

**KIT DIPSTICK DIAGNOSTIK REAKSI ANTI-ANTIBODI SECRETORY
IgA DAN ANTIBODI SECRETORY IgA (sIgA) PADA SALIVA ANAK
PENDERITA DEMAM BERDARAH DENGUE, SUATU TEROBOSAN
MUTAKHIR UNTUK MENEGAKKAN DIAGNOSIS DBD
KRITERIA WHO 2009 PADA ANAK**

TUGAS AKHIR

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran Gigi**



Oleh:

Karina Camelia Susilo

105070401111020

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER GIGI
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2013**

DAFTAR ISI

	Halaman
Judul.....	i
Surat Keputusan.....	ii
Sertifikat.....	iii
Halaman Pengesahan.....	iv
Kata Pengantar.....	v
Abstrak.....	vii
Abstrack.....	viii
Daftar Isi.....	ix
Daftar Gambar.....	xiii
Dafar Tabel.....	xv
BAB I PENDAHULUAN	
1.1. Latar Belakang Masalah.....	1
1.2. Rumusan masalah.....	3
1.3. Tujuan.....	3
1.4. Luaran yang Diharapkan.....	4
1.5. Manfaat Penelitian.....	4
1.5.1. Manfaat Akademis.....	4
1.5.2. Manfaat Klinis.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Demam Berdarah Dengue.....	5
2.1.1. Definisi Demam Berdarah Dengue.....	5
2.1.2. Epidemiologi Demam Berdarah Dengue.....	6
2.1.3. Agen Penyebab Demam Berdarah Dengue.....	8
2.1.4. Vektor Demam Berdarah Dengue.....	9
2.1.5. Patogenesis Demam Berdarah Dengue.....	10
2.1.6. Gejala Demam Berdarah Dengue.....	13
2.1.7. Diagnosis Demam Berdarah Dengue.....	15
2.1.7.1. Kriteria Klinis.....	15



2.1.7.1.	Kriteria Laboratorium.....	15
2.2	Saliva.....	16
2.3	Imunoglobulin A.....	17
2.3.1.	Produksi Imunoglobulin A pada saliva.....	19
2.3.2	Produksi Antibodi Poliklonal Anti-Immunoglobulin A pada Kelinci yang Diimunisasi <i>Secretary Immunoglobulin A (slgA)</i>	19
 BAB III KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN		
3.1	Kerangka Konsep.....	22
3.2	Hipotesis Penelitian.....	23
 BAB IV Metode Penelitian		
4.1	Desain Penelitian.....	24
4.2	Rancangan Penelitian.....	25
4.3	Tempat Penelitian.....	28
4.4	Variabel Penelitian.....	28
4.5	Definisi Operasional.....	29
4.6	Bahan dan Alat Penelitian.....	29
4.6.1.	Alat dan Bahan Pengambilan Sampel Saliva.....	29
4.6.2.	Alat dan Bahan Isolasi Protein Saliva.....	30
4.6.3.	Alat dan Bahan SDS Page.....	30
4.6.4.	Alat dan Bahan Elektroelusi dan Dialisa Antibodi IgA.....	33
4.6.5.	Alat dan Bahan Pembuatan anti-antibodi slgA Poliklonal.....	34
4.6.6.	Alat dan Bahan Purifikasi Anti-Antibodi-slgA.....	34
4.6.7.	Alat dan Bahan Uji Spesifisitas Antibodi dengan <i>Dot Blot</i>	35
4.7	Prosedur Penelitian.....	35
4.7.1.	Persiapan Pengambilan dan Metode Pengambilan Saliva.....	35
4.7.2.	Metode Isolasi slgA dari Saliva.....	38
4.7.3.	Metode SDS Page.....	39
4.7.4.	Metode Elektroelusi dan Dialisa.....	40

4.7.5. Metode Pembuatan anti-antibodi sIgA Poliklonal.....	42
4.7.6. Metode Purifikasi Anti-Antibodi sIgA	43
4.7.7. Metode Uji Spesifisitas Antibodi dengan <i>Dot Blot</i>	44
4.7.8. Metode Pelabelan Anti-antibodi sIgA dengan AP (<i>Alkaine Phosphatase</i>).....	45
4.7.9. Metode Pembuatan Kit Dipstick.....	45
4.7.10. Pengambilan Sampel Saliva.....	45
4.7.11. Metode Penggunaan Kit Dipstick.....	46
4.8. Prosedur Pengumpulan Data dan Analisis Data.....	47
4.8.1. Pengumpulan Data.....	47
4.8.2. Analisis Data.....	47

