



**KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN  
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**KETERANGAN KELAIKAN ETIK  
("ETHICAL CLEARANCE")**

No. /KEPK-FKUB/EC/ /

Setelah Tim Etik Penelitian Mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya mempelajari dengan seksama rancangan penelitian yang diusulkan :

Judul : Kit Dipstick Diagnostik Reaksi Anti-Antibodi sIgA dan sIgA (*secretory IgA*) Spesifik pada saliva Anak Penderita Demam Berdarah Dengue (DBD), Suatu Terobosan Mutakhir Untuk Menegakkan Diagnosis DBD Kriteria WHO 2009 Pada Anak.

Peneliti : Daniel Alexander S (0810710004)  
Karina Camelia S (105070401111020)  
Elvira Budianto (105070400111002)  
Ni Made Ayu Mulia K (091074045)  
I Putu Juniarta (080710055)

Unit / Lembaga : Fakultas Kedokteran universitas Brawijaya

Tempat Penelitian : Lab. Biomedik dan Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

Maka dengan ini menyatakan bahwa penelitian tersebut telah memenuhi syarat atau laik etik.

Malang,  
An. Ketua  
Koordinator Divisi I,

Prof.Dr.dr. Teguh Wahyu Sardjono DTM & H,MSc, SpPar(K)  
NIP. 19520410 198002 1 001





### FORMULIR ETIK PENELITIAN KESEHATAN

1.	<p>Peneliti : Daniel Alexander S (0810710004)          Karina Camelia S (105070401111020)          Elvira Budianto (105070400111002)          Ni Made Ayu Mulia K. (091074045)          I Putu Juniarta (080710055)</p> <p>Dibawah bimbingan komisi pembimbing          Dr.dr. I Ketut Muliarta, Sp.PA</p>
2.	<p>Judul Penelitian :          Kit Dipstick Diagnostik Reaksi Anti-Antibodi sIgA dan sIgA (<i>secretory IgA</i>) Spesifik pada saliva Anak Penderita Demam Berdarah Dengue (DBD), Suatu Terobosan Mutakhir Untuk Menegakkan Diagnosis DBD Kriteria WHO 2009 Pada Anak.</p>
3.	<p>Subyek :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Isolasi protein IgA saliva pada penderita DBD usia 3-14 tahun</li> <li>• Kelinci putih strain lokal (<i>Lepus nigricollis</i>)</li> </ul>
4.	<p>Perkiraan waktu Penelitian :          Februari – Mei 2012</p>
5.	<p>Ringkasan usulan penelitian yang mencakup objektif/tujuan penelitian, manfaat/relevansi dari hasil penelitian dan alasan/motivasi untuk melakukan penelitian.</p> <p>Demam Berdarah Dengue merupakan penyakit yang sangat tinggi tingkat mortalitas dan morbiditasnya. Hampir setiap tahun disemua daerah Indonesia, penyakit ini menjadi Kejadian Luar Biasa (KLB) dengan penderita lebih dari 2000 dalam jangka waktu satu bulan dengan penderita kebanyakan anak-anak. Demam Berdarah Dengue adalah penyakit yang disebabkan oleh virus dengue, virus yang merupakan Artoped borine virus (arbovirus). Diantara banyak penyakit infeksius yang disebabkan oleh viral aroped, demam berdarah dengue merupakan penyakit infeksius yang paling penting dan paling mengancam jiwa.</p> <p>Virus dengue dapat menyebabkan manifestasi klinik yang bermacam-macam dari asimptomatik samapai fatal. Demam dengue atau dengue fever merupakan manifestasi klinik ringan sedangkan demam berdarah dengue dan dengue shock syndrom merupakan manifestasi klinik yang berat (Sutaryo, 1998).</p> <p>Diagnosis infeksi Dengue hingga saat ini ditegakkan dengan dua cara yaitu melalui gejala klinis dan melalui diagnosis laboratorium. Diagnosis menggunakan gejala klinis saja tidak dapat digunakan untuk memastikan</p>



infeksi dengue, tetapi kepastian infeksi harus dilengkapi dengan diagnosis laboratorium. Dua metode dasar untuk menegakkan diagnosis laboratorium infeksi dengue adalah pendeteksian antibodi anti-dengue (serologi) dan pendeteksian virus (WHO,1997). Terdapat lima jenis uji serologis yang bisa dipakai untuk menentukan adanya infeksi dengue yaitu uji hemahlutisasi inhibisi, uji komplemen fiksasi, uji netralisasi, IgM ELISA dan IgG ELISA (Sri rezeki, dkk, 1999).

Terdapat banyak kelemahan uji serologis pada praktek nyata di komunitas, kelemahan tersebut antara lain mempunyai reaksi silang dengan arbovirus lain, prosedurnya sulit dan pemeriksaan pada demam masa akut biasanya masih belum menunjukkan hasil positif kendati pasien telah terjangkit virus dengue. Terdapat berbagai macam media yang dapat digunakan untuk deteksi virus dengue dalam praktek sehari-hari. Media yang dapat digunakan antara lain pada jaringan autopsi, sampel serum dan cairan serebrospinal (WHO,1997). Uji serologis yang digunakan di laboratorium pada umumnya hingga saat ini adalah menggunakan sampel darah penderita.

Terdapat banyak kendala pengambilan darah untuk diagnosis demam berdarah dengue pada anak-anak, diantaranya anak-anak takut terhadap tusukan pengambilan darah, membutuhkan teknisi yang terlatih, dan sebelum pemeriksaan harus ada perlakuan untuk memisahkan serum dan plasma (Cuzzubo, et a;, 1998).

Peneliti mencermati bahwa diagnosis dengue dengan menggunakan media saliva tentunya layak untuk dikembangkan. Saliva sebagai media diagnosis demam berdarah dengue diarahkan pada identifikasi terdapatnya antibodi (khususnya IgA) dan virus dengue. Pertimbangan penggunaan saliva sebagai media diagnosis dengue didasari pada pertimbangan bahwa cara pengambilan saliva pada anak tidak invasif dan menakutkan, lebih ekonomis dan menghindari resiko penularan penyakit lewat jarum suntik (Suardji, 1996). Penelirian-penelitian sebelumnya juga telah dilakukan untuk uji kadar IgM dan IgG pada saliva penderita demam dengue (Cuzzubo, et al, 1998).

Tujuan dari penelitian ini adalah membuktikan bahwa terdapat peningkatan kada IgA spesifik saliva pada pasien anak penderita Demam Berdarah Dengue (DBD) serta membuktikan bahwa reaksi auto antibodi IgA dan IgA spesifik saliva pada pasien anak dengan DBD dapat digunakan untuk menegakkan diagnosis DBD.

Manfaat dari penelitian ini adalah menambah khasanah konsep dasar tentang mekanisme imunologi dari penderita DBD khususnya peningkatan IgA spesifik sebagai penanda DBD dan sebagai pendekatan diagnostik DBD yang efektif namun tidak invasif. Menambah alternatif diagnostik DBD yang efektif namun tidak invasif dengan mendeteksi reaksi auto antibodi IgA dan IgA spesifik saliva pada pasien anak sehingga mampu meningkatkan taraf kesehatan masyarakat.

6. Masalah etik (nyatakan pendapat anda tentang masalah etik yang mungkin dihadapi)

Pengambilan sampel saliva dari penderita DBD untuk dilakukan isolasi dan pemeriksaan IgA mungkin merupakan masalah etik karena pengambilan saliva dapat menyebabkan ketidaknyamanan pada penderita.

