 minutes at 1000 rpm. The data of this experiment were obtained by applying the serum samples in Murine IL-10 Elisa Kit product of Diaclone Research France. In primary infection, significant increase of IL-10 mean titer in experimental group challenged with dengue viruses Den-1 was obtained ($p=0.03$) compared with the control group. Conversely the experimental group challenged with dengue viruses Den-3 showed no significant increase of mean titer ($p=0.127$). In the secondary infection, group treated with dengue Viruses Den-1 showed decrease of mean titer of IL-10 ($p=0.034$ & $p=0.003$). Meanwhile, group treated with dengue Viruses Den-3 showed no significant different compared to primary infection group ($p=0.571$ & $p=0.359$). The results of the study, support both virulence theory and the secondary heterologous dengue infection theory.*

Infeksi Dengue merupakan kajian yang menarik sebab interaksi antara virus Dengue dengan sistim imun inang dapat menyebabkan dua hal yang berbeda, di satu pihak tanggap kebal inang dibutuhkan dan dapat memberikan perlindungan terhadap infeksi Dengue, tetapi di lain hal tanggap kebal terhadap infeksi virus Dengue dilaporkan dapat memperberat infeksi

virus (Halstead *et al.* 1970; Halstead, 1988). Dari kriteria diagnostik yang dikeluarkan oleh WHO terlihat bahwa perbedaan manifestasi ringan

Correspondence

Dr. H. Iwang Yusuf, MSi, Islamic University of Sultan Agung School of Medicine Semarang, Jl. Kaligawe KM 4 Semarang 50012, Telephone (024) 6583584-553 Facsimile: 6594366 E-mail: iwangyusuf@fk.unissula.ac.id; iwang02yus@yahoo.com

dan manifestasi berat infeksi virus Dengue terjadi akibat adanya kebocoran plasma yang ditandai dengan kenaikan nilai hematokrit (Soegijanto, 1999), sedangkan Srichaicul (1989) melaporkan bahwa pada demam berdarah dengue (DBD) dan sindrom syok dengue (SSD) yang merupakan manifestasi berat dari infeksi virus Dengue terjadi kebocoran plasma tanpa kerusakan pembuluh darah (*Vasculopathy Plasma Leakage*). Patogenesis kebocoran plasma pada infeksi virus Dengue ini belum dapat diungkap secara jelas (Shoe Thin, 1999; Igarashi, 1999).

Diskusi tentang patogenesis DBD/SSD saat ini berkembang menjadi dua kelompok besar yakni teori virulensi virus yang dipostulasikan oleh Rosen; yang mengatakan berat ringannya manifestasi infeksi virus Dengue tergantung pada susunan genetik dan jumlah virus yang menginfeksi; dan teori imunopatologi yang diungkapkan oleh Healstead, Russel serta Kurane dan Ennis. Healstead dan Russel mengungkapkan teori *Antibody Dependent Enhancement (ADE)* yaitu adanya antibodi sekunder dan antibodi non netralisasi dapat menyebabkan manifestasi berat dari infeksi virus Dengue, sedangkan Kurane dan Ennis dengan teori Mediatornya melaporkan bahwa adanya aktivitas imunitas seluler dan mediator-mediator humoral menyebabkan manifestasi berat infeksi virus Dengue (Sutaryo, 1999; Igarashi, 1999).

Berdasarkan teori virulensi virus, hasil penelitian epidemiologi di Indonesia melaporkan bahwa serotipe virus yang banyak ditemukan pada manifestasi ringan infeksi virus Dengue adalah virus Dengue serotipe Den-1, sedangkan yang banyak diisolasi dari penderita infeksi virus Dengue dengan manifestasi berat adalah virus Dengue serotipe Den-3 (Umar, 1999; Sutaryo, 1999; Soengeng, 1999). Pada teori imunopatologi, monosit yang terinfeksi menjadi target penghancuran oleh sel imunokompeten yang mengeluarkan zat mediator diantaranya adalah IL-1, IL-6 dan TNF α yang merupakan sitokin proinflamator; dan *Platelet Activating Factor (PAF)*. Peningkatan sekresi sitokin proinflamasi tersebut juga mengaktifasi sel Th2, Sel T sitotoksik (CD8⁺), makrofag, keratinosit dan sel

B untuk mensekresikan IL-10 yang dikenal sebagai faktor penghambat sintesis sitokin (*Cytokine synthesis inhibitory factor*). IL-10 secara alami berpengaruh menghambat Sel Th1 untuk mensekresikan IFN γ sehingga menghambat presentasi antigen dan menekan ekspresi MHC kelas II. IL-10 juga menghambat produksi sitokin proinflamator oleh makrofag/monosit dan NK sel, serta mensupresi produksi Reactive Oxygen Intermediates (ROI), Nitric Oxide (NO) dan molekul adhesi pada makrofag. Hal ini dapat menghambat proses inflamasi, oleh karena itu IL-10 ini termasuk sebagai sitokin antiinflamator (Oppenheim and Russeti, 1997; Roitt, 1997; Imboden, 1997).

