

ANALISIS HASIL PEMERIKSAAN IgG DAN IgM PADA PENDERITA *DENGUE HEMORRHAGIC FEVER* (DHF) METODE *ENZYME-LINKED FLUORESCENT ASSAY* (ELFA) DENGAN *ENZYME-LINKED IMMUNOSORBENT ASSAY* (ELISA)

Analysis of IgG and IgM Examination Results in Patients with Dengue Hemorrhagic Fever (DHF) Method of Enzyme-Linked Fluorescent Assay (ELFA) with Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)

Nia Musfirani^{1*}, Nina Marlina¹, Rohayati¹, Yogi Khoirul Abror¹

^{1*} Jurusan TLM, Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Bandung

Email: maningnong87@gmail.com

ABSTRACT

Dengue Hemorrhagic Fever (DHF) is an infectious disease caused by the dengue virus. In making a diagnosis, one way is to carry out a serological test for DHF. This serological test is to identify the presence of viral IgG or IgM virus in the body. Specific DHF IgG and IgM tests are useful in diagnosing dengue virus infection. The gold standard for serological tests uses the Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA). As technology develops and various research has been developed, DHF IgG and IgM examination can be used using the Enzyme Linked Fluorescent Assay (ELFA) method. The aim of this study was to determine whether there were differences in IgG and IgM levels in DHF sufferers using the ELFA and ELISA methods. This type of research is quasi experimental by comparing the results of DHF IgG and IgM examinations using the ELFA method with ELISA. This study used samples from patients suspected of having DHF who underwent DHF IgG and IgM examinations. The data from this research were processed using graphs for DHF IgG and IgM then for DHF IgM followed by the Wilcoxon Signed Rank Test. Research results seen from the graph showed no differences in DHF IgG and IgM levels using the ELFA and ELISA methods. And the statistical test result for DHF IgM obtained a significance value of Asymp Sig > 0,005, so it can be concluded that there is no difference in Dengue IgG and IgM levels using the ELFA and ELISA methods.

Keywords : *IgG Dengue, IgM Dengue, Enzyme Linked Fluorescent Assay (ELFA), Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA)*

ABSTRAK

Dengue Hemorrhagic Fever (DHF) adalah penyakit infeksi yang disebabkan oleh virus dengue. Dalam melakukan diagnosis salah satunya dengan melakukan uji serologi untuk DHF. Tes serologi ini untuk mengidentifikasi adanya IgG atau IgM virus dengue di dalam tubuh. Pemeriksaan DHF IgG dan IgM yang spesifik berguna dalam diagnosis infeksi virus dengue. Gold standar untuk tes serologi menggunakan metode Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA). Semakin berkembangnya teknologi dan berbagai penelitian telah dikembangkan, pemeriksaan DHF IgG dan IgM dapat digunakan dengan metode Enzyme Linked Fluorescent Assay (ELFA). Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui ada atau tidak perbedaan kadar IgG dan IgM pada penderita DHF menggunakan metode ELFA dan ELISA. Jenis penelitian ini adalah quasi eksperimen dengan membandingkan hasil pemeriksaan DHF IgG dan IgM menggunakan metode ELFA dengan ELISA. Dalam penelitian ini menggunakan sampel

pasien tersangka DHF yang melakukan pemeriksaan DHF IgG dan IgM. Data hasil penelitian ini diolah menggunakan grafik untuk DHF IgG dan IgM kemudian untuk DHF IgM dilanjutkan dengan Uji *Wilcoxon Signed Rank*. Hasil Penelitian dilihat dari grafik tidak terdapat perbedaan kadar DHF IgG dan IgM menggunakan metode ELFA dan ELISA. Berdasarkan hasil uji statistik untuk DHF IgM diperoleh nilai signifikansi *Asymp Sig* > 0,05 maka dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan kadar DHF IgG dan IgM menggunakan metode ELFA dan ELISA.