Penggunaan kelinci putih strain lokal (*Lepus nigricollis*) sebagai hewan coba dimana adanya kemungkinan terburuk yang akan terjadi dan pada akhir

	percobaan, kelinci putih strain lokal ( <i>Lepus nigricollis</i> ) akan diambil serumnya.
7.	<p>Bila penelitian ini menggunakan subyek manusia, apakah percobaan pada hewan sudah dilakukan? Bila belum, sbutkan alasan untuk memulai penelitian ini pada manusia.</p> <p>Sampel saliva penderita DBD pada manusia lebih representatif dan lebih ekonomis karena tidak perlu membuat hewan coba yang sehat menjadi DBD.</p>
8.	<p>Prosedur penelitian yang dilakukan:</p> <p><u>Prosedur Tahap I</u>  <u>Persiapan Pengambilan dan Metode Pengambilan Saliva</u>  <b>Populasi dan Sampel</b>          Populasi penelitian adalah pasien anak anak yang menderita Demam Berdarah Dengue yang berobat ke poliklinik Anak RSSA Malang pada saat dilakukan penelitian. Penegakan diagnosis Demam Berdarah Dengue positif ditetapkan oleh Departemen Ilmu Kesehatan Anak.</p> <p>Subyek penelitian adalah pasien anak yang menderita Demam Berdarah Dengue yang sesuai dengan kriteria inklusi penelitian yang diperlukan. Sampel diambil dengan cara <i>consecutive sampling</i>. Setiap pasien yang memenuhi kriteria inklusi dalam kurun waktu tertentu, hingga jumlah pasien yang diperlukan memenuhi syarat jumlah minimal sampel.</p> <p><b>Kriteria pemilihan subyek penelitian :</b>  <b>Kriteria inklusi:</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Pasien yang didiagnosis DBD berumur 3 – 14 tahun.</li> <li>2. Diagnosis ditegakkan dengan dasar kriteria WHO 1999 dan pemeriksaan serologi ELISA.</li> <li>3. Orang tua pasien bersedia untuk mengikutkan anaknya dalam penelitian dan menandatangani informed concent.</li> </ol> <p><b>Kriteria eksklusi :</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Dalam perjalanan penyakitnya mengalami sepsis.</li> <li>2. Pasien yang tidak mengikuti sampai selesai atau pemeriksaan darah tidak lengkap atau pindah diluar Malang.</li> <li>3. Orang tua pasien menolak partisipasi.</li> </ol> <p><b>Cara Sampling</b>          Semua pasien yang memenuhi kriteria penelitian diambil sebagai sampel (<i>consecutive sampling</i>).</p> <p><b>Besar sampel</b>          Sesuai dengan hipotesis penelitian besar sampel dihitung dengan rumus besar sampel untuk uji korelasi. Tidak didapatkan nilai r dari referensi sebelumnya, sehingga dipakai koefisien korelasi sebesar (r)= 0,5. Nilai <math>Z\alpha = 1,96</math> (<math>\alpha = 0,05</math>). Nilai <math>Z\beta = 0,842</math> (<math>\beta = 0,2</math> untuk power penelitian sebesar 80%). Besar sampel Adalah (Madiyono, 2002) :</p> $n = \left[ \frac{Z\alpha + Z\beta}{0,5 \ln \left( \frac{1+r}{1-r} \right)} \right]^2 + 3 = \left[ \frac{1,96 + 0,842}{0,5 \ln \left( \frac{1+0,5}{1-0,5} \right)} \right]^2 + 3 \approx 38$ <p>Besar sampel yang dibutuhkan minimal 38 orang.</p>

**Cara Kerja****a. Data Riwayat Medis**

Diperoleh dari data rekam medik poliklinik Anak RSSA Saiful Anwar Malang kemudian dikonfirmasi kembali oleh peneliti dengan wawancara langsung kepada subyek penelitian atau keluarganya. Wawancara dilakukan di ruang pemeriksaan poliklinik Anak RSSA Saiful Anwar Malang.

**b. Masalah Etika**

Sebelum penelitian dilakukan, diajukan permohonan izin (*ethical clearance*) kepada Komisi Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya dan telah dikeluarkan surat lolos etik Subyek penelitian dimotivasi untuk ikut bersedia dalam penelitian secara sukarela, dengan menjelaskan tujuan, manfaat maupun ketidaknyamanan yang mungkin akan dirasakan dengan memberikan lembar informasi penelitian. Jika subyek bersedia mengikuti penelitian tanpa paksaan maka selanjutnya diberikan lembar *informed consent* untuk ditandatangani dan subyek penelitian berhak menolak dan mengundurkan diri selama penelitian, dan tidak dibebani biaya apapun.

**c. Pengambilan Sampel Saliva**

Pengumpulan saliva menggunakan metode *spitting* (metode standar dari Navazesh 1993). Sebelum dan selama pengumpulan saliva, subyek penelitian tidak diperkenankan makan, minum maupun membersihkan rongga mulutnya, selama kurun waktu 90 menit sebelum pengumpulan saliva. Selama pengumpulan saliva, subyek tidak diperkenankan bicara, menggerakkan lidah, atau melakukan gerakan penelanan.

- Subyek duduk nyaman dengan sandaran tegak, kepala ditundukkan dan tangan kanan memegang tabung penampung saliva. Saliva yang dikumpulkan adalah saliva keseluruhan dengan stimulasi.
- Pengumpulan saliva dilakukan selama 5 menit, didahului dengan stimulasi *paravin wax*.
- Subyek diinstruksikan untuk mengunyah *paravin wax*, kemudian setiap interval 1 menit subyek diminta untuk mengeluarkan saliva yang terkumpul dalam mulut ke dalam tabung pengukur melalui corong gelas.
- Saliva segera disimpan ke dalam termos es, kemudian disimpan pada lemari pendingin dengan suhu  $-70^{\circ}\text{C}$  untuk dilakukan pengukuran kadar IgA.

**Metode Isolasi sIgA dari Saliva**

1. Running 10 sampel saliva dengan metode elektroforesis SDS PAGE.
2. Karakterisasi antibodi sIgA dengan berat molekul 16 kilodalton pada band hasil SDS PAGE.
3. Sampel saliva juga diuji kadar sIgA nya dengan metode ELISA.
4. Isolasi antibodi sIgA dengan metode elektroelusi.
5. Purifikasi antibodi sIgA dengan teknik presipitasi ammonium sulfat 50% jenuh.

**Metode SDS-PAGE (Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrylamide Gel Electrophoresis) (Promega Corporation : 1993)**

**Persiapan Gel**

1. Alat dan bahan pembuatan gel disiapkan. Kaca dipasang pada penjepitnya.
2. Campuran bahan *separating gel* disiapkan sesuai dengan resep dan konsentrasinya.
3. Campuran *separating gel* dihomogenkan dengan cepat agar tidak segera mengeras.
4. Campuran *separating gel* dimasukkan pada *gel caster* dengan bantuan pipet, diikuti dengan pemberian aquades agar permukaan gel rata dan oksigen tidak ada.
5. Ruang disisakan untuk *stacking gel*.
6. Setelah *separating gel* mengeras, sisa aquades dibuang.
7. Campuran *stacking gel* disiapkan.
8. Campuran *stacking gel* dihomogenkan dengan cepat.
9. Campuran *stacking gel* dituang di atas *separating gel* dan sisir (*comb*) segera dipasang diatas *stacking gel*.
10. Gel dibiarkan hingga mengeras.
11. Setelah gel mengeras, kaca dilepas dari penjepitnya.
12. Gel pada kaca dipasang pada alat elektroforesis dan *running buffer* dituang.