Ketidakseimbangan sekresi sitokin pro dan anti inflamator diduga berperan terhadap terjadinya kebocoran plasma dan perdarahan pada DBD/SSD. Peningkatan produksi sitokin proinflamator yang tidak diikuti dengan kenaikan kadar sitokin antiinflamator dapat meningkatkan reaksi inflamasi yang dapat merugikan dan memperberat manifestasi infeksi virus dengue.

BAHAN DAN CARA KERJA

Hewan Coba

Hewan coba yang dipergunakan adalah 45 ekor Mice Balb/c dengan umur lebih dari 6 minggu dan berat badan lebih dari 20 gram yang didapat dari PUSVETMA Surabaya. Hewan coba dibagi dalam 5 kelompok yang terdiri dari 4 kelompok perlakuan dan 1 kelompok kontrol yang tidak diberi perlakuan (Leenaars *et al.*, 1998).

Virus

Virus yang digunakan adalah virus Dengue Den-1 dan Den-3 hasil isolasi dari penderita yang didapat dari US NAMRU Jakarta. Virus Dengue dikembangkan dalam sel BHK (*Baby Hamster Kidney*) 21 klon 13 splitting ke 78 untuk perlakuan injeksi primer dan injeksi sekunder.

Cara Kerja

Pengembangan virus

Isolat virus Dengue Den-1 dan Den-3, masing-masing dikembangkan sendiri-sendiri dalam sel BHK 21 klon 13 spiting ke 78 dengan medium penumbuh MEM (*minimal essential medium*) ditambah dengan 10% FCS (fetal calf serum) dan diinkubasi dalam inkubator temperatur 37°C dengan kadar CO₂ 5%. Inokulasi virus dilakukan ketika sel BHK telah 70% mengembang, dan panen virus dilakukan ketika sel BHK telah mengembang 90% - 100% dengan CPE (cyto pathogenic effect) telah timbul merata. Medium penumbuh yang berisi CPE disentrifugasi dengan kecepatan 5000 rpm selama 15 menit, supernatannya dikoleksi untuk disuntikkan ke hewan coba.

Pembuatan sampel serum

Serum injeksi primer Den-1, dibuat dengan menyuntikkan 0.2 ml virus Dengue Den-1 secara intra vena melalui pembuluh darah ekor. Serum darah primer diambil 5 hari setelah injeksi (masa viremia) melalui pembuluh darah mata kemudian disentrifugasi selama 10 menit pada 1000 rpm dan disimpan dalam lemari pendingin -80°C. Serum injeksi primer Den-3 dilakukan dengan menyuntikkan 0.2 ml virus Dengue Den-3 secara intra vena melalui pembuluh darah ekor. Serum darah primer diambil 5 hari setelah injeksi (masa viremia) melalui pembuluh darah mata kemudian disentrifugasi selama 10 menit pada 1000 rpm dan disimpan dalam lemari pendingin -80°C.

Serum injeksi sekunder monoserotipe Den-1 (Den-1 - Den-1), dibuat dengan menyuntikkan virus Dengue yang sama pada kelompok tikus yang telah diinfeksi secara primer dengan virus Dengue Den-1, 3 minggu setelah injeksi primer dengan dosis 0.5 ml secara subkutan di daerah punggung. Serum injeksi sekunder monoserotipe Den-3 (Den-3 - Den-3), dibuat dengan menyuntikkan virus dengue yang sama pada kelompok tikus yang telah diinfeksi secara primer dengan virus Dengue Den-3, 3 minggu setelah injeksi primer dengan dosis 0.5 ml secara subkutan di daerah punggung.