Kata Kunci: IgG *Dengue*, IgM *Dengue*, *Enzym Linked Fluorescent Assay* (ELFA), *Enzym Linked Immunosorbent Assay* (ELISA)

PENDAHULUAN

Virus dengue merupakan agen infeksi penyebab demam berdarah dengue (DBD) / *Dengue Hemorrhagic Fever* (DHF). Virus dengue masuk ke dalam tubuh manusia melalui gigitan nyamuk *Aedes aegypti* dan *Aedes albopictus*. Gejala klinik virus ini meliputi demam, nyeri otot (myalgia) dan / atau nyeri sendi (arthralgia) yang disertai leukopenia, ruam (maculopapular skin rash), limfadenopati, trombositopenia dan diatesis hemoragik.¹

Menurut *World Health Organization* (WHO), terdapat 4,2 juta kasus demam berdarah yang dilaporkan pada tahun 2019, jumlah tersebut meningkat lebih dari 8 kali lipat dibandingkan empat tahun sebelumnya dari 505.000 kasus.²

Terdapat 919 kematian dan 138.127 kasus demam berdarah di Indonesia pada tahun 2019, menjadikannya daerah endemis. Di Indonesia, terdapat 475 kota dan kabupaten dengan 103.509 pasien DBD terdaftar pada tahun 2020; 725 di antaranya meninggal dunia.³

Perubahan iklim dan kurangnya pengetahuan masyarakat akan pentingnya menjaga kebersihan lingkungan menjadi penyebab hal tersebut. Karena habitat utama nyamuk hampir seluruhnya merupakan buatan manusia, mulai dari ban bekas, kaleng hingga bak mandi, kepadatan populasi juga berkontribusi terhadap tingginya frekuensi kasus DBD. Untuk menurunkan angka kematian dan

kesakitan masyarakat, perlu adanya peningkatan kesadaran terhadap penyakit DBD dan penanganan yang tepat mengingat banyaknya kasus yang terjadi.⁴

Strategi nasional penanganan DHF tahun 2021 – 2025 dengan target utamanya menurunkan *Incidence Rate* menjadi <49 per 100.000 penduduk pada 90% kabupaten / kota dan menurunkan angka kematian DHF menjadi 0,5%. Target ini akan dicapai dengan penguatan Sistem Laboratorium dan penguatan Reporting dan *Real Time Surveillance*.⁵

Penatalaksanaan DHF diperlukan diagnosis. Dalam melakukan diagnosis salah satunya dengan melakukan uji serologi untuk DHF. Tes serologi ini untuk mengidentifikasi adanya IgG atau IgM virus di dalam tubuh. Pengujian antibodi IgG dan IgM tertentu dapat membantu mendiagnosis infeksi virus dengue. Ada kemungkinan hasil negatif muncul karena tes dilakukan saat virus pertama kali terdeteksi. IgG dapat dideteksi dalam jangka waktu yang cukup lama setelah infeksi, namun IgM akan menjadi tidak terdeteksi pada 30 hingga 90 hari setelah infeksi. Jika terdapat gejala tambahan yang mengindikasikan demam berdarah, tes IgM positif dapat berguna dalam proses diagnosis. Infeksi dengue primer dan sekunder dapat dibedakan dengan menggunakan tes IgG dan IgM.⁶

Gold standar untuk tes serologi menggunakan metode *Enzyme Linked Immunosorbent Assay* (ELISA). Tetapi

metode ELISA memerlukan waktu yang cukup lama dan harga yang cukup tinggi. Semakin berkembangnya teknologi dan berbagai penelitian telah dikembangkan, pemeriksaan IgG dan IgM Dengue dapat digunakan dengan metode *Enzyme Linked Fluorescent Assay* (ELFA). Kedua metode ini bagus digunakan untuk pemeriksaan IgG dan IgM Dengue. Namun dari segi waktu, metode ELFA lebih cepat pengerjaannya dibandingkan metode ELISA. Sehingga dapat mengurangi *Turn Around Time* (TAT) di laboratorium.⁷

Berdasarkan latar belakang diatas maka peneliti melakukan penelitian berjudul "Analisis Hasil Pemeriksaan IgG dan IgM pada penderita *Dengue Hemorrhagic Fever* (DHF) metode *Enzyme Linked Fluorescent Assay* (ELFA) dengan *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA)".

METODE

Jenis penelitian yang digunakan adalah quasi eksperimen dengan membandingkan hasil pemeriksaan DHF IgG dan IgM menggunakan metode ELFA dengan metode ELISA. Desain penelitian yang digunakan yaitu perbandingan hasil kelompok statis (*Static Group Comparison*).

