

VAKSIN DENGUE, TANTANGAN, PERKEMBANGAN DAN STRATEGI DENGUE VACCINE, CHALLENGES, DEVELOPMENT AND STRATEGIES

Dewi Marbawati, Tri Wijayanti*

*Balai Litbang P2B2 Banjarnegara

Jl. Selamanik No.16 A Banjarnegara, Jawa Tengah, Indonesia

E_mail: dewimarba@yahoo.co.id

Received date: 3/2/2014, Revised date: 3/4/2014, Accepted date: 7/4/2014

ABSTRAK

Penyakit demam Dengue endemik di lebih dari 100 negara di dunia. Obat anti virus Dengue efektif belum ditemukan dan pengendalian vektor dinilai kurang efektif, sehingga diperlukan upaya pencegahan dengan vaksinasi. Vaksin Dengue yang ideal adalah murah, mencakup 4 serotipe, efektif dalam memberikan kekebalan, cukup diberikan sekali seumur hidup, aman, memberi kekebalan jangka panjang, stabil dalam penyimpanan dan stabil secara genetik (tidak bermutasi). Beberapa kandidat vaksin yang telah dan sedang dikembangkan oleh para peneliti di seluruh dunia adalah tetravalent live attenuated vaccine, vaksin Chimera (ChimeriVax), vaksin subunit dan vaksin DNA. Vaksin Dengue dipandang sebagai pendekatan yang efektif dan berkesinambungan dalam mengendalikan penyakit Dengue. Tahun 2003 telah terbentuk Pediatric Dengue Vaccine Initiative (PDVI), yaitu sebuah konsorsium internasional yang bergerak dalam advokasi untuk meyakinkan masyarakat internasional akan penting dan mendesaknya vaksin Dengue. Konsorsium vaksin Dengue Indonesia saat ini berupaya mengembangkan vaksin Dengue dengan menggunakan strain virus lokal.

Kata kunci: Dengue, virus, vaksin

ABSTRACT

Dengue fever is endemic in more than 100 countries in the world. The effective dengue antiviral drug has not been found yet, and vector control is considered less effective. Prevention program by vaccination is needed. An ideal dengue vaccine should be inexpensive, covering four serotypes (tetravalent), effective in providing immunity, given once a lifetime, safe, stable in storage and genetically. Several vaccine candidates have been and are being developed included attenuated tetravalent vaccine, ChimeriVax, sub-unit vaccines and DNA vaccines. Dengue vaccine is seen as an effective and sustainable approach to control Dengue infection. In 2003, Pediatric Dengue Vaccine Initiative (PDVI) has been formed as an international consortium involved in advocacy to convince the international community about the essence and urgency of Dengue vaccine. Indonesian Dengue vaccine consortium is currently working to develop a Dengue vaccine using locally virus strain.

Key words: Dengue, virus, vaccine

PENDAHULUAN

Penyakit demam Dengue endemik di 100 negara yang tersebar di Asia Tenggara, Asia Selatan, bagian Timur Mediterania, Amerika Tengah, Amerika Selatan, Afrika, Kepulauan Karibia dan wilayah Pasifik.^{1,2} Badan Kesehatan Dunia (WHO) memperkirakan lebih dari 2,5 milyar penduduk dunia berisiko terinfeksi Dengue. Sekitar 500.000 dari 50 juta kasus Dengue membutuhkan perawatan rumah sakit dengan angka kematian mencapai 2,5%.¹

Virus Dengue adalah jenis virus dari grup Flavivirus yang mempunyai 4 serotipe; Dengue-1,

Dengue-2, Dengue-3, dan Dengue-4. Infeksi virus Dengue dapat berupa *Dengue Fever* (DF atau Demam Dengue), *Dengue Haemorrhagic Fever* (DHF) atau Demam Berdarah Dengue (DBD) dan *Dengue Shock Syndrome* (DSS). Penyakit ini terutama menyerang anak-anak dengan gejala demam tinggi mendadak, dapat disertai manifestasi perdarahan dan bertendensi menimbulkan syok dan kematian.^{3,4,5}