BAB V HASIL PENELITIAN

5.1 Pengambilan Sampel Saliva di Ruang Anak RS dr Saiful Anwar, Malang.....	48
5.2 Isolasi Protein sIgA dari Saliva Anak Penderita Demam Berdarah Dengue.....	48
5.3 Persiapan Gel dan Persiapan Sampel SDS Page.....	49
5.4 Tahap Elektroforesis SDS Page.....	49
5.5 Hasil Elektroforesis Sampel Saliva.....	50
5.6 Tahap Elektroelusi dan Diaslisa antibodi sIgA.....	50
5.7 Metode Pembuatan anti-antibodi sIgA dengan Metode Poliklonal.....	51
5.7.1. Imunisasi Antibodi sIgA dan CFA pada Kelinci.....	51
5.7.2. Metode <i>Bleeding</i> Kelinci.....	52
5.7.3. Metode <i>Booster</i> Kelinci.....	53
5.8 Tahap Uji Spesifisitas dan Sensitivitas dengan Metode DotBlot.....	54
5.9 Tahap Pembuatan Kit Dipstick.....	55
5.9.1. Pelabelan Anti-sIgA dengan AP.....	55
5.9.2. Pelekatan pada kertas VPDF.....	55
5.9.3. Penggunaan Kit Dipstick DBD.....	56
5.10 Tahap Pengujian Kit Dipstick DBD.....	56

BAB VI PEMBAHASAN

6.1	Pembuatan Anti-antibodi slgA Hasil Poliklonal dari Antibodi slgA pada Pasien Anak Demam Berdarah Dengue.....	58
6.2	Anti-antibodi slgA Hasil Poliklonal dari slgA Saliva Pasien Anak Demam Berdarah Dengue dapat Digunakan untuk Mendeteksi Demam Berdarah Dengue.....	63
6.3	Pembuatan Kit Dipstick Diagnostik Reaksi Anti-antibodi slgA dan antibodi slgA pada Saliva Anak Penderita Demam Berdarah Dengue untuk Menegakkan Diagnosis Demam Berdarah Dengue pada Anak.....	65

BAB VII KESIMPULAN DAN SARAN

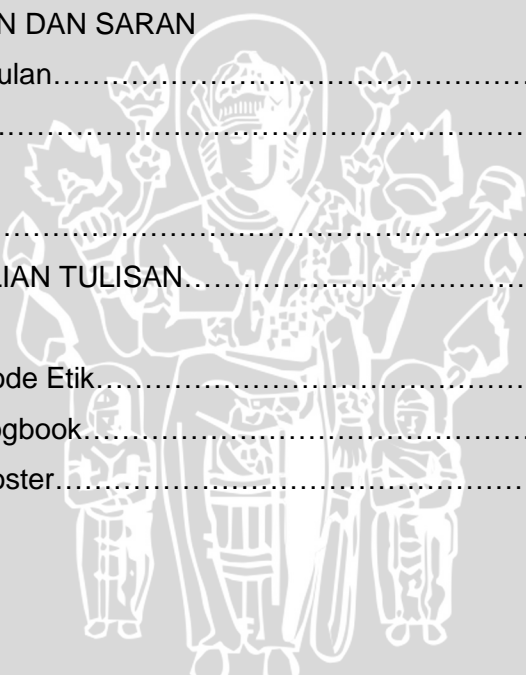
7.1	Kesimpulan.....	69
7.2	Saran.....	69

DAFTAR PUSTAKA.....	70
---------------------	----

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN.....	73
----------------------------------	----

LAMPIRAN

Lampiran 1 Kode Etik.....	74
Lampiran 2 Logbook.....	84
Lampiran 3 Poster.....	100