#### **Persiapan Sampel**

##### **Prosedur**

1. Sampel protein dan *tracking dye* disiapkan.
2. Sampel protein dan *tracking dye* dicampur.
3. Sampel direbus pada suhu 100°C selama 5 menit.
4. Sampel didinginkan pada suhu ruangan.

#### **Elektroforesis Gel**

##### **Prosedur**

1. Sampel protein dimasukkan ke dalam gel melalui ujung atas *stacking gel* sebanyak 2 µl / sumur.
2. Power supply dinyalakan.
3. Sampel diproses atau *running* dengan memberikan tegangan listrik sebesar 120 V selama 60-90 menit.
4. Gel dilepas dari kacanya.

#### **Staining dengan Coomasie Brilliant Blue**

##### **Prosedur**

1. Gel direndam dalam staining solution.
2. Rendaman gel dalam staining solution diletakkan di dalam shacker selama 30 menit.

#### **Destaining**

##### **Prosedur**

1. Pewarna pada gel dihilangkan dalam rendaman destain solution.
2. Gel siap discan dan dianalisa hasilnya.

#### **Metode Elektroelusi dan Dialisa**

##### **Preparasi selofan :**

1. Potong selofan sepanjang yang diperlukan (6-8 cm).
2. Didihkan bertahap dalam :
  - a. 5% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> selama 15 menit, contoh : 5 gram dalam 100 ml dd H<sub>2</sub>O cuci di aquades steril dingin.
  - b. 50 mM EDTA pH 8 selama 15 menit, contoh : 1,861 gram dalam

100 ml dd H<sub>2</sub>O

c. Aquades steril yang dmendidih selama 15 menit.

3. Selofan siap dipakai.

#### **Memotong Pita**

1. Sediakan cawan petri sejumlah jenis pita yang dipotong yang diisi dengan *running buffer*.
2. Potong band yang diinginkan dari hasil Running Elektroforesis.
3. Masukkan hasil potongan ke masing masing cawan petri berlabel.
4. Hasil potongan dibagi 3, masukkan ke dalam satu cawan petri.

#### **Elektroelusi (memurnikan protein).**

1. Bilas selofan dengan running buffer sebelum diisi dengan potongan pita protein, isi selofan yang sudah dijepit di salah satu sisinya dengan Running Buffer, isi dengan potongan pita protein, jepit lagi di sisi yang lainnya.
2. Running dalam chamber elektroforesis horizontal 120 V, 60 menit.
3. Angkat untuk di dialisa.

#### **Dialisa (menghilangkan bahan kimia lain yang tidak diperlukan)**

1. Sampel pita protein dalam selofan yang sudah dijepit dikedua sisinya dimasukkan ke dalam beaker glass yang telah terisi aquades steril / PBS steril dingin
2. Stirrer selama 24 jam pada suhu 4° C
3. Setiap 8 jam ganti PBS 1L yang dingin dan baru.
4. Angkat selofan, koleksi supernatannya (cairan akan berubah biru). Masukkan supernatant ke dalam ependorf, masing masing ependorf diisi 500 ml (2 / 3 ependorf)
5. Presipitasi protein/ tambahkan dengan etanol absolute dingin / aseton dingin 1 : 1/ 500ml, simpan dalam 4° C overnight.
6. Besoknya, sentrifuges 12.000 rpm, selama 15 menit pada 4°C.
7. Buang supernatannya, didekantasi.
8. Kering anginkan.
9. Timbang berat pelletnya.
10. Jika dilakukan HA (Hemaglutinasi) maka resuspensi pellet dalam buffer tris Cl 0,5 M pH8.
11. Simpan pada -40°.

#### Prosedur Tahap II

##### Metode pembuatan anti antibodi slgA dengan metode poliklonal

1. Kelinci yang digunakan adalah kelinci galur ras lokal umur 6 bulan, jantan, dengan berat 2000 – 3500 gram, dipelihara dalam kandang dengan makanan pellet.
2. Imunisasi dilakukan dengan cara menyuntikkan antibodi slgA pada vena di telinga kelinci.
3. Penyuntikkan dilakukan sebanyak 5 kali dengan interval waktu penyuntikkan selama 1 minggu.
4. Satu minggu pertama, antibodi slgA dicampur dengan Complete Freund's Adjuvant (CFA) dengan perbandingan 1:1.
5. Penyuntikan booster (booster 1 sampai 4) dilakukan penyuntikan ulang dengan antibodi slgA yang dicampur dengan Incomplete Freund's Adjuvant (IFA).
6. Panen berupa serum darah dilakukan pada minggu kelima.

7. Serum darah ditempatkan dalam tabung sentrifuge.
8. Endapkan pada suhu 4°C selama semalam.
9. Sentrifugasi pada 2.000 rpm selama 15 menit.
10. Anti – antibodi yang merupakan supernatant dipisahkan.
11. Tambahkan larutan gliserol.
12. Simpan dalam botol serum.

#### Metode Purifikasi anti – antibodi slgA

1. Pemurnian antibodi dilakukan dengan teknik presipitasi Sodium Ammonium Sulfat (SAS) 50% jenuh.
2. Pembuatan SAS 50%: Ammonium sulfat ditambahkan dengan H<sub>2</sub>O hingga 10 ml.
3. 100 ml serum ditambahkan dengan 100 ml SAS 50% dengan perbandingan 1:1.
4. Vortex tiap 10 – 15 menit selama 15 – 60 menit.
5. Inkubasi pada suhu 4°C.
6. Vortex 1 menit dan inkubasi 4°C selama 5 – 10 menit.
7. Sentrifugasi pada 6.000 rpm selama 10 menit pada 4°C.
8. Ambil pellet, buang supernatan.
9. Tambahkan SAS 50% dengan perbandingan 1:2.
10. Kemudian homogenkan dan sentrifuge pada 6.000 rpm selama 10 menit pada 4°C.
11. Buang supernatant, ambil pellet.
12. Pellet dilarutkan dengan 100 ml buffer fosfat 0,05 M pada pH 7 sebanyak 1.000 ml pada suhu 4°C selama semalam, kemudian dialysis untuk selofan.

#### Prosedur Tahap III:

##### Metode Uji Spesifisitas Anti - Antibodi dengan teknik Dot Blot

1. Membran NC dipotong – potong dengan ukuran 5 x 7 cm<sup>2</sup>.
2. Masukkan dalam alat blot dot.
3. Basahi dengan 50 µL Tris Buffer Saline (TBS) per sumur, lalu dilakukan degas.
4. Membrane NC diinkubasi dengan larutan penghambat (*blocking*) TBS – skim 5% selama 1 jam.
5. Bilas membran NC dengan TBS – T 0,05% sebanyak 3 x 3 menit.
6. Tambahkan antibodi sekunder (*Alkaline phosphatase – conjugated antibody* 1:200 dalam TBS) selama 60 menit pada suhu ruang sambil di – shaker.
7. Bilas dengan TBS – T 0,05% sebanyak 3 x 3 menit.
8. Beri substrat untuk pewarnaan (reaksi enzimatis), tambahkan *Western Blue substrate solution* selama 10 – 30 menit pada ruangan gelap.
9. Reaksi dihentikan dengan dibilas aquadest apabila terjadi perubahan warna ungu muda sampai ungu tua pada bekas tetesan.
10. Warna ungu menunjukkan reaksi positif, bila tidak terjadi perubahan warna pada bekas tetesan, reaksi dianggap negatif.