Wabah Dengue umumnya di daerah tropis, namun perubahan demografik dan kecenderungan gaya hidup (ledakan populasi, urbanisasi dan transportasi cepat penduduk dari satu tempat ke

tempat lain), memungkinkan penyakit ini dapat pula terjadi pada daerah non endemis.⁶ Virus Dengue ditularkan antar manusia dengan perantara nyamuk *Aedes aegypti* dan *Aedes albopictus* yang diperkirakan memiliki hubungan dengan nyamuk *Aedes silvatic* di belantara Afrika.⁷ *Aedes aegypti* dan *Aedes albopictus* terdapat hampir di seluruh Indonesia sehingga memungkinkan seluruh Indonesia terjangkau infeksi Dengue.

Terapi spesifik dengan antivirus efektif untuk infeksi Dengue belum ditemukan. Pengembangan obat antivirus merupakan kebutuhan mendesak untuk mencegah kematian akibat DBD. Penggunaan senyawa yang dapat menghambat proses perkembangan dari virus intraseluler, belum disetujui digunakan pada manusia.⁸ Interferon, ribavirin, 6-azauridine dan glycyrrhizin menghambat perkembangbiakan Flavivirus termasuk virus Dengue secara *in vitro*, tetapi belum dibuktikan secara *in vivo*.⁹

Pengendalian vektor yang dilakukan dinilai kurang efektif, karena sifat vektor yang kosmopolit dan mudah beradaptasi, resistensi terhadap insektisida dan sifat *transovarial*. Oleh sebab itu diperlukan pencegahan lain dengan vaksinasi. Penelitian mengenai vaksin Dengue telah dilakukan lebih dari 60 tahun, namun sampai saat ini belum ditemukan vaksin yang efektif untuk dapat mengatasi permasalahan Dengue.^{2,10} Tujuan penulisan artikel untuk menggambarkan tantangan yang dihadapi dalam perkembangan vaksin dan strategi yang dilakukan untuk dapat mempercepat penyediaan vaksin Dengue.

METODE

Penelitian ini merupakan jenis penelitian deskriptif. Tulisan ini merupakan hasil dari tinjauan literatur, mengumpulkan dari berbagai referensi (jurnal, buku teks) tentang Dengue. Data yang terkumpul kemudian dikompilasi dan dideskripsikan menjadi suatu informasi yang menggambarkan virus Dengue, perkembangan, kandidat vaksin dan tantangannya.

PEMBAHASAN

1. Tantangan Pengembangan Vaksin Dengue

Upaya pengembangan vaksin Dengue dihadapkan pada tantangan mampu menciptakan vaksin untuk semua serotipe virus Dengue, yaitu

Dengue-1, Dengue-2, Dengue-3 dan Dengue-4. Vaksin monovalen yaitu vaksin untuk satu serotipe virus Dengue yang tidak melindungi tubuh terhadap infeksi virus Dengue serotipe lainnya, sehingga pemberian vaksin tidak efektif.¹¹ Infeksi dengan satu serotipe virus menyebabkan kekebalan terhadap serotipe tersebut, namun tidak ada perlindungan silang terhadap serotipe lain. Selain itu di daerah endemis, penduduk dapat terinfeksi 2, 3 atau 4 serotipe. Oleh karena itu dibutuhkan vaksin yang memicu antibodi terhadap keempat jenis serotipe di dalam tubuh.