Sampel yang digunakan pada penelitian ini sebanyak 30 sampel. Teknik sampling yang digunakan yaitu *quota sampling* dimana pasien tersangka DHF yang melakukan pemeriksaan IgG dan IgM *Dengue* dengan kriteria demam pada hari ke 5-7, diambil sebagai sampel penelitian sampai kuota terpenuhi. Tempat penelitian dilakukan di Laboratorium Medis Pramita Martadinata Bandung.

Jenis data yang digunakan merupakan data primer, data primer yang diperoleh kemudian diolah secara statistik menggunakan Uji *Wilcoxon Signed Rank* untuk melihat adanya perbandingan kadar IgG dan IgM

menggunakan metode ELFA dan ELISA sebanyak 30 orang.

Tahapan penelitian ini terdiri atas pengambilan darah, pembuatan serum, pemeriksaan DHF IgG metode ELISA, pemeriksaan DHF IgM metode ELISA, pemeriksaan DHF IgG metode ELFA, dan pemeriksaan Anti-DHF IgM metode ELFA.

Penelitian ini telah mendapatkan persetujuan etik dengan No.63/KEPK/EC/XII/2023 dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Bandung.

HASIL

Telah dilakukan penelitian mengenai pemeriksaan IgG dan IgM pada penderita *Dengue Hemorrhagic Fever* (DHF) metode ELFA dengan ELISA di Laboratorium Medis Pramita

	Negatif	Positif
DHF IgG	0	30
DHF IgM	20	10

Martadinata Bandung pada bulan September sampai November 2023 dengan jumlah sebanyak 30 sampel menggunakan sampel darah pasien yang melakukan pemeriksaan DHF IgG dan IgM.

Tabel 1. Jumlah Sampel Penelitian

Berikut di bawah ini adalah data hasil pemeriksaan DHF IgG metode ELFA dan ELISA yang dicantumkan pada tabel 2 dan hasil pemeriksaan DHF IgM metode ELFA dan ELISA yang dicantumkan pada tabel 3.

Berdasarkan tabel 2 hasil pemeriksaan DHF IgG metode ELFA dikatakan negatif bila kadar ≤ 1 S/CO dan positif bila kadar > 1 S/CO. Sedangkan untuk metode ELISA hasil negatif apabila kadar < 9 units, *Equivocal* kadar 9 – 11 units dan positif dengan kadar > 11 units.

Kadar rata-rata pemeriksaan DHF IgG pada metode ELFA relatif lebih tinggi dibandingkan dengan kadar rata-rata DHF IgG metode ELISA. Dimana kadar rata-rata DHF IgG metode ELFA 34,53 S/CO dan kadar rata-rata metode ELISA 34 units.

Berdasarkan tabel 3 hasil pemeriksaan DHF IgM untuk metode ELFA dan ELISA dikatakan negatif apabila kadar < 1 S/CO dan positif apabila kadar > 1 S/CO. Kadar rata-rata pemeriksaan DHF IgM pada metode ELFA relatif lebih tinggi dibandingkan dengan kadar rata-rata DHF IgM metode ELISA. Dimana kadar rata-rata DHF IgM metode ELFA 0,94 S/CO dan

kadar rata-rata metode ELISA 0,93 S/CO.

Data hasil penelitian yang didapat diolah secara uji statistik untuk mengetahui apakah ada perbedaan signifikan antara hasil IgG dan IgM pada penderita DHF metode ELFA dan ELISA. Uji statistik yang digunakan yaitu non-parametrik karena data tidak terdistribusi normal. Karena data untuk pengujian non-parametrik disajikan sebagai urutan atau peringkat, data tersebut juga lebih mudah untuk dihitung dan diinterpretasikan.