#### Prosedur Tahap IV:

##### Metode Pelabelan Anti - Antibodi slgA dengan AP (*Alkaline Phosphatase*)

1. Poliklonal Anti-slgA sebanyak 50 µL dalam PBS 450 µL ditambahkan dengan 1,5 mg *Alkaline Phosphatase*



	<ol style="list-style-type: none"> <li>2. Tambahkan glutaraldehid 5% sampai konsentrasi akhir 0,2% sambil di vorteks.</li> <li>3. Inkubasi selama 2 jam pada suhu ruang.</li> <li>4. Lakukan dialisis dalam TBS pH 8,9 yang mengandung 1 mM MgCl<sub>2</sub> pada suhu 4°C selama semalam.</li> </ol> <p><u>Metode Pembuatan Kit Dipstick</u></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Teteskan pada ujung dipstick kertas VPDF yang bersifat <i>high capacity</i>.</li> <li>2. Keringkan pada suhu ruang.</li> <li>3. Simpan tertutup pada plastik untuk mencegah oksidasi dan kontaminasi.</li> </ol>
9.	<p>Bahaya potensia yang langsung atau tidak langsung, segera atau kemudian dan cara-cara untuk mencegah atau mengatasi kejadian (termasuk rasa nyeri dan keluhan lain)</p> <p>Pada pengambilan sampel saliva anak penderita DBD, metode yang digunakan dapat menyebabkan ketidaknyamanan bagi penderita karena penderita tidak diperkenankan makan, minum maupun membersihkan rongga mulutnya, selama kurun waktu 90 menit sebelum pengumpulan saliva. Untuk itu, dilakukan seminar kepada pasien untk menjelaskan mekanisme kerja penelitian ini, mekanisme pengambilan saliva dan kemungkinan ketidaknyamanan yang dialami, kemudian meminta <i>informed consent</i> pada setiap penderita yang diambil salivanya.</p>
10.	<p>Pengalaman terdahulu (sendiri atau orang lain) dan tindakan yang hendak diterapkan.</p> <p>-</p>
11.	<p>Bila penelitian ini menggunakan orang sakit dan dapat memberi manfaat untuk subyek yang bersangkutan, uraikan manfaat itu!</p> <p>Manfaat untuk subyek dikemudian hari adalah, dapat terciptanya metode diagnostik untuk menegakkan diagnosis Demam Berdarah Dengue dengan dasar adanya reaksi auto antibodi IgA dan IgA spesifik saliva pada pasien anak dengan DBD sehingga memudahkan diagnosis DBD pada anak-anak tanpa teknik yang invasif.</p>
12.	<p>Bagaimana memilih pasien?</p> <p>Kriteria inklusi:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Pasien yang didiagnosis Demam Berdarah Dengue berumur 3 – 14 tahun.</li> <li>2. Diagnosis ditegakkan dengan dasar kriteria WHO 1999 dan pemeriksaan serologi ELISA.</li> <li>3. Orang tua pasien bersedia untuk mengikutkan anaknya dalam penelitian dan menandatangani <i>informed concent</i>.</li> </ol> <p>Kriteria eksklusi :</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Dalam perjalanan penyakitnya mengalami sepsis.</li> <li>2. Pasien yang tidak mengikuti sampai selesai atau pemeriksaan darah tidak lengkap atau pindah diluar Malang.</li> <li>3. Orang tua pasien menolak partisipasi.</li> </ol>
13.	<p>Bila penelitian ini menggunakan subyek manusia, jelaskan hubungan antara</p>

	<p>peneliti dengan subyek yang diteliti!</p> <p>Subyek yang diteliti adalah anak-anak usia 3-14 tahun yang menderita DBD saat pengambilan sampel, dan tidak terjalin hubungan kekerabatan dengan peneliti.</p>
14.	<p>Bila penelitian ini menggunakan orang sehat, jelaskan cara pemeriksaan kesehatannya! Menggunakan orang sakit.</p>
15.	<p>Jelaskan cara pencatatan selama penelitian, efek samping dan komplikasi bila ada!</p> <p>Diperiksa setiap hari, dicatat perlakuan, keadaan/keaktifan kelinci, serta bila ada kejadian yang mempengaruhi penelitian.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Sampel saliva anak-anak penderita DBD diambil kemudian dimasukkan tabung pengumpul saliva dan diukur volumenya.</li> <li>• Dilakukan purifikasi protein antibodi pada saliva</li> <li>• Dilakukan elektroforesis untuk melihat berat molekul IgA saliva</li> <li>• Dilakukan elektroelusi untuk mengisolasi IgA</li> <li>• Dilakukan pembuatan antibodi poliklonal pada kelinci.</li> </ul>
16.	<p>Bila penelitian ini menggunakan subyek manusia, jelaskan bagaimana cara memberitahu dan mengajak subyek (lampirkan contoh surat persetujuan subyek). Bila pemberitahuan dan kesediaan subyek bersifat lisan atau bila karena sesuatu hal subyek tidak dapat atau tidak perlu dimintakan persetujuan, berilah alasan yang kuat untuk itu!</p> <p>Melalui seminar untuk menjelaskan mekanisme penelitian dan kemungkinan ada ketidaknyamanan selama tahapan pengambilan saliva, serta <i>informed consent</i> secara tertulis yang disetujui oleh penderita.</p>
17.	<p>Bila penelitian ini menggunakan subyek manusia, apakah subyek mendapat ganti rugi bila ada efek samping? Berapa banyak?</p> <p>Bila ada efek samping maka peneliti akan mengobati efek samping tersebut hingga penderita dinyatakan sembuh.</p>
18.	<p>Bila penelitian ini menggunakan subyek manusia, apakah subyek diasuransikan?</p> <p>Peneliti tidak mengasuransikan subyek</p>

## Lampiran 2

### LOGBOOK TUGAS AKHIR

No	Hari / Tanggal	Kegiatan	Hasil Kegiatan
1.	Februari 2012	Konsultasi ke Laboratorium Biomedik, Farmakologi, dan Ilmu Kesehatan anak RSSA.	Mendapat persetujuan melakukan penelitian di Lab Biomedik, dan Ilmu Kesehatan anak RSSA.
2.	Februari 2012	Mengajukan form kelaikan etik ke komisi etik FKUB.	Form etik diperiksa oleh tim komisi etik FKUB.
3.	Februari 2012	Menuju Lab Biomedik untuk memastikan alat dan bahan penelitian tersedia.	Alat dan bahan penelitian sudah tersedia.
4.	Februari 2012	Melakukan peminjaman Disertasi penelitian Dr.Tandya di Lab Biomedik.	Mendapatkan Disertasi dan melakukan revisi terhadap proposal.
5.	Jumat, 25 Februari 2012	Melakukan konfirmasi untuk pengambilan saliva pasien anak di RSSA.	Terdapat tiga pasien anak Demam Berdarah Dengue.
6.	Sabtu, 26 Februari 2012	Konfirmasi pembuatan dipstik di Lab Biokimia MIPA UB.	Konfirmasi diperlukan 300 µl anti-antibodi IgA.
7.	Senin, 28 Februari 2012	Surat kelaikan etik yang telah disetujui.	Surat kelaikan etik telah ditandatangani. (Form kelaikan etik disertakan).
8.	Jumat, 4 Maret 2012	Mengurus izin pengambilan sampel di RSSA.	Izin diperoleh dari direktur RS dengan biaya administrasi Rp 300.000,00.
9.	Kamis, 10 Maret 2012	Mengurus izin melakukan penelitian di RS lain (Lavalette, Panti Nirmala, RKZ, RSI).	Semua RS yang diberikan surat memberikan respon positif terhadap penelitian ini.
10.	Senin, 14 Maret 2012	Pembayaran di Lab Biomedik	Mengurus pembayaran untuk kegiatan penelitian di Lab Biomedik. Uang muka Rp 2.500.000,00
11.	Selasa, 15 Maret 2012	Persiapan alat dan bahan pengambilan sampel.	Mempersiapkan alat dan bahan untuk pengambilan sampel saliva Alat : Tabung tempat saliva, spuit, termos penyimpanan. Bahan : PMSF 1cc, EDTA 2,5cc.