Infeksi virus yang pertama tidak memicu antibodi untuk memperkuat tubuh dari infeksi Dengue berikutnya dengan serotipe berbeda. Infeksi pertama juga mempermudah tubuh mendapat infeksi berikutnya dengan gejala yang lebih berat dan fatal. Jika pada infeksi pertama menyebabkan panas (*Dengue Fever/DF*), maka pada infeksi berikutnya dapat menyebabkan panas yang disertai perdarahan (*Dengue Haemorrhagic Fever/DHF*) atau syok (*Dengue Shock Syndrome/DSS*). Fenomena ini dikenal sebagai Antibody Dependent Enhancement (ADE).^{12,13,14}

Oleh sebab itu pengembangan vaksin Dengue yang ideal harus mencakup 4 serotipe (*tetavalent*). Vaksin Dengue juga harus murah karena Dengue umumnya di negara miskin dan berkembang, efektif menimbulkan kekebalan dengan dosis tunggal. Vaksin Dengue harus aman tanpa efek samping, kekebalan bersifat jangka panjang dan stabil pada penyimpanan dalam kurun waktu tertentu maupun stabil secara genetik (tidak menimbulkan adanya risiko mutasi genetik).¹

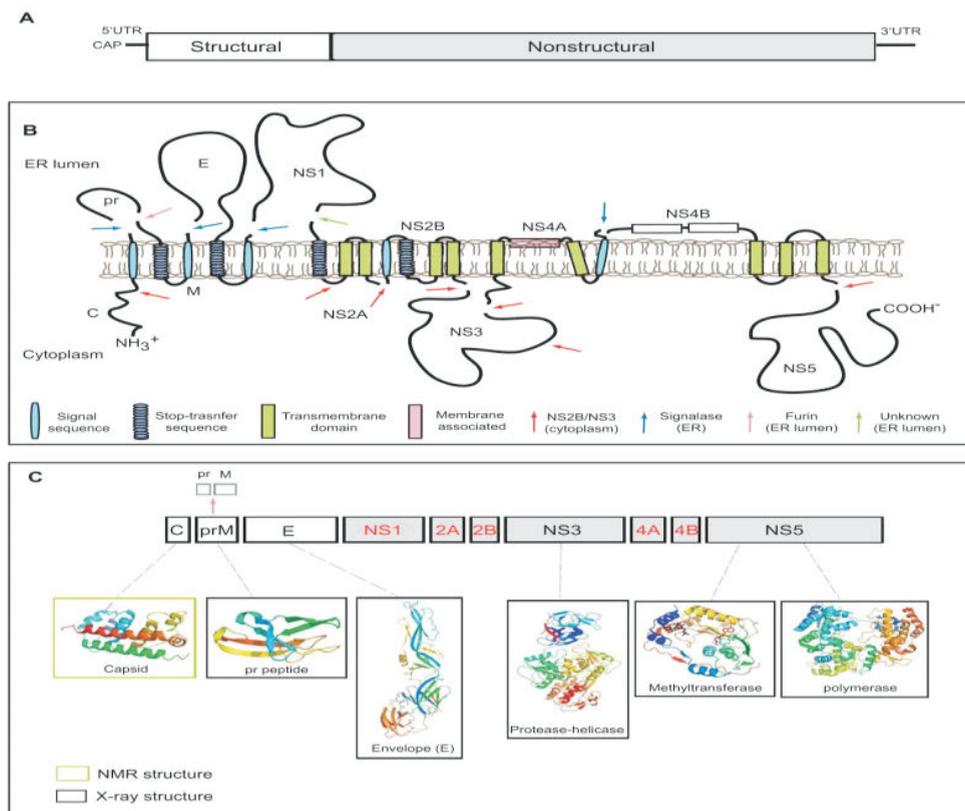
Pengembangan vaksin Dengue tidak terlepas dari kajian mengenai struktur genom dari Dengue itu sendiri untuk dapat menemukan target kandidat vaksin yang tepat. Partikel virus Dengue yang makro terdiri dari satu genom asam ribonukleat yang di kelilingi satu "icosahedral" kapsul nukleat dibungkus dengan lemak setebal 10 nm yang berasal dari selaput dinding sel hospes yang terdiri dari protein pembungkus dan selaput dindingnya. Virus Dengue tersusun atas 10.700 basa di dalam genomnya, terdiri dari *single-stranded positif sense RNA* (ssRNA). Genom virus Dengue memiliki sebuah *Open Reading Frame* (ORF) yang mengkode 2 macam protein yaitu struktural dan non struktural (NS) yaitu NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B, NS5 yang ditandai oleh sebuah 5' dan