Serum injeksi sekunder heteroserotipe Den-1 - Den-3, dibuat dengan menyuntikkan

virus Dengue Den-3 pada kelompok tikus yang telah diinfeksi secara primer dengan virus Dengue Den-1, 3 minggu setelah injeksi primer dengan dosis 0.5 ml secara subkutan di daerah punggung. Serum injeksi sekunder heteroserotipe Den-3 - Den-1, dibuat dengan menyuntikkan virus Dengue Den-1 pada kelompok tikus yang telah diinfeksi secara primer dengan virus Dengue Den-3, 3 minggu setelah injeksi primer dengan dosis 0.5 ml secara subkutan di daerah punggung. Pola injeksi sekunder heteroserotipe Den-1 - Den-3 dan injeksi sekunder heteroserotipe Den-3 - Den-1 dimaksudkan untuk mengetahui pengaruh virulensi virus terhadap sekresi IL-10 pada "the secondary heterologous infection theory".

Serum sekunder dan serum darah kontrol diambil 1 hari setelah injeksi melalui pembuluh darah mata kemudian disentrifugasi selama 10 menit pada 1000 rpm. Serum darah yang telah dikumpulkan secara bersama-sama diperiksa kadar IL-10 nya dengan menggunakan kit ELISA Murine IL-10, kemudian dibaca absorbennya dengan menggunakan ELISA Reader pada panjang gelombang 450 nm (Stites, 1997)

Distribusi data yang diperoleh dianalisis dengan One-Sample Kolmogorov-Smirnov-Test, kemudian perbedaan rerata IL-10 antara kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol dianalisis dengan independent T-test. Adapun perbedaan rerata IL-10 kelompok injeksi primer dengan kelompok injeksi sekunder dianalisis dengan Paired T-test (Sarmanu, 1994; Singgih, 1999).

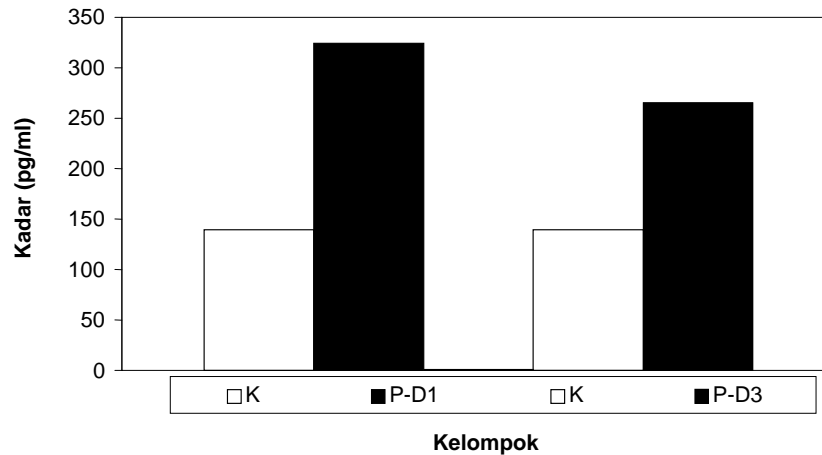
H A S I L

Dari hasil pembacaan ELISA terhadap standar dapat diperoleh rumus $X = Y - 0.0997 / 0.0005$ yang dapat dipergunakan untuk menentukan kadar IL-10 masing-masing hewan coba berdasarkan nilai absorbennya. Hasil analisis distribusi data menunjukkan bahwa data semua kelompok berdistribusi normal dengan nilai rerata kadar IL-10 untuk kelompok kontrol = 139.50 pg/ml, kelompok injeksi primer dengan virus Dengue Den-1 =

325.10 pg/ml, kelompok injeksi primer dengan virus Dengue Den-3 = 265.03 pg/ml, kelompok injeksi sekunder monoserotipe (Den-1-Den-1) = 160.31 pg/ml, kelompok injeksi sekunder monoserotipe (Den-3-Den-3) = 381.10 pg/ml, sedangkan pada kelompok injeksi sekunder heteroserotipe (Den-1-Den-3) = 113.93 pg/ml dan pada injeksi sekunder heteroserotipe (Den-3-Den-1) = 260.36 pg/ml.

Perbedaan rerata kadar IL-10 antara kelompok perlakuan injeksi primer dengan virus Dengue Den-1 dengan kelompok kontrol adalah 184.62 pg/ml dengan signifikasi 2 arah sebesar $p = 0.031 < 0.05$. Hal ini menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna atau dapat

diartikan ada kenaikan kadar IL-10 pada kelompok injeksi primer dengan virus Dengue Den-1 dibandingkan dengan kelompok kontrol. Sementara itu pada kelompok injeksi primer dengan virus Dengue Den-3 didapat hasil perbedaan rerata IL-10 dengan kelompok kontrol sebesar 125.67 pg/ml dengan signifikasi 2 arah $p = 0.127 > 0.05$. Hasil ini menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna antara kelompok injeksi primer dengan virus Dengue Den-3 dengan kelompok kontrol. Dengan kata lain tidak ada kenaikan kadar IL-10 kelompok yang diinjeksi primer dengan virus Dengue Den-3 dibandingkan dengan kelompok kontrol.