**Gambar: Tabung Pengambilan Saliva**

<p>12.</p>	<p>Kamis, 17 Maret 2012</p>	<p>Pengambilan saliva di RSSA.</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Cara pengambilan sampel saliva.</li> <li>- Sebelumnya penelitian menanyakan pada pihak lab IKA mengenai ada/tidaknya pasien DBD.</li> <li>- Setelah (+) ada, maka saya mewawancarai pasien, kemudian saya menjelaskan tentang tujuan penelitian ini, setelah itu saya menkonfirmasi kepada pasien apakah pasien bersedia diikuti dalam penelitian ini.</li> <li>- Jika pasien bersedia, maka pasien diminta untu mengisi informconsent dan menandatangani (dengan penjeasan).</li> <li>- Dilanjutkan dengan pengambilan sampel saliva. Pasien diminta untuk mengeluarkan saliva dengan cara ekspektoransi dan dimasukkan dala tabung yang telah disiapkan (<math>\pm</math> 5 ml).</li> <li>- Sampel yang didapatn disimpan dalam box <math>-80^{\circ}\text{C}</math>.</li> <li>- Mengucapkan terima kasih kepada pasien dan pihak Lab IKA RSSA.</li> <li>- Hasil :didapatkan 1 sampel saliva</li> <li>- Infom consent terlampir.</li> </ul>
<p>13.</p>	<p>Jumat, 18 Maret 2012</p>	<p>Konfirmasi ke Lab IKA dan IPD RSSA.</p>	<p>Konfirmasi apa ada / tidak ada pasien DBD. Hasil tidak ada.</p>
<p>14.</p>	<p>Rabu, 23 Maret 2012</p>	<p>Pengambilan sampel saliva</p>	<p>Mengambil sampel saliva di Lab IKS RSSA. Hasil : mendapatkan 1 sampel saliva.</p>
<p>15.</p>	<p>Jumat, 26 Maret 2012</p>	<p>Pengambilan sampel saliva</p>	<p>Mengambil sampel saliva di rumah pasien. Hasil : mendapatkan 1 sampel</p>




**Gambar: Peneliti bersama dr Loeki dan anak (sebagai pasien yang diambil sampelnya)**


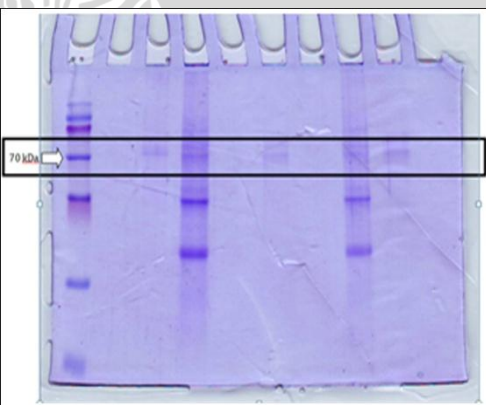
			saliva.
16.	Senin, 29 Maret 2012	Pengambilan sampel saliva	Mengambil sampel saliva. Hasil : mendapatkan 1 sampel saliva.
17.	Jumat, 1 April 2012	Pengambilan sampel saliva	Mengambil sampel saliva di RSSA. Hasil : mendapatkan 3 sampel.
18.	Senin, 3 April 2012	Pembelian kelinci 2 ekor sebagai kontrol (kelinci abu- abu) dan perlakuan (kelinci putih)	Berikut ini akan ditampilkan foto-foto kelinci yang digunakan dalam percobaan,   
19.	Rabu, 5 April 2012	Isolasi protein	Sampel telah dikumpulkan, disentrifugasi lalu dihasilkan presipitat slgA saliva.

			 <p><b>Gambar: Setelah isolasi protein, didapatkan presipitat slgA saliva</b></p>
<p>20.</p>	<p>Senin, 11 April 2012</p>	<p>Tahap 2 – SDS Page (Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrylamide gel Electrophoresis)</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Persiapan Gel Alat : Gel Caster,kaca, penjepit kaca. Bahan : Separating Gel, Stacking Gel. Acrylamide 30% (50ml)</li> <li>- Persiapan sampel Alat : Appendorf 1,5ml Bahan : Sampel Protein Tracking dye / RSB</li> </ul> <p>Penjelasan :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Persiapan Gel</li> <li>1. Alat dan bahan pembuatan gel disiapkan. Kaca disiapkan pada penjepitnya.</li> <li>2. Campuran bahan pembuatan gel disiapkan sesuai dengan resep dan konsentrasinya.</li> <li>3. Campuran separating gel dihomogenkan dengan cepat agar tidak segera mengeras.</li> <li>4. Campuran separating gel dimasukkan pada gel caster dengan bantuan pipet, diikuti dengan pemberian aquadest agar permukaan gel rata dan O<sub>2</sub> tidak ada.</li> </ul>

			<ol style="list-style-type: none"> <li>3. Ruang disisakan untuk stacking gel.</li> <li>4. Setelah separating gel mengeras, sisa aquades dibuang.</li> <li>5. Campuran stacking gel disiapkan dan dihomogenkan dengan cepat.</li> <li>6. Campuran stacking gel dituang diatas separating gel dan sisir segera dipasang diatas stacking gel.</li> <li>7. Gel dibiarkan hingga mengeras, setelah mengeras, kaca dilepas dari penjepitnya.</li> <li>8. Gel pada kaca dipasang pada alat elektroforesis dan running buffer dituang.</li> </ol> <p>- Persiapan sampel</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Sampel protein dan tracking dye disiapkan</li> <li>2. Sampel protein dan tracking dye dicampur</li> <li>3. Sampel direbus pada suhu 100°C selama 5 menit</li> <li>4. Sampel didinginkan pada suhu ruangan</li> </ol> <div style="display: flex; flex-direction: column; align-items: center;">   </div> <p><b>Gambar: Persiapan Sumuran dan Running Sampel</b></p>
21.	Jumat, 15 April 2012	Tahap Elektroforesis Gel	Alat : Alat elektroforesis yang memberi tegangan listrik ± 120V