3' non translated region (NTR) pada kedua ujungnya.¹⁵ Protein non struktural merupakan bagian terbesar (75%, Gambar 1.A) yang terdiri dari NS-1 sampai NS-5 (Gambar 1.B dan 1.C). Kemampuan merangsang pembentukan antibodi (imunogenitas) tertinggi diantara protein struktural adalah protein *Envelope* (E) kemudian *precursore Membrane protein* (prM) dan *Capsid* (C). Pada protein non struktural yang paling berperan adalah NS1 (Gambar 1.B dan 1.C).

Penelitian oleh Imperial College London (UK) dan Mahidol University, Khon Kaen Hospital dan Songkhla Hospital di Thailand menemukan sekelompok antibodi *precursor membrane protein* (prM) sebagai respon tubuh di dalam darah seseorang yang terinfeksi virus Dengue. Seseorang yang pernah terinfeksi salah satu serotipe virus Dengue dan mendapatkan infeksi kedua kalinya oleh virus Dengue serotipe yang berbeda, maka antibodi prM yang dihasilkan pada infeksi sebelumnya akan aktif kembali, sehingga menimbulkan gejala yang lebih berat daripada infeksi pertamanya. Hasil penelitian tersebut

merupakan tantangan bagi peneliti untuk menciptakan vaksin yang mampu mencegah terjadinya reaksi yang lebih berat jika antibodi prM memfasilitasi virus Dengue lain pada infeksi sekunder. Para ilmuwan diharapkan menciptakan vaksin Dengue yang efektif.

Protein lain yang banyak dikembangkan sebagai kandidat vaksin adalah protein E karena memiliki peranan penting pada proses penempelan virus dan fusi pada sel inang. Protein E juga menjadi target utama penetralan antibodi.¹⁷ Protein E merupakan protein struktural yang memiliki kemampuan bertahan yang tinggi. Protein E pada Flavivirus memiliki 12 residu sistein yang membentuk 6 jembatan disulfida intramolekular. Mutasi protein E memberikan dampak besar pada perubahan virulensi virus Dengue dan jenis Flavivirus lainnya.^{16,18} Protein E mengenali semua galur virus dan memiliki berat molekul yang mendukung sebagai kandidat vaksin, namun memerlukan pembawa sebagai imunomodulator yang menstimulasi sel B (limfosit B) dan sel Th (*T helper*) untuk menginduksi produksi antibodi



Gambar 1. Protein yang dikode oleh genom virus Dengue.¹⁶ Besar protein struktural dan non struktural penyusun genom Dengue (A), Skema pemotongan polyprotein virus Dengue untuk melepas protein tunggal (B), Skema tiga dimensi protein penyusun genom Dengue (C)

melalui ekspresi sitokin, sehingga titer antibodi semakin tinggi. Protein E mempunyai sifat hidrofobik tinggi, mengandung banyak histidin dan sifatnya stabil. Oleh karena itu dikembangkan protein E hasil rekombinan dengan *Baculovirus* yang kemudian digunakan sebagai bahan vaksin klon subunit. Epitop protein E mengandung banyak asam amino yang merangsang terbentuknya antibodi netralisasi melalui proses *acidic compartments* yang disekresikan melalui kompleks Golgi. Protein E yang disekresi melalui sel jaringan secara *in vivo* mempunyai reaktivitas tinggi dan tingkat imunogenitas optimal sebagai vaksin klon subunit.¹⁹ Model ekspresi dengan *Baculovirus* didapatkan protein yang stabil dan seperti partikel virus, sehingga ideal dikembangkan sebagai vaksin Dengue yang multivalen.²⁰