Tabel 2 Data Hasil Pemeriksaan DHF IgG Metode ELFA dan ELISA

No Spesimen	IgG			
	ELFA (S/CO)	Hasil	ELISA (Units)	Hasil
1	83.03	Positif	84.38	Positif
2	73.38	Positif	68.71	Positif
3	12.98	Positif	13.70	Positif
4	16.15	Positif	18.65	Positif
5	78.35	Positif	73.38	Positif
6	58.71	Positif	48.82	Positif
7	15.74	Positif	16.60	Positif
8	12.00	Positif	13.16	Positif
9	24.38	Positif	23.23	Positif
10	13.35	Positif	13.51	Positif
11	18.59	Positif	18.79	Positif
12	52.01	Positif	54.35	Positif
13	15.65	Positif	14.53	Positif
14	35.66	Positif	34.90	Positif
15	49.04	Positif	48.70	Positif
16	32.09	Positif	32.90	Positif
17	25.34	Positif	26.70	Positif
18	32.52	Positif	31.90	Positif
19	27.53	Positif	26.10	Positif
20	24.07	Positif	29.00	Positif
21	32.87	Positif	31.50	Positif
22	23.25	Positif	25.72	Positif

23	46.66	Positif	41.60	Positif
24	39.78	Positif	43.30	Positif
25	34.98	Positif	36.70	Positif
26	42.08	Positif	41.10	Positif
27	46.66	Positif	41.60	Positif
28	27.53	Positif	26.10	Positif
29	14.07	Positif	14.38	Positif
30	27.53	Positif	26.10	Positif
Rata-rata	34,53		34,00	

Tabel 3 Data Hasil Pemeriksaan DHF IgM Metode ELFA dan ELISA

No. Spesimen	IgM			
	ELFA (S/CO)	Hasil	ELISA (S/CO)	Hasil
1	1.18	Positif	1.17	Positif
2	0.61	Negatif	0.53	Negatif
3	1.10	Positif	1.04	Positif
4	1.23	Positif	1.19	Positif
5	0.08	Negatif	0.04	Negatif
6	0.55	Negatif	0.53	Negatif
7	0.31	Negatif	0.33	Negatif
8	0.51	Negatif	0.51	Negatif
9	1.32	Positif	1.34	Positif
10	0.10	Negatif	0.01	Negatif
11	0.02	Negatif	0.05	Negatif
12	0.04	Negatif	0.08	Negatif
13	1.80	Positif	1.76	Positif
14	1.53	Positif	1.45	Positif
15	0.03	Negatif	0.04	Negatif
16	0.65	Negatif	0.67	Negatif
17	0.26	Negatif	0.24	Negatif
18	0.29	Negatif	0.22	Negatif
19	0.39	Negatif	0.31	Negatif

20	0.51	Negatif	0.52	Negatif
21	0.37	Negatif	0.39	Negatif
22	0.53	Negatif	0.55	Negatif
23	0.06	Negatif	0.06	Negatif
24	0.53	Negatif	0.55	Negatif
25	1.17	Positif	1.20	Positif
26	0.28	Negatif	0.29	Negatif
27	0.30	Negatif	0.29	Negatif
28	1.83	Positif	1.80	Positif
29	5.43	Positif	5.35	Positif
30	5.28	Positif	5.24	Positif
Rata-rata	0,94		0,93	

PEMBAHASAN

Pada penelitian mengenai pemeriksaan IgG dan IgM pada penderita DHF metode ELFA dan ELISA setelah dilakukan uji statistik pertama dilakukan uji normalitas terlebih dahulu menggunakan *Shapiro Wilk*, didapatkan untuk DHF IgG ELFA nilai Signifikansi (p) 0,06 dan ELISA nilai signifikansi (p) 0,07. Nilai kedua signifikansi kedua metode ini $< 0,05$, sehingga data yang didapat tidak terdistribusi normal. Sedangkan untuk DHF IgM ELFA dan ELISA didapatkan hasil signifikansi (p) 0,000. Nilai keduanya $p < 0,05$, maka data yang didapat tidak terdistribusi normal.

Selanjutnya untuk DHF IgG tidak dapat dilakukan uji Wilcoxon karena perbedaan satuan. Satuan Metode ELFA adalah S/CO yang pembacaannya berdasarkan fluoresensi yang diukur pada panjang gelombang 450 nm. Intensitas warna yang dihasilkan sebanding dengan tingkat antibodi dalam sampel. Dan memiliki sensitivitas 98,13% dan spesifitas 90,34%.

Sedangkan satuan untuk metode ELISA adalah units. ELISA

menggunakan antibodi atau antigen yang digabungkan ke suatu enzim yang mudah diuji berdasarkan intensitas warna yang dihasilkan dan diukur pada Panjang gelombang 450 nm – 630 nm. Intensitas warna yang dihasilkan sebanding dengan jumlah antibodi dalam sampel. Dan memiliki sensitivitas 97,9% dan spesifitas 94,2%.