Gambar 1. Perbedaan rerata Kadar IL-10 Kelompok Kontrol dengan Kelompok Injeksi Primer Den-1 dan Den-3
Ket : K = kontrol, P-D1 = Injeksi Primer virus Dengue Den-1, P-D3 = Injeksi Primer virus Dengue Den-3.

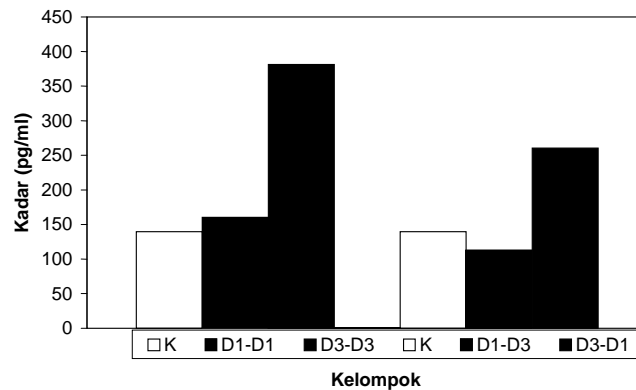
Hasil uji Independent T-test pada dua kelompok injeksi sekunder monoserotipe memberikan hasil yang berbeda, dengan perbedaan rerata kelompok injeksi sekunder monoserotipe (Den-1-Den-1) dan kelompok kontrol adalah sebesar 21.11 pg/ml, tetapi tidak signifikan ($p = 0.734 > 0.05$). Sementara itu antara kelompok injeksi sekunder monoserotipe dengan virus Dengue (Den-3-Den-3) dengan kelompok kontrol terdapat perbedaan rerata kadar sebesar 241.75 pg/ml yang signifikan ($p = 0.009 < 0.05$). Kedua nilai tersebut menunjukkan bahwa antara rerata kelompok injeksi sekunder mono-

serotipe virus Dengue (Den-1-Den1) dengan kelompok kontrol tidak ada perbedaan, sedangkan pada kelompok injeksi sekunder monoserotipe virus Dengue (Den-3 -Den-3) terdapat kenaikan rerata kadar IL-10 dibandingkan dengan kelompok kontrol.

Pada dua kelompok injeksi sekunder heteroserotipe tidak didapat perbedaan yang bermakna dibandingkan dengan kelompok kontrol. Pada kelompok yang diinjeksi sekunder heteroserotipe (Den-1-Den-3) didapat perbedaan nilai rerata sebesar - 25.41 pg/ml dibandingkan dengan rerata kelompok kontrol. Hasil ini

memberikan nilai signifikan 2 arah sebesar $p = 0.653 > 0.05$ yang menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan rerata antara kedua kelompok tersebut. Sementara itu pada kelompok injeksi sekunder heteroserotipe (Den-3-Den-1) didapat perbedaan rerata sebesar 120.96 pg/ml dibandingkan dengan rerata kelompok kontrol. Perbedaan nilai rerata tersebut memberi

signifikan 2 arah sebesar $p = 0.230 > 0.05$, yang juga menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan rerata antara kelompok tersebut dengan kelompok kontrol.



Gambar 2. Perbedaan rerata kadar IL-10 kontrol dengan kelompok injeksi sekunder monoserotipe dan kelompok injeksi sekunder heteroserotipe.

Ket: K = Kontrol, D1-D1 = Kel. Inj. Sekunder Monoserotipe (Den-1-Den-1), D3-D3 = Kel. Inj. Sekunder Monoserotipe (Den-3-Den-3), D1-D3 = Kel. Inj. Sekunder Heteroserotipe (Den-1-Den-3), D3-D1 = Kel. Inj. Sekunder Heteroserotipe (Den-3-Den-1)

Secara keseluruhan pada uji t berpasangan, rerata kadar IL-10 kelompok yang diinjeksi primer apabila dibandingkan dengan rerata kadar IL-10 kelompok yang diinjeksi sekunder terdapat perbedaan rerata sebesar 103.66 pg/ml. Hasil ini menunjukkan signifikan 2 arah sebesar $p = 0.004$ dengan koefisien korelasi sebesar 0.000. Hal ini menunjukkan bahwa secara keseluruhan terdapat penurunan rerata kadar IL-10 kelompok primer setelah diinjeksi sekunder.