2. Perkembangan Vaksin Dengue

Sejak dirintis pada akhir dekade 1970-an sampai 1990-an, belum banyak kemajuan penting yang diraih dalam pengembangan vaksin. Sedikitnya dukungan dan antusiasme perusahaan raksasa dan pusat – pusat riset kesehatan unggul dunia yang amat minim menyebabkan riset vaksin tidak berjalan optimal. Sejak awal tahun 1990-an hingga sekarang mulai banyak dilakukan penelitian mengenai vaksin dari mulai *Live Attenuated Vaccine*, *ChimeriVax*, vaksin subunit dan vaksin DNA. Berikut beberapa kandidat vaksin Dengue yang dikembangkan.

a. *Tetavalent Live Attenuated Vaccine*

Tetavalent live attenuated vaccine berasal dari virus hidup yang dilemahkan, ekonomis karena pengembangannya terjangkau. Dua kandidat vaksin tetavalen dikembangkan di Universitas Mahidol, Thailand dan Walter Reed Army Institute, Amerika Serikat.¹⁵ Virus dilemahkan secara konvensional, yaitu menumbuhkan secara berulang galur sel tertentu sehingga daya infeksi lumpuh, namun sifat imunogeniknya tetap terjaga. Kedua vaksin *tetavalent live attenuated* yang dikembangkan menghasilkan serokonversi tinggi untuk semua serotipe pada uji coba klinis.²¹ Beberapa serotipe virus yang digabungkan, mungkin mengakibatkan ketidakseimbangan respon imun sehingga

menyebabkan keparahan pada pasien Dengue.¹⁷ Formulasi dosis dan jadwal vaksinasi penting untuk menyesuaikan imunogenitas dari empat komponen vaksin tersebut.^{22,23}

b. Chimera

Vaksin Chimera (*ChimeriVax*) seperti *tetavalent live attenuated vaccine* merupakan vaksin virus hidup yang dilemahkan (*attenuated*). Vaksin ini dikembangkan dengan teknik rekayasa genetika yaitu menyisipkan gen selubung dan membran virus Dengue ke virus *yellow fever* (YF 17D).²⁴ Pemilihan YF 17D sebagai kerangka karena vaksin ini teruji keamanannya, dan kedua virus ini berkerabat dekat (*Flavivirus*).

Uji klinis *ChimeriVax* menunjukkan vaksin menginduksi antibodi proteksi terhadap keempat tipe virus dan aman tanpa efek samping yang serius. Pada tahun 2006, monovalen *ChimeriVax Dengue-2* sukses diuji pada manusia. Uji klinis dilakukan dengan membandingkan tingkat toleransi, keamanan, dan imunogenik kandidat *ChimeriVax Dengue-2* dengan vaksin YF komersial (YF-VAX) pada 42 sukarelawan dewasa. Hasilnya *ChimeriVax Dengue-2* terbukti aman dan imunogenik seperti halnya vaksin YF. Uji coba *ChimeriVax* yang dilakukan terhadap primata non manusia (monyet rhesus) menimbulkan kekebalan protektif terhadap semua serotipe virus Dengue, namun terjadi penurunan respon antibodi terhadap Dengue 3 dan 4 sehingga dibutuhkan reformulasi atau optimasi dosis untuk meminimalkan kendala ini.

c. Vaksin subunit

Vaksin subunit dibuat dari bagian tertentu mikroorganisme, antara lain penggunaan protein E rekombinan untuk mendapatkan hasil proteksi yang optimal. Analisis virulensi menggunakan kultur sel vero, menemukan 8 strain dari keempat serotipe, dan 4 strain diantaranya terpilih sebagai bahan rekombinan. Setelah dipurifikasi dan dianalisis reaktifitas, protein E rekombinan menunjukkan sifat imunogenitas yang tinggi. Uji coba vaksin pada hewan coba juga menunjukkan protein E rekombinan mempunyai sifat antigenitas dan imunogenitas tinggi. Kelemahan

pengembangan vaksin jenis ini adalah lebih mahal dari *live attenuated*.