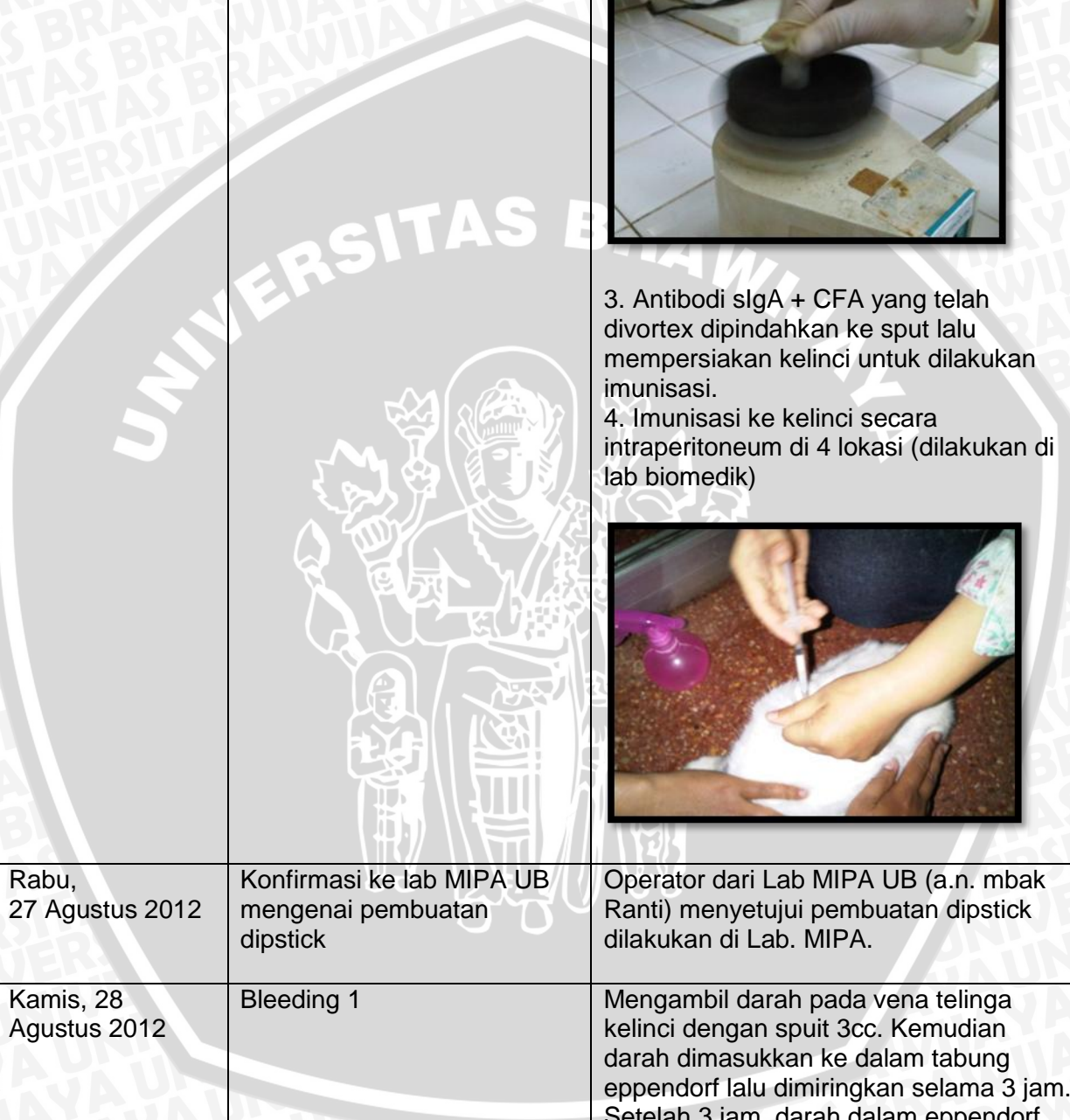


	 <p>Tahap Staining dengan coomasie Brilliant Blue</p>	<p>Bahan : Running Buffer (1000ml), Glycine 14,2 gr, Trias Base 3,03 gr, Aquades steril 1000 ml, SDS 1 gr.</p> <p>Prosedur:</p> <ol style="list-style-type: none"><li>1. Sampel protein dimasukkan ke dalam gel melalui ujung atas stacking gel sebanyak 2<math>\mu</math>L/sumur</li><li>2. Power Supply dinyalakan.</li><li>3. Sampel diproses / running dengan memberikan tegangan listrik sebesar 120 V selama 60-90 menit.</li><li>4. Gel dilepas dari kacanya</li></ol>   <p><b>Gambar: Pembuatan Stacking dan Separating Gel</b></p> <p>Prosedur:</p> <ol style="list-style-type: none"><li>1. Gel direndam dalam staining solution</li><li>2. rendaman gel dalam staining solution diletakkan di dalam shacker selama 30 menit.</li></ol>
--	---	--