Dan tidak dapat dilakukan Uji Crosstab juga karena dilihat dari data yang didapat menunjukkan hasil positif semua dan tidak ada hasil yang negatif. Hasil yang positif tersebut semuanya konstan. Sehingga tidak terdapat perbedaan hasil diantara keduanya. Tetapi apabila dilihat dari data ELFA dan ELISA, hasil DHF IgG ELFA memiliki tren lebih tinggi dibandingkan ELISA dengan rata-rata DHF IgG ELFA 34,53 S/CO dan rata-rata DHF IgG ELISA 34,0 units, sehingga dapat dipastikan bahwa sensitifitas ELFA yang lebih tinggi dari ELISA.

DHF IgM dilihat dari data hasil DHF IgM ELFA memiliki tren lebih tinggi dibandingkan ELISA, sehingga dapat dipastikan bahwa sensitifitas ELFA yang lebih tinggi dari ELISA. Kemudian dilakukan uji *Wilcoxon* didapatkan nilai

signifikansi (p) yaitu 0,162. Nilai $p > 0,05$, maka dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan kadar IgM baik pada metode ELFA dan ELISA.

Berdasarkan hasil uji kedua metode dapat digunakan untuk pemeriksaan IgG dan IgM pada penderita DHF, karena tidak terdapat perbedaan yang signifikan. Adapun kelebihan dan kekurangan untuk metode ELISA waktu pengerjaannya 2- 4 jam relatif lebih lama dari ELFA dengan waktu pengerjaan 35 - 40 menit, metode ELFA sudah dikerjakan secara otomatis oleh alat sedangkan ELISA masih manual.

Faktor yang dapat mempengaruhi hasil dari pemeriksaan DHF IgG dan IgM yaitu dilihat dari lamanya demam hari ke 5 -7. Dari hasil pasien yang diperiksa ada yang demam pada hari ke 3 - 7. Sehingga unuk hasil IgM masih negatif apabila diperiksa pada hari ke-3. Virus ini mempunyai empat serotipe yang dikenal dengan DEN-1, DEN-2, DEN-3, dan DEN-4. Menurut penelitian Ni Nyoman (2019) infeksi sekunder yang disebabkan oleh serotipe virus yang berbeda dari sumber infeksi aslinya. Meskipun infeksi sekunder dapat menyebabkan gejala sisa yang lebih serius, infeksi primer hanya menyebabkan penyakit demam yang dapat sembuh dengan sendirinya. Kadar IgM pada infeksi awal terdeteksi 4-5 hari setelah timbulnya demam dan hilang 60-90 hari kemudian. IgG akan muncul setelah hari ke 14 demam. IgG adalah antibodi pertama yang dihasilkan jika terjadi infeksi sekunder dan muncul sejak timbulnya demam atau penyakit. Antibodi IgM akan muncul lima hingga sepuluh hari setelah timbulnya gejala demam, namun antibodi IgG akan muncul 1-2 hari setelah gejala demam. Pada penelitian ini infeksi sekunder memiliki prevalensi yang tinggi dibandingkan dengan infeksi primer dilihat dari hasil yang didapat semua DHF IgG menunjukkan hasil positif.

Hasil penelitian Intansari dkk (2019) menunjukkan bahwa terdapat perbedaan dalam respon individu

terhadap imunitas DHF, yang dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu perbedaan respon limfosit dari individu imun dan non-immun terhadap DEN-1, DEN-2, DEN-3, dan DEN-4. Selanjutnya dilihat dari tingkat kepadatan jentik *Aedes Aegypti* seperti juga dapat mempengaruhi respon individu terhadap DHF.