Untuk uji kelompok 1 Injeksi Primer Den-1 dengan kelompok Injeksi Sekunder Monoserotipe (Den-1-Den-1) didapat hasil nilai korelasi 0.974 dengan taraf signifikansi 0.000. Hal ini

menunjukkan hubungan pasangan kelompok tersebut sangat bermakna. Kemudian hasil dari uji t perpasangan diperoleh nilai perbedaan rerata pasangan sebesar 225.43 pg/ml dan nilai $t = 2.742$ dengan taraf signifikan 2 arah $0.034 < 0.05$. Hasil ini menunjukkan ada perbedaan yang bermakna antar rerata kadar mIL-10 kedua kelompok tersebut.

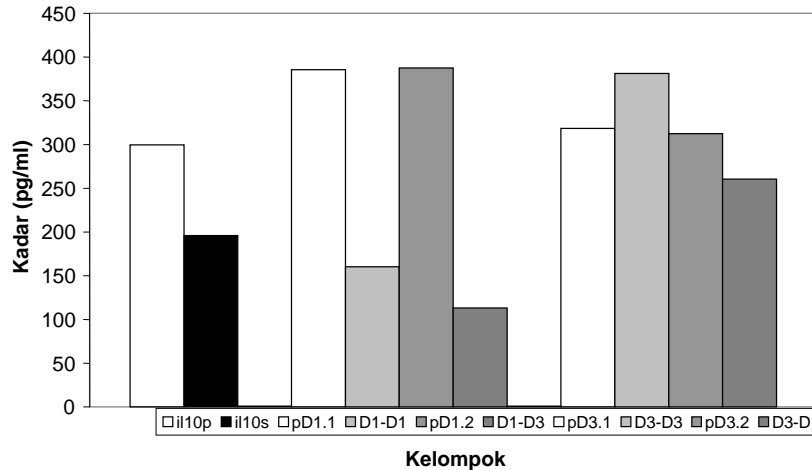
Untuk uji kelompok 2 injeksi Primer Den-1 dengan Kelompok Injeksi Sekunder Heteroserotipe (Den-1-Den-3) didapat hasil nilai korelasi 0.940 dengan taraf signifikansi 0.005. Hal ini menunjukkan bahwa hubungan pasangan kelompok tersebut sangat bermakna. Kemudian hasil dari uji t berpasangan didapat nilai

perbedaan rerata pasangan sebesar 273.67 pg/ml dan nilai t 5.322 dengan taraf signifikasi 2 arah $0.003 < 0.05$. Hasil ini menunjukkan ada perbedaan yang sangat bermakna antar rerata kadar mIL-10 kedua kelompok tersebut.

Untuk uji kelompok 1 injeksi Primer Den-3 dengan Kelompok Injeksi Sekunder Monoserotipe (Den-3-Den-3) didapat hasil nilai korelasi 0.592 dengan taraf signifikan 0.408. Hal ini menunjukkan hubungan pasangan kelompok tersebut tidak bermakna. Selanjutnya hasil dari uji t berpasangan didapat nilai perbedaan rerata pasangan sebesar -62.50 pg/ml dan nilai t -0.634 dengan taraf signifikan 2 arah $0.571 > 0.05$. Hasil ini menunjukkan tidak ada perbe-

daan yang bermakna antar rerata kadar mIL-10 kedua kelompok tersebut.

Untuk uji kelompok 2 Injeksi Primer Den-3 dengan Kelompok Injeksi Sekunder Heteroserotipe (Den-3-Den-1) didapat hasil nilai korelasi 0.797 dengan taraf signifikan 0.032. Hal ini menunjukkan bahwa hubungan pasangan kelompok tersebut adalah bermakna. Kemudian hasil dari uji t berpasangan didapat nilai perbedaan rerata pasangan sebesar 52.28 pg/ml dan nilai t 0.993 dengan taraf signifikan 2 arah $0.359 > 0.05$. Hasil ini menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna antara rerata kadar IL-10 kedua kelompok tersebut.



Gambar 3. Perbedaan rerata kadar IL-10 kelompok injeksi primer-sekunder Den-1 dan kelompok injeksi primer-sekunder Den-3.