Pengembangan vaksin lain adalah vaksin DNA yang didesain dengan menyisipkan beberapa gen virus ke vektor plasmid, lalu dikemas dengan DNA lain yang bersifat imunogenik kuat. Struktur dan elemen genetik vaksin DNA terdiri dari dua unit utama. Unit pertama adalah unit propagasi plasmid yang berfungsi sebagai pengendali replikasi dan perbanyakan plasmid DNA secara *in vitro* dalam sel bakteri, sesuai dengan jumlah dan volume yang diinginkan pada saat diproduksi. Unit kedua adalah fragmen DNA yang mengandung gen vaksin yang dikloning ke dalam plasmid DNA. Vaksin DNA adalah vaksin yang aman jika digunakan pada manusia. Hal yang menjadi perhatian adalah kemungkinan DNA asing terintegrasi ke dalam kromosom hospes sehingga menyebabkan stimulasi gen yang tidak terkontrol.²⁵

Institut Vaksin Internasional menyebutkan beberapa kandidat vaksin untuk mengatasi Dengue dikembangkan beberapa perusahaan yang dapat dilihat pada Tabel 1.

Pengembangan vaksin Dengue di Indonesia dilakukan diantaranya oleh peneliti dari Universitas Airlangga (UNAIR), dengan memanfaatkan protein E virus Dengue secara rekombinan untuk pengembangan vaksin klon

subunit dengan menggunakan Baculovirus yang dimodifikasi, sehingga dapat memacu antibodi protektif untuk semua galur. Hasil penelitian tersebut diantaranya mendapatkan protein rekombinan murni yang mempunyai reaktivitas tinggi terhadap antibodi poliklonal. Protein E yang diperoleh mempunyai daya imunogenik yang cukup tinggi dan mampu menetralkan infeksi virus Dengue pada percobaan mencit, tikus, kelinci dan monyet. Protein E pada hewan percobaan dapat menginduksi antibodi humoral dengan berbagai kelas imunoglobulin IgM, IgG maupun antibodi selular sub kelas (IgG, IgG1a, IgG2a, IgG2b) yang protektif.²⁰

3. Strategi Pengembangan Vaksin Dengue

Pengembangan vaksin Dengue telah dirintis sejak lama dan sampai saat ini belum tersedia. Dalam rangka percepatan penyediaan vaksin, pada tahun 2003 dibentuk *Pediatric Dengue Vaccine Initiative* (PDVI), yaitu sebuah konsorsium internasional yang bergerak meyakinkan masyarakat internasional tentang penting dan mendesaknya vaksin Dengue, serta berkoordinasi terkait pengembangan vaksin Dengue. *Pediatric Dengue Vaccine Initiative* (PDVI) mendapat bantuan dana dari *Rockefeller Foundation, the Bill and Melinda Gates Foundation* dan badan kesehatan dunia (WHO).²⁶ Misi utama PDVI yang beranggotakan

Tabel 1. Kandidat Vaksin yang Dikembangkan oleh Beberapa Perusahaan.²⁵

Pengembang	Perusahaan sponsor	Pendekatan
a. Live Attenuated		
WRAIR	GSK	Kultur sel
Acambis	Sanofi pasteur	17D Yellow fever – Dengue chimera
NIH/NIAID/LID	Biological E, Butantan,	Chimera Dengue -4 atau Dengue -4
	Panacea, Vabiotech	dengan pengurangan nukleotida
CDC	Inviragen	Attenuasi Dengue -2 – Chimera Dengue
b. Subunit		
Hawaii Biotech	Hawaii Biotech	Envelope +/- NS1 rekombinasi protein

Keterangan:

WRAIR = Walter Reed Army Institute of Research

GSK = Glaxo Smith-Kline

NIH/NIAID/LID = US National Institutes of Health/National Institute for Allergy and Infection Diseases/Laboratory of Infectious Diseases