Selain itu terdapat faktor kritis yang perlu diperhatikan yang pertama reagen. Prosedur preparasi reagen yang memerlukan perlakuan awal sebelum digunakan (*lyophilized*) menggunakan H₂O atau aquadest sesuai *kit insert*, suhu reagen yang dipersyaratkan sebelum digunakan dan *expired date* reagen pada kotak reagen. Kit reagen tetap disimpan pada suhu 2 - 8°C sebelum atau sesudah digunakan. Yang kedua kalibrator dan kontrol harus disimpan pada suhu 2 - 8°C (untuk reagen yang tidak dilarutkan / cairan siap pakai). Stabilitas penyimpanan reagen yang dilarutkan yaitu 6 bulan setelah dilarutkan (pada suhu -25 ± 6°C). Terakhir adalah pemantauan suhu ruangan dan penyimpanan, alat harus berada pada suhu 37 ± 0.7°C, upayakan suhu lingkungan dingin. Pada penelitian ini reagen yang dipergunakan baru dibuka untuk kedua pemeriksaan baik metode ELFA maupun ELISA dan suhu ruangan dan penyimpanan sudah sesuai.

Pada penelitian yang telah dilakukan sebelumnya oleh Somphavanh Somlor, dkk (2021) mengatakan jika secara keseluruhan prototipe DHF untuk alat vidas telah berhasil sangat baik dan cocok untuk deteksi rutin DHF IgG dan IgM. Selain itu dalam penelitian ini memiliki beberapa keterbatasan. Pertama dari keterbatasan waktu sehingga sampel yang didapat masih sedikit. Menurut CLSI tahun 2013 sampel untuk melakukan uji banding minimal 40 sampel. Sedangkan pada penelitian ini hanya 30 sampel, sehingga data kurang. Peneliti mengharapkan bagi peneliti selanjutnya agar dapat menggunakan sampel yang

lebih banyak sesuai dengan standar CLSI.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat ditarik beberapa kesimpulan. Pertama, kadar rata-rata IgG dengan metode ELFA didapatkan 34,53 S/CO dan kadar rata-rata IgG dengan metode ELISA 34,00 units. Kedua, kadar rata-rata IgM dengan metode ELFA didapatkan 0,94 S/CO dan kadar rata-rata IgM metode ELISA 0,93 S/CO. Selanjutnya, berdasarkan hasil perbandingan grafik untuk DHF IgG dan IgM tidak terdapat perbedaan yang signifikan dan untuk DHF IgM dilihat juga dari hasil uji statistik diperoleh $p = 0,162$, yang berarti $p > 0,05$ sehingga tidak terdapat perbedaan kadar IgM pada penderita DHF metode ELFA dan ELISA.

Berdasarkan temuan ini, dapat disarankan beberapa hal. Pertama pemeriksaan DHF IgG dapat menggunakan metode ELFA. Kedua, Pemeriksaan DHF IgM dapat menggunakan metode ELFA. Ketiga, untuk penelitian selanjutnya dapat melakukan penelitian dengan menggunakan metode ELFA untuk pemeriksaan yang lain.

DAFTAR RUJUKAN

1. Assir, M. Z. (2011). Guidelines for Dengue Clinical Case Management of Dengue Fever / Dengue Hemorrhagic Fever/ DSS 2011 in Pakistan Context.
2. Berutu, W. O., & Susilawati. (2022). Hubungan Sanitasi Lingkungan Rumah Tinggal. *Jurnal Ilmiah Multi Disiplin Indonesia*, 1(8).
3. Biological, S. (2023). ELISA Principle Basis and Extension. Retrieved from <http://www.elisa-antibody.com/ELISA-Introduction/ELISA-Principle.html>
4. Biomerieux. (2021). Kit Inset Anti-Dengue IgG. France: bioMerieux SA.
5. Biomerieux. (2021). Kit Inset Anti-Dengue IgM. France: bioMerieux.
6. Biomerieux. (2023). Vidas Immunology Update. France: bioMerieux.
7. Charisma, A. M. (2020). Deteksi Proteinuria Pada Pasien Infeksi Dengue Dengan Metode Kolorimetri.
8. Demeditec. (2018). Kit Inset Dengue Virus IgG ELISA. Germany: Demeditec Diagnostics GmbH.
9. Diagnostics, F. (2010). Kit Inset Dengue Virus IgM. United States: Focus Diagnostics.
10. Dianova. (2022). Antibody structure – what is a secondary antibody? Retrieved from www.dianova.com
11. Gandasoebrata, R. (2013). *Penuntun Laboratorium Klinis*. Jakarta: Dian Rakyat.
12. Guzman MG, G. D. (2016). Dengue Infection (Vol. 21). 2:1-26.
13. Hairani. (2019). *Gambaran Epidemiologi Demam Berdarah di Indonesia*. Jakarta: FKM UI.
14. Hidayani, W. R. (2020). *Demam Berdarah Dengue : Perilaku Rumah Tangga Dalam Pemberantasan Sarang Nyamuk dan Program Penanggulangan Demam Berdarah Dengue*. Banyumas Jawa Tengah: CV Pena Persada.
15. Indasari, D. N. (2016). *Gambaran Immunoglobulin M (IgM) Pada Pasien Demam Berdarah Dengue (DBD)*.
16. (2019). *Intructions for Use Virus Dengue IgM Capture ELISA*. The Native Antigen Company.
17. Ismail, S. (2022). Pengaruh Penggunaan Model Pembelajaran Berbasis Proyek. *Jurnal ilmiah Wahana Pendidikan*.
18. Kementerian Kesehatan. (2018-2019). *Profil Kesehatan Indonesia*. Jakarta: Kemenkes.
19. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. (2019 - 2020). *Profil Kesehatan Indonesia*. Jakarta: Kemenkes.
20. Kementerian Kesehatan RI. (2017). *Pedoman Pencegahan dan Pengendalian Demam Berdarah Dengue Di Indonesia*.
21. Kementerian Kesehatan RI. (2021). Retrieved from <https://p2pm.kemkes.go.id>
22. Kementerian Kesehatan RI. (2021). *Strategi Nasional Penanggulangan Dengue 2021-2025*. Kementerian Kesehatan RI.