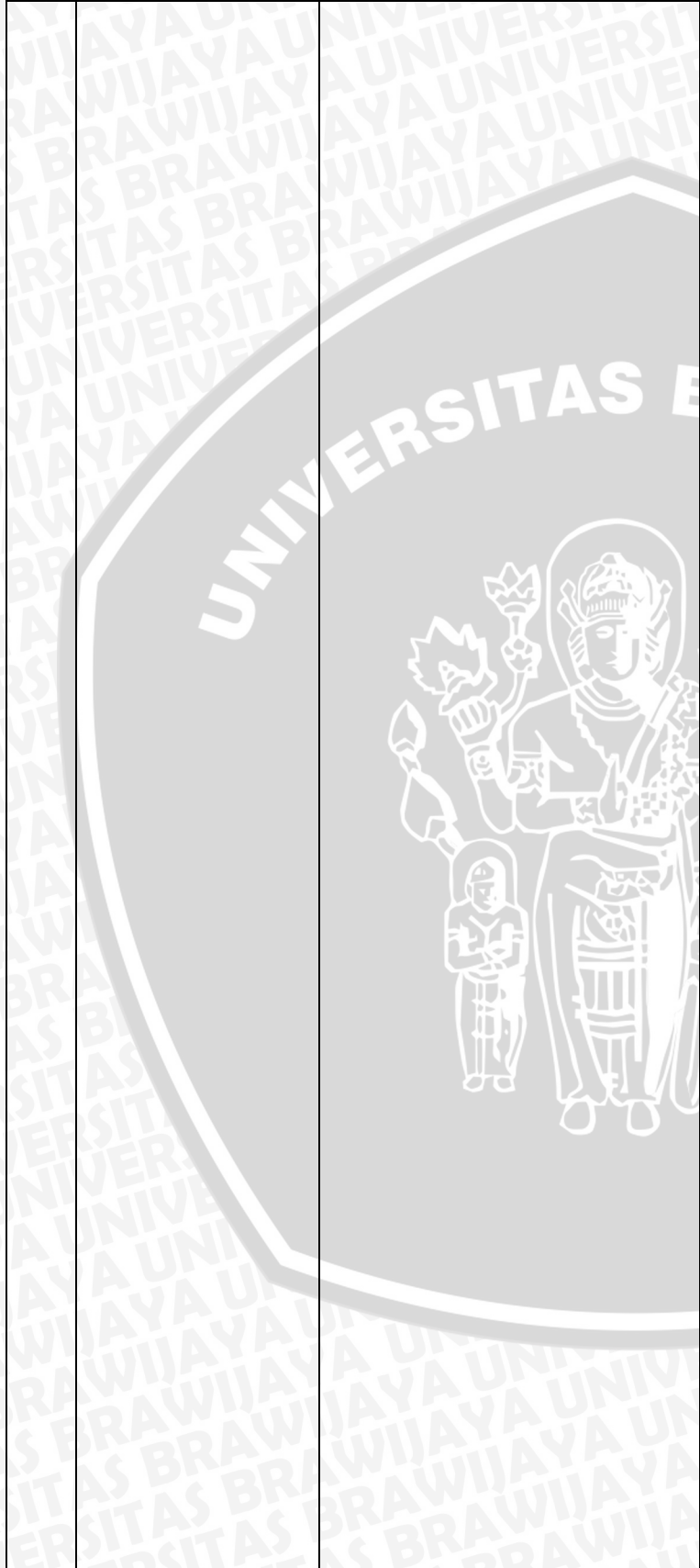




		Tahap Destaining	 <p><b>Gambar: Metode Staining</b></p> <p>Prosedur :</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Pewarna pada gel dihilangkan dalam rendaman destain solution</li> <li>2. gel siap discan dan dianalisa hasilnya</li> </ol>
22.	Senin, 18 April 2012	Melihat hasil elektroforesis	<p>Hasil dari tahap elektroforesis kemarin mendapatkan pita protein dengan berat molekul 70kDa</p>  <p><b>Gambar: Pita Protein dengan berat molekul 70kDa (slgA)</b></p>
23.	Rabu, 20 April 2012	Tahap elektroelusi dan Dialisa antibodi slgA	<p>Alat : memotong pita (cawan petri), Elektroelusi (sumber listrik : 120V), Dialisa (Eppendorf dan Sentrifuge)</p> <p>Bahan : Preparasi selofan (<math>\text{Na}_2\text{CO}_3</math> 5%, EDTA pH 8, Aquadest, Running buffer), Elektroelusi (Running Buffer), Dialisa (Aquadest steril / PBS steril dingin, Etanol absolute dingin, TRIS Cl 0,5 M pH 8.</p>




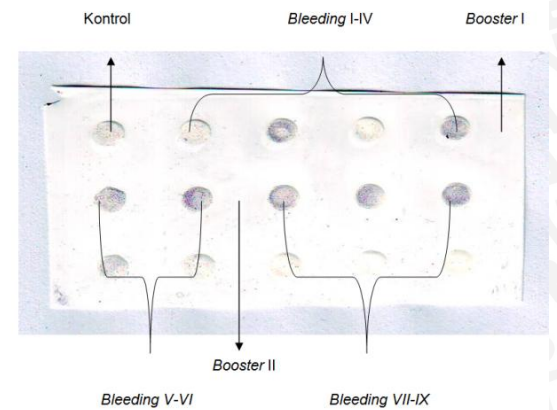
			  <p><b>Gambar: Pita slgA + selovan + buffer fosfat diputar selama semalam dalam suhu 4°C</b></p>
<p>24.</p>	<p>Selasa, 26 Agustus 2012</p>	<p>Metode pembuatan anti-antibodi slgA dengan metode poliklonal</p> <p>Imunisasi antibodi slgA dan CFA ke kelinci</p>	<p>Prosedur : Alat : tabung sentrifuge, botol serum, spuit. Bahan : Kelinci strain lokal, telinga panjang, jantan, BB 3,5-4 kg, sampel stok antibodi IgA, CFA, IFA</p> <p>Prosedur perlakuan : 1. Sampel stok antibodi slgA ditambahkan CFA sebanyak 200 cc</p> 




			<p>2. Setelah itu divortex selama 1 jam sampai berwarna putih susu kental.</p>  <p>3. Antibodi sIgA + CFA yang telah divortex dipindahkan ke sput lalu mempersiapkan kelinci untuk dilakukan imunisasi. 4. Imunisasi ke kelinci secara intraperitoneum di 4 lokasi (dilakukan di lab biomedik)</p> 
25.	Rabu, 27 Agustus 2012	Konfirmasi ke lab MIPA UB mengenai pembuatan dipstick	Operator dari Lab MIPA UB (a.n. mbak Ranti) menyetujui pembuatan dipstick dilakukan di Lab. MIPA.
26.	Kamis, 28 Agustus 2012	Bleeding 1  Sentrifugasi	Mengambil darah pada vena telinga kelinci dengan spuit 3cc. Kemudian darah dimasukkan ke dalam tabung eppendorf lalu dimiringkan selama 3 jam. Setelah 3 jam, darah dalam eppendorf dimiringkan, kemudian serum dari darah diambil dan disimpan pada suhu -40°C



<p>27.</p>	<p>Senin, 5 September 2012</p>	<p>Bleeding 2</p> <p>Sentrifugasi</p>	<p>Mengambil darah pada vena telinga kelinci dengan spuit 3cc. Kemudian darah dimasukkan ke dalam tabung eppendorf lalu dimiringkan selama 3 jam. Setelah 3 jam, darah dalam eppendorf dimiringkan, kemudian serum dari darah diambil dan disimpan pada suhu -40°C</p>
<p>28.</p>	<p>Senin, 12 September 2012</p>	<p>Bleeding 3</p> <p>Sentrifugasi</p>	<p>Mengambil darah pada vena telinga kelinci dengan spuit 3cc. Kemudian darah dimasukkan ke dalam tabung eppendorf lalu dimiringkan selama 3 jam. Setelah 3 jam, darah dalam eppendorf dimiringkan, kemudian serum dari darah diambil dan disimpan pada suhu -40°C</p>  
<p>29.</p>	<p>Jumat, 13 Mei 2012</p>	<p>Mengerjakan Metode Uji Spesifitas Anti-Antibodi dengan Teknik Dot Blot.</p>	<p>Metode Dot Blot :</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Membran NC dipotong-potong dengan ukuran 5x7 cm<sup>2</sup>.</li> <li>2. Masukkan dalam alat Dot Blot.</li> <li>3. Basahi dengan 50 µL Tris Buffer Saline (TBS) per sumur lalu dilakukan degas.</li> <li>4. Membran NC diinkubasi dengan larutan penghambat (blocking) TBS skim</li> </ol>

			<p>5% selama 1 jam.</p> <p>5. Bilas membran NC dengan TBS-T 0,05 % sebanyak 3x3 menit.</p> <p>6. Tambahkan antibodi sekunder (Alkaline phosphatase – conjugated antibody 1:200 dalm TBS) selama 60 menit pada suhu ruang sambil di shacker.</p> <p>7. Bilas dengan TBS-T 0,05% sebanyak 3x3 menit.</p> <p>8. Beri substrat untuk pewarnaan (reaksi enzimatik), tambahkan Western Blue Substrate Solution selama 10-30 menit pada ruangan gelap.</p> <p>9. Reaksi dihentikan dengan dibilas aquadest apabila terjadi perubahan warna ungu muda sampai ungu tua pada bekas tetesan.</p> <p>10. warna ungu menunjukkan reaksi (+), bila tidak terjadi perubahan warna pada bekas tetesan, reaksi dianggap (-).</p>
<p>30.</p>	<p>Sabtu, 14 Mei 2012</p>	<p>Metode pelabelan anti-antibodi slgA dengan AP (<i>Alkaline Phosphatase</i>)</p>	<p>Alat : Tabung untuk larutan kit, spuit, inkubator</p> <p>Bahan : Anti-antibodi slgA, Alkaline Phosphatase (AP), Glutaraldehyd 5%. Substrat kromogen DAB untuk alkaline fosfatase (AP), Bahan pelapis stick.</p> <p>Prosedur :</p> <p>1. Poliklonal Anti-slgA sebanyak 50 <math>\mu</math>L dalam PBS 450 <math>\mu</math>L ditambahkan dengan 1,5 mg <i>Alkaline Phosphatase</i></p>