CDC = US Centers for Disease Control and Prevention

lembaga riset dan negara-negara endemik Dengue termasuk Indonesia, adalah mempercepat pengembangan dan mengenalkan vaksin yang aman, efektif dan terjangkau, terutama bagi anak-anak di negara miskin dan berkembang. Misi PDVI diwujudkan dengan memberi dukungan penuh riset dan uji klinik fase 3 kandidat vaksin yang dikembangkan seperti ChimeriVax. Efektivitas vaksin di daerah endemik Dengue merupakan tantangan besar. Studi prospektif dalam skala luas dan waktu yang cukup lama dibutuhkan untuk menjawab tantangan tersebut.

Pemerintah Indonesia telah membentuk konsorsium peneliti dan pengembangan vaksin Dengue dari berbagai institusi dalam sinergi riset bekerja sama dengan beberapa lembaga riset di luar negeri seperti Australia dan Prancis. Koordinator konsorsium adalah Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian Kesehatan, dengan anggota meliputi *Eijkman Institute for molecular biology*, UGM, UI, Unair, IPB, BPPT, LIPI dan Biofarma.²⁷ Penanganan DBD yang bersifat zoonosis ini memerlukan pendekatan One Health Center dengan melibatkan para ahli multidisiplin dan multisektor.²⁸

Vaksin Dengue yang saat ini sedang dikembangkan Sanofi Pasteur (Perancis) menggunakan *seed* vaksin Dengue-1, Dengue-2, Dengue-3 dari Thailand dan Dengue-4 dari Indonesia diragukan dapat protektif terhadap virus yang beredar di Indonesia, karena hasil penelitian Sasmono *et al*²⁹ menemukan adanya perbedaan genotipe virus Dengue di Indonesia dengan strain virus untuk vaksin tersebut. Konsorsium vaksin Dengue Indonesia pada saat ini berupaya untuk mengembangkan vaksin Dengue dengan menggunakan strain virus lokal. Harapannya dengan strain virus lokal tersebut, vaksin DBD benar-benar dapat memberikan perlindungan dari keempat serotipe virus Dengue di Indonesia.

KESIMPULAN

Pengembangan vaksin Dengue bukan upaya mudah dan murah, terbukti dengan belum tersedianya vaksin meski telah dirintis sejak lama. Muncul kekhawatiran jika mata rantai virus bertambah luas dan tidak diputus, virus akan

bermutasi sehingga semakin ganas. Strategi yang dilakukan untuk mempercepat penyediaan vaksin Dengue diantaranya konsorsium internasional Dengue membentuk *Pediatric Dengue Vaccine Initiative* (PDVI) tahun 2003 dengan misi percepatan pengembangan dan introduksi vaksin yang aman, efektif dan terjangkau. Konsorsium vaksin Dengue Indonesia melakukan penelitian tentang karakterisasi genetik virus Dengue dari berbagai daerah di Indonesia, pemilihan prototipe virus untuk pembuatan vaksin, pembuatan vaksin dengan metode *live attenuation*, rekombinan virus. Vaksin Dengue dipandang sebagai pendekatan yang efektif dan berkesinambungan dalam mengendalikan penyakit Dengue karena program pengendalian nyamuk yang selama ini menjadi prioritas utama untuk mencegah wabah tidak berjalan efektif.