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Distribusi Demam Berdarah Dengue Menurut Tempat.....	7
Gambar 2.2 Jumlah Penderita Infeksi Dengue dari Tahun ke Tahun di Seluruh Dunia, 1995-2007.....	7
Gambar 2.3 Virus Dengue.....	9
Gambar 2.4 Nyamuk <i>Aedes aegypti</i> betina.....	10
Gambar 2.5 Masuknya Virus Dengue dalam Tubuh Manusia Melalui Vektor Nyamuk <i>Ae Aegypti</i>	11
Gambar 2.6 Selang Waktu Gigitan Nyamuk dan Masuk Rumah Sakit.....	11
Gambar 2.7 Perubahan yang Terjadi Pada Infeksi Virus Dengue.....	13
Gambar 2.8 Tanda dan Gejala Infeksi Virus Dengue.....	14
Gambar 2.9 Perubahan yang Terjadi Pada Uji Serologis Infeksi Dengue..	16
Gambar 2.10 Topografi Kelenjar Saliva.....	17
Gambar 2.11 Struktur <i>Immunoglobulin A</i>	18
Gambar 2.12 Sekresi IgA pada Ekstra Vaskular.....	19
Gambar 2.13 Mekanisme Pembentukan Antibodi.....	20
Gambar 2.14 Ilustrasi Pembentukan Antibodi Poliklonal.....	21
Gambar 5.1 Peneliti Mengambil Sampel Saliva Anak Penderita Demam Berdarah Dengue.....	48
Gambar 5.2 Kristal yang Merupakan Presipitat sIgA Saliva.....	48
Gambar 5.3 Peneliti Dibantu Analis Laboratorium sedang Mempersiapkan Gel dan persiapan Sampel SDS PAGE.....	49
Gambar 5.4 Peneliti Dibantu Analis Laboratorium Melaksanakan SDS PAGE.....	49
Gambar 5.5 Hasil Elektroforesis Sampel Saliva.....	50
Gambar 5.6 Peneliti Melakukan Pemotongan Pita sIgA.....	50
Gambar 5.7 Pita sIgA Dimasukkan Dalam Selovan.....	51
Gambar 5.8 Pita sIgA + selovan + buffer fosfat diputar selama semalam dalam suhu 4°C.....	51
Gambar 5.9 Sampel stok antibodi sIgA ditambahkan CFA sebanyak 200c	51
Gambar 5.10 Setelah itu divortex selama 1 jam.....	51



Gambar 5.11	Imunisasi Kelinci Secara Intraperitoneum di 4 Lokasi.....	52
Gambar 5.12	Peneliti Mengambil Darah Kelinci melalui Vena Telinga Kelinci.....	52
Gambar 5.13	Darah Kelinci Diambil Serumnya untuk Dimurnikan.....	53
Gambar 5.14	Hasil Uji Dotblot dan Keterangan.....	54
Gambar 5.15	Anti-antibodi sIgA ditambahkan 1,5 mg <i>Alkaline Phosphatase</i> ..	55
Gambar 5.16	Tambahkan glutaraldehid 1,5% - 0,2%.....	55
Gambar 5.17	Hasil Kit Dipstick setelah ditetesi Anti-antibodi sIgA yang berlabel AP.....	55
Gambar 5.18	Aturan Penggunaan Kit Dipstick DBD.....	56
Gambar 5.19	Data Rekam Medis, Hasil Uji Trombosit, hasil uji IgM Anti Dengue, dan Hasil uji Kit Dipstick pada 10 pasien anak penderita DBD.....	56
Gambar 6.1	Hasil Presipitat sIgA Saliva.....	59
Gambar 6.2	Struktur Protein setelah Penambahan SDS-PAGE.....	60
Gambar 6.3	Diagram Konsep SDS-PAGE.....	61
Gambar 6.4	Hasil Uji Dotblot dan Keterangan.....	63
Gambar 6.5	Pembuatan Kit Dipstick Diagnostik Demam Berdarah Dengue.....	63
Gambar 6.6	Aturan Penggunaan Kit Dipstick diagnostik DBD.....	67
Gambar 6.7	Data Rekam Medis, Hasil Uji Trombosit, hasil uji IgM Anti Dengue, dan Hasil uji Kit Dipstick pada 10 pasien anak penderita DBD.....	67

DAFTAR TABEL

Halaman

Tabel 6.1	Pembacaan Hasil dot blotting.....	64
-----------	-----------------------------------	----