23. Kementerian Kesehatan RI. (2022, mei 1). Situasi Penyakit Demam Berdarah di Indonesia. Retrieved from [https://Infodatin-Situasi-DemamBerdarah-Dengue%20\(1\).pdf](https://Infodatin-Situasi-DemamBerdarah-Dengue%20(1).pdf).
24. Kurdianto. (2021). Teknik Dasar ELISA dan Aplikasinya Untuk Deteksi Pathogen Penyebab Penyakit.
25. Laboratories, M. C. (2020). Dengue Virus: A Diagnostic Testing Update. Retrieved from Mayo Clinic Laboratories: <https://news.mayocliniclabs.com/2020/06/dengue-virus-a-diagnostictesting-update/>
26. Liu J, T. X. (2019). Risk Factors Associated With Dengue Virus Infection in Guangdong Province (Vol. 6). 16(4) : 1-12.
27. Mahapatra D, S. G. (2014). NS1 Antigen Capture ELISA an Effective Method for Diagnosis of Early Dengue Infection. India: 8(8):DC08-DC10.
28. Muller, ACI, D., & PR, Y. (2017). Clinical and Laboratory Diagnosis of Dengue Virus Infection. *The Journal of Infectious Diseases*, 215(2):S89-95.
29. Rasidah. (2013). Demam Berdarah Dengue (Dengue Haemorrhagic Fever - DHF). Humas RSUD dr H.Moch Ansari Saleh.
30. Ryan, R. (2023). What is a nanobody. Retrieved from <https://www.antibodies-online.com/resources/17/5009/what-is-a-nanobody/>
31. Saleh. (2017). Modul 11 Uji Wilcoxon. Jakarta: Universitas Esa Unggul.
32. Schaefer TJ, P. P. (2021). Dengue Fever (Vol. 16). Stat Pearls.
33. Serologic Tests for Dengue Virus. (2019). Retrieved from www.cdc.gov/dengue/healthcare-providers/testing/serologictest.html
34. Simmons CP, F. J. (2013). *Dengue*. 366(15) : 23-32.
35. Sitepu FY, D. E. (2019). Risk Factors of Dengue Fever Outbreak in Karo District, North Sumatera, Indonesia. 5(1) : 16-22.
36. Sugiyono. (2017). *Statistika Untuk Penelitian*. Alfabeta.
37. Syafiqah, N., & Suardamana, K. (2018). Demam Berdarah Dengue.
38. WHO. (2013). *Comprehensive Guidelines for Prevention and Control of Dengue and Dengue Haemorrhagic Fever* (Vol. 2). 159-168.
39. WHO. (2021). Dengue and Severe Dengue. Retrieved from www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/dengue-and-severe-dengue.