Ket: il10p = Kel. Inj. Primer, il10s = Kel. Inj. Sekunder, pD1.1 = Kel.1 Inj. Primer Den-1, D1-D1 = Kel. Inj Sekunder Monoserotipe (Den-1-Den-1), pD1.2 = Kel. 2 Inj. Primer Den-1, D1-D3 = Kel. Inj. Sekunder Heteroserotipe (Den-1-Den-3), pD3.1 = Kel. 1 Inj. Primer Den-3, D3-D3 = Kel. Inj. Sekunder Monoserotipe (Den-3-Den-3), pD3.2 = Kel. 2 Inj. Primer Den-3, D3-D1 = Kel. Inj. Sekunder Heteroserotipe (Den-3-Den-1)

PEMBAHASAN

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa pada infeksi primer, virus Dengue Den-1 mempunyai kemampuan untuk menginduksi sel imunokompeten untuk memproduksi IL-10. Dengan demikian peningkatan sekresi sitokin proinflamator yang terjadi pada infeksi virus

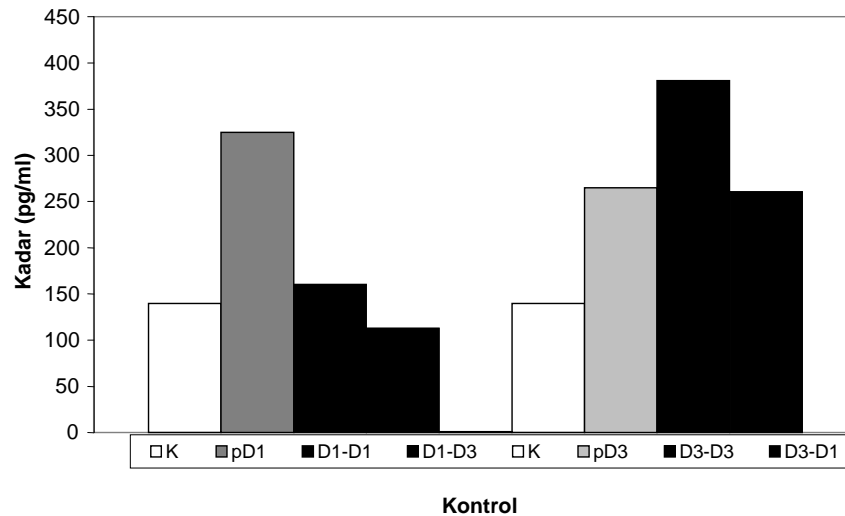
Dengue seperti halnya yang dilaporkan oleh para peneliti terdahulu (Kurane dan Ennis, 1992; dll) dapat diimbangi dengan peningkatan sekresi IL-10, sehingga dampak kemungkinan terjadinya kebocoran plasma yang hebat akibat reaksi inflamasi yang berlebihan seperti yang dilaporkan oleh Srichaikul (1989) menjadi lebih kecil.

Pada kelompok injeksi sekunder monoserotipe tampak bahwa inang yang telah mendapat infeksi primer dengan virus Dengue Den-1 kemudian mendapat infeksi sekunder dengan serotipe virus Dengue yang sama, maka sitokin IL-10 yang disekresikan tidak sebanyak pada infeksi primer. Oleh karena itu infeksi sekunder monoserotipe dengan virus Dengue Den-1 ini dapat meningkatkan manifestasi tingkat keparahan infeksi virus Dengue. Hal ini sejalan dengan hasil penelitian Soegijanto (1998) di Surabaya yang menyatakan bahwa manifestasi Demam Berdarah Dengue derajat II yang disebabkan oleh infeksi virus Dengue Den-1 adalah sebesar 20%. Sementara itu hasil analisis kelompok injeksi sekunder heteroserotipe (Den-1-Den-3) menunjukkan terjadinya penurunan sekresi IL-10 yang sangat tajam dibanding kelompok injeksi primer. Penurunan sekresi IL-10 ini menyebabkan berkurangnya kontrol terhadap efek peningkatan sitokin proinflamator seperti yang diutarakan dalam teori mediator (Kurane dan Ennis, 1992; Mori *et al.*, 1997). Kondisi ini akan mengganggu mekanisme keseimbangan sitokin pro dan anti inflamator sehingga memungkinkan terjadinya proses inflamasi yang berlebihan yang dapat menyebabkan renjatan.