			 <p>2. Tambahkan glutaraldehid 5% sampai konsentrasi akhir 0,2% sambil di vorteks.</p>  <p>3. Inkubasi selama 2 jam pada suhu ruang. 4. Lakukan dialisis dalam TBS pH 8,9 yang mengandung 1 mM <math>MgCl_2</math> pada suhu 4°C selama semalam.</p>
<p>31.</p>	<p>Senin, 16 Mei 2012</p>	<p>Pembuatan Kit Dipstick</p>	<p>Alat : Spuit, Kertas VPDF yang bersifat <i>high capacity</i>. Bahan : Anti-antibodi sIgA yang sudah berlabl AP, Bahan pelapis stick. Prosedur : 1. Teteskan pada ujung dipstick kertas VPDF</p>



			 <p>2. Keringkan pada suhu ruang. 3. Simpan tertutup pada plastik untuk mencegah oksidasi dan kontaminasi.</p>  <p><b>Gambar. Kit Dipstick</b></p>
<p>32.</p>	<p>Senin, 16 Mei 2012 – Jumat, 27 Mei 2012</p>	<p>Pengujian Kit Dipstick pada pasien anak dengan DBD</p>	<p>Alat : Cawan Petri, Dipstick. Bahan : Sampel saliva anak penderita Demam Berdarah Dengue, substrat kromogen DAB, Antibodi yang berlabel enzim Alkaline Fosfatase (AP) Prosedur : 1. Tampung saliva anak pada cawan petri. 2. Masukkan dipstick pada cawan petri berisi saliva, tunggu selama 5 menit 3. Pindahkan dipstick pada tabung kedua yang berisi antibodi konjugat berlabel enzim AP. 4. Pindahkan dipstick pada cawan petri yang berisi substrat kromogen DAB, kemudian lihat warna yang tampak.</p>

No	Nama	Keluhan	Trombosit Count	MRS hari ke-	IgM Anti Dengue
1.	An. A	Pusing, Muntah, Mual, Panas Badan	40.000	4	(+)
2.	An. Zul	Pusing, Muntah, Panas Badan	70.000	2	(+)
3.	An. Lili	Pusing, Muntah, Panas Badan	80.000	2	(+)
4.	An. Deni W.	Pusing, Muntah, Mual, Panas Badan	42.000	3	(+)
5.	An. Winda	Panas Badan	100.000	4	(+)
6.	An. Aldi	Muntah, Mual, Panas Badan	68.000	4	(+)
7.	An. Rheissa	Pusing, Muntah, Mual, Panas Badan	80.000	5	(+)
8.	An. Dilla	Pusing, Panas Badan	120.000	6	(+)
9.	An. Benny	Pusing, Muntah, Mual, Panas Badan	75.000	5	(+)
10	An. Sisi	Pusing, Muntah, Mual, Panas Badan	70.000	4	(+)



**KETERANGAN :**

Hasil Pengujian Kit Dipstik : 10 sampel yang diujikan, menunjukkan hasil positif Demam Berdarah Dengue pada kit dipstick, dengan perubahanwarna yang terjadi (ungu). Interpretasi hasil diagnostik adalah dari perubahan warna yang terjadi (ungu) yang menunjukkan positif Demam Berdarah Dengue, bukan dari gradasi warna.



PKM - P

# Kit Dipstick Diagnostik

Reaksi Anti-antibodi secretory IgA dan antibodi secretory IgA pada Saliva Anak Penderita Demam Berdarah Dengue (DBD) Suatu Terobosan Untuk Menegakkan Diagnosis DBD Kriteria WHO 2009 pada Anak

Oleh: Daniel Alexander Suseno, Karina Camelia, Ni Made Ayu, Elvira Budianto, I Putu Juniarta Pembimbing: Dr. dr. I Ketut Mulliartha, Sp.PA

## Latar Belakang

- 50 juta manusia terinfeksi virus dengue, dan 2,5 milyar manusia di dunia hidup di negara endemis infeksi dengue (WHO, 2009).
- Di Indonesia, 90% kasus DBD menyerang anak dengan usia < 15 tahun.
- Kelemahan metode diagnostik yang telah ada: reaksi silang, biaya mahal, dan invasi sehingga sulit dilakukan pada pasien anak.
- Kit Dipstick Diagnosis DBD merupakan sarana deteksi DBD yang tidak invasif untuk mendeteksi DBD pada anak.

## Rumusan Masalah

- Apakah sIgA hasil isolasi dari saliva anak penderita DBD bersifat imunogenik yaitu mampu menginduksi anti-sIgA pada serum darah kelinci?
- Bagaimana sensitivitas anti-sIgA yang berlabel AP (Alkali Phosphatase) dalam mendeteksi sIgA saliva penderita DBD?

## Tujuan Penelitian

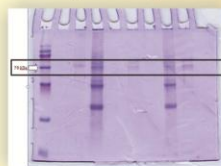
- Mengetahui bahwa sIgA hasil isolasi dari saliva anak penderita DBD bersifat imunogenik yaitu mampu menginduksi anti-sIgA pada serum darah kelinci.
- Mengetahui sensitivitas anti-sIgA yang berlabel AP (Alkali Phosphatase) dalam mendeteksi sIgA saliva penderita DBD.

## Metode Penelitian



## Hasil Penelitian

### Isolasi protein sIgA dan Pembuatan Antibodi Poliklonal



Dari hasil elektroforesis didapatkan pita protein sIgA dengan berat molekul 70 kDa.



Didapatkan anti - antibodi sIgA dari hasil pembuatan antibodi poliklonal sIgA.

### Desain Kit Dipstick Diagnostik DBD



### Pengujian Kit Dipstick Diagnostik DBD

NO.	NAMA	KELUHAN	TROMBOSIT COUNT	MRS HARI KE	IGM ANTI DENGUE
1.	An. A	Pusing, Muntah, Mual, Panas Badan	40.000	4	(+)
2.	An. Zul	Pusing, Muntah, Panas Badan	70.000	2	(+)
3.	An. Lili	Pusing, Muntah, Panas Badan	80.000	2	(+)
4.	An. Deni W.	Pusing, Muntah, Mual, Panas Badan	42.000	3	(+)
5.	An. Winda	Panas Badan	100.000	4	(+)
6.	An. Aldi	Muntah, Mual, Panas Badan	68.000	4	(+)
7.	An. Rheissa	Pusing, Muntah, Mual, Panas Badan	80.000	5	(+)
8.	An. Dilla	Pusing, Panas Badan	120.000	6	(+)
9.	An. Benny	Pusing, Muntah, Mual, Panas Badan	75.000	5	(+)
10.	An. Sisi	Pusing, Muntah, Mual, Panas Badan	70.000	4	(+)



Terdapat kesesuaian antara hasil kit dipstick DBD (warna dipstick menunjukkan ungu [positif]) dengan hasil laboratorium dan ringkasan data rekam medis pada pasien yang diuji. Kesesuaian ini menandakan sensitivitas kit dipstick telah cukup baik dan dapat diproduksi lebih lanjut untuk dijadikan alat deteksi DBD yang murah, mudah, serta tidak invasif.

## Kesimpulan

- sIgA hasil isolasi dari saliva anak penderita DBD bersifat imunogenik yaitu mampu menginduksi anti-sIgA pada serum darah kelinci.
- Anti-sIgA yang berlabel AP (Alkali Phosphatase) sensitif dalam mendeteksi sIgA saliva penderita DBD sehingga dapat menjadi terobosan mutakhir dalam deteksi dini DBD melalui saliva.



Dipresentasikan Dalam PIMNAS XXV - UMY Yogyakarta