Hasil analisis pada kelompok perlakuan yang diinjeksi primer dengan virus Dengue Den-3 ternyata memberikan hasil yang berbeda dengan kelompok yang diinjeksi primer dengan virus Dengue Den-1. Infeksi primer virus Dengue Den-3 tidak mampu menginduksi sel-sel imunokompeten untuk memproduksi sitokin antiinflamator (IL-10), sehingga pada infeksi ini sekresi sitokin antiinflamator tidak cukup untuk menghambat efek sekresi sitokin proinflamator. Akibatnya keadaan homeostatik pada proses inflamasi terganggu dan selanjutnya dapat

terjadi proses inflamasi yang berlebihan yang meningkatkan kemungkinan kebocoran plasma yang hebat. Sementara itu hasil analisis pada kelompok injeksi sekunder monoserotipe (Den-3-Den-3) menunjukkan adanya kenaikan sekresi IL-10 yang sangat tinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol. Hasil ini memberi arti bahwa infeksi sekunder monoserotipe virus Dengue Den-3 mampu menginduksi sel-sel imunokompeten untuk mensekresikan sitokin antiinflamator, sehingga risiko terjadinya kebocoran plasma akibat dari ketidakseimbangan sitokin pro dan anti inflamator dapat berkurang. Hal ini juga menunjukkan bahwa risiko terjadinya manifestasi berat infeksi virus Dengue pada infeksi sekunder monoserotipe virus Dengue Den-3 menjadi lebih kecil. Adapun hasil analisis pada kelompok injeksi sekunder heteroserotipe menunjukkan tidak adanya kenaikan sekresi IL-10 baik dibandingkan dengan kontrol maupun kelompok injeksi primer dengan virus Dengue Den-3.

Hasil analisis terhadap perlakuan infeksi dengan virus Dengue Den-3 ini memberi gambaran bahwa virus Dengue Den-3 baik pada infeksi primer maupun pada infeksi sekunder heteroserotipe tidak mampu menginduksi sel-sel imunokompeten untuk memproduksi sitokin antiinflamator (IL-10). Ketidakmampuan ini memberi risiko terjadinya kebocoran plasma akibat pengaruh peningkatan sitokin proinflamator yang cukup tinggi sebagaimana yang diutarakan oleh Kurane dan Ennis (1992). Tetapi, pada infeksi sekunder monoserotipe tampak bahwa infeksi sekunder yang terjadi pada inang yang telah terinfeksi dengan virus Dengue Den-3 tidak akan memperberat manifestasi infeksi.



Gambar 4. Perbedaan rerata kadar IL-10 kontrol dengan kelompok perlakuan injeksi virus Dengue Den-1 dan Den-3.

Ket: K = Kontrol, pD1 = Kel. Inj. Primer Den-1, D1-D1 = Kel. Inj. Sekunder monoserotipe (Den-1-Den-1), D1-D3 = Kel. Inj. Sekunder heteroserotipe (Den-1-Den-3), pD3 = Kel. Inj. Primer Den-3, D3-D3 = Kel. Inj. Sekunder monoserotipe (Den-3-Den-3), D3-D1 = Kel. Inj. Sekunder heteroserotipe (Den-3-Den-1).

KESIMPULAN

1. Penelitian ini dapat membuktikan adanya peningkatan sekresi interleukin-10 (IL-10) pada tanggap kebal mice Balb/c yang diinfeksi primer dengan virus Dengue Den-1. Meskipun demikian, pada infeksi primer dengan virus Dengue Den-3 tidak terbukti adanya peningkatan rerata kadar IL-10 pada kelompok perlakuan.
2. Pada penelitian ini, infeksi dengan virus Dengue Den-1 menunjukkan adanya penurunan kadar IL-10 antara infeksi primer, infeksi sekunder monoserotipe dengan infeksi sekunder heteroserotipe. Sementara itu pada infeksi dengan virus Dengue Den-3 tidak dapat dibuktikan adanya perbedaan antara infeksi primer, infeksi sekunder monoserotipe dan infeksi sekunder heteroserotipe.
3. Hasil perlakuan infeksi dengan virus Dengue Den-1 memberi gambaran pembenaran terhadap teori *the secondary dengue infection* yang dikemukakan oleh Halstead *et al.* (1970). Sementara itu hasil perlakuan dengan infeksi virus Dengue Den-3 lebih cenderung untuk sejalan dengan teori

virulensi virus yang dipostulasikan oleh Rosen (Igarasi, 1999).

SARAN

1. Untuk memperoleh gambaran yang lebih meyakinkan penelitian ini perlu dilanjutkan dengan penelitian yang secara langsung mengukur perbedaan sekresi sitokin proinflamator dan sitokin antiinflamator pada penderita infeksi virus dengue.
2. Pada kasus-kasus manifestasi klinis infeksi virus dengue secara sekunder perlu diteliti strain virus dengue yang menginfeksi primer guna menguatkan perbedaan dengan teori "the secondary heterologous dengue infection" yang menggunakan paradigma produksi imunoglobulin/antibodi, dengan hasil pada penelitian ini yang berdasar pada paradigma keseimbangan sitokin proinflamator dan sitokin anti inflamator.

UCAPAN TERIMA KASIH

Dengan telah selesainya penelitian ini kami mengucapkan terima kasih atas segala bantuan yang telah diberikan kepada LITBANG

DEPKES dan US NAMRU Jakarta yang telah memberikan isolat Virus Dengue. Kepada Direktur TDC UNAIR yang telah memberi ijin penelitian di Laboratorium Virologi TDC UNAIR.

KEPUSTAKAAN

- Halstead BS, Nimmannitya S, Sanford NC 1970. Observation to pathogenesis of Dengue Haemorrhagic Fever relation of diseases severity to antibody response and virus recovery. *Yale J Biol Med.* 42:311-328.
- Halstead BS 1988. Pathogenesis of Dengue: Challenges to molecular biology. *Science.* 239:476-481.
- Hadinegoro SRH, Soegeng S, Suharyono W, Thomas S 1999. Tatalaksana demam Dengue/demam berdarah Dengue. *DepKes RI*:hal 1-10.
- Igarashi A 1999. Current Problems And Future Challenge of Dengue Virus Infection with Special Reference to The Pathogenesis of Dengue Hemorrhagic Fever. In: Kuntaman, Maria I.L, Rachmat H, Bambang P.S(eds): "New Strategy in Controlling and Prevention of Dengue Fever/Dengue Haemorrhagic Fever in South East Asia". International Seminar on Dengue Fever/Dengue Haemorrhagic Fever. Surabaya: TDC UNAIR ,hal 6-9.
- Imboden BJ 1997. T lymphocytes & NK Cell. In: Daniel P.S, Abba I.T,Tristram G.P (eds): *Medical Immunology*,9th edition.Singapore:Appleton&Lange,pp 130-145.
- Kurane I and Francis E, Ennis 1992. Immunity and Immunopathology in Dengue virus infections.Seminar in Immunology. vol 4:pp 121-127.
- Leenaars PPAM, Coenraad FM, Hendriksen, Wim A, de Leeuw, Florina Carat, Philippe Delahaut, René Fischer, Marleis Halder, W. Carey Hanly, Joachim Hartinger, Jann Hau, Erik B. Lindblad, Werner Nicklas, Ingrid M. Outschoorn, Duncan ES, Stewart-Tull. 1998. The production of polyclonal antibody in laboratory animal.The report and recommendations of ECVAM work shop 35th.*Science and regulation: Internet Yahoo.com.*
- Mori M, Ichiro Kurane, Jurand Janus, Francis A. Ennis 1997. Cytokine production by Dengue virus antigen-responsive human T lymphocytes in vitro examined using a double immunocytochemical technique. *J Leukoc Biol.*61:338-345.
- Oppenheim JJ and Russeti WF 1997. Cytokines.In: Daniel P.S, Abba I.T, Tristram G.P (eds): *Medical Immunology*,9th dition.Singapore:Appleton&Lange,pp 146-167.
- Roitt MI 1997. The aquired immune response.In: *Essensial Immunology*,9th edition.London:Black Well,pp 179-221.
- Sarmanu 1994. Statistik Inferensial. HandOut Disampaikan pada Kursus Kependudukan.Surabaya:hal 43-51.
- Singgih S 1999. SPSS Mengola data statistik secara profesional versi 7.5. Jakarta: Elex Media Komputindo, hal 151-215, 311-314.
- Soegijanto S 1999. Hubungan manifestasi klinik dengan serotipe virus dengue.Dalam: Handout Kursus singkat biologi molekuler: penerapan teknik polymerase chain reaction (PCR) untuk diagnosis penyakit demam berdarah.Surabaya:TDC Unair,hal 29-42.
- Soe Thin 1994. Risk Factors in Dengue Haemorrhagic Fever. Thesis (Abstrac). University of Queensland. Australia.
- Srichaikul T 1989. Pathogenesis of Bleeding in DHF: Role of Platelet and Coagulation abnormality. *J Med Assoc Thai.* Apr:p 239-42.
- Stites PD 1997. Clinical laboratory methodes for detection of antigen & antibodies. In: Daniel P.S, Abba I.T, Tristram G.P (eds): *Medical Immunology*,9th edition. Singapore: Appleton&Lange,p 221-253.
- Sutaryo 1999. Perkembangan pathogenesis Demam Berdarah Dengue.Dalam: TOT tatalaksana demam berdarah dengue. Yogyakarta.
- Umar I.A. 1999. Situasi DBD di Indonesia tahun 1998 dan kebijaksanaan teknik program pemberantasan DBD. Dalam : TOT tatalaksana DBD'99.Yogyakarta.