DAFTAR PUSTAKA

1. WHO. Dengue guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control. New edition. Geneva; 2009.
2. Mustafa MMS, Agrawal MK. Dengue vaccine: the current Status. MJAFI. 2008; 64 (2).
3. Swaminathan S, Khanna N. Dengue: recent advances in biology and current status of translation research. *Curr Mol Med*. 2009; 9: 152-73.
4. Guha-Sapir D, Schimmer B. Dengue fever: new paradigms for changing epidemiology. *Emerg Themes Epidemiol*. 2005; 2 (1).
5. Healstead SB. Dengue. *The Lancet*. 2007; 370: 1644-52.
6. Gubler DJ. Epidemic dengue/dengue hemorrhagic fever as a public health, social and economic problem in the 21st century. *Trends in Microbiology*. 2002; 10 (2).
7. Lestari K. Epidemiologi dan pencegahan demam berdarah dengue di Indonesia. *Farmaka*. 2007; 5 (3).
8. Dutra NR, de Paula MB, de Oliveira MD, de Oliveira LL, de Paula SO. The laboratorial diagnosis of Dengue: applications and implications. *J. Global Infect Dis*. 2009; 1: 38-44.
9. Crance JM, Natale S, Alain Jouan, Daniel Garin. Interferon, ribavirin, 6-azauridine and glycyrrhizin: antiviral compounds active againts pathogenic

- flaviviruses. *Antiviral Res.* Elsevier. 2003; 58: 73-9.
10. Hombach J. Vaccines against dengue: a review of current candidate vaccines at advanced development stages. *Pan Am J Public Health.* 2007; 21 (4).
 11. Raviprakash K, Defang G, Burgess T, Porter K. Advances in dengue vaccine development. *Hum Vaccin.* 2009; 5:520-8.
 12. Letson GW, Pratap S, Eduardo F, Nihal A, Juan JA, Harold S, et al. Dengue vaccine trial guidelines and role of large-scale, post proof-of-concept demonstration projects in bringing a dengue vaccine to use in dengue endemic areas. *Human vaccine.* 2010; 6 (10): 802-809.
 13. Healstead SB, Heinz FX, Barrett AD, Roehrig JT. Dengue virus: molecular basis of cell entry and pathogenesis. Vienna Austria [conference report]. 2005; 23: 849-56.
 14. Simmons CP, Chau TN, Thuy TT, Tuan NM, Hoang DM, Thien NT, et al. Maternal antibody and viral factors in the pathogenesis of dengue virus in infants. *J Infect Dis.* 2007; 196: 416-24.
 15. Konishi E. Issues related to recent dengue vaccine development. *Tropi Medi and Health.* 2011; 39 (4): 63-71.
 16. Perera R, Khun RJ. Structural proteomics of dengue virus. *Current opinion in Microbiology.* 2008; 11: 369-377.
 17. Stephenson JR. Understanding dengue pathogenesis: implications for vaccine design. *Bull World Health Organization.* 2005; 83: 308-14.
 18. Mazzon M. Pathogenesis of Dengue: subversion of innate immunity. Thesis for the degree of Doctor of Philosophy in University College London, Department of Infection Division of Infection and Immunity Royal Free and University College Medical School, UCL; 2010.
 19. Raviprakash K, Porter KR, Kochel TJ, Ewing D, Simmons M, Phillips I, et al. Dengue virus type 1 DNA vaccine induces protective immune responses in rhesus macaques. *Virology.* 2000; 81: 1659-67.
 20. Soegijanto S, Rantam FA, Soetjipto dll. Uji coba vaksin dengue rekombinan pada hewan coba mencit, tikus, kelinci dan monyet. *Sari pediatri.* 2003; 5 (2): 64-71.
 21. Simasathien S, Thomas SJ, Watanaveeradej V, Nisalak A, Barbrousse C, Innis BL, et al. Safety and immunogenicity of a tetravalent live-attenuated dengue vaccine in flavivirus naïve children. *Am J Trop Med Hyg.* 2008; 78: 426-433.
 22. Kitchener S, Nissen M, Nasveld P, Forrat R, Yoksan S, Lang J, et al. Immunogenicity and safety of two live-attenuated tetravalent dengue vaccine formulation in healthy Australian adults. *Vaccine* 2006; 24:1238-41.
 23. Guy B, Barban V, Mantel N, Aguirre M, Gulia S, Pontvianne J, et al. Evaluation of interferences between dengue vaccine serotypes in a monkey model. *Am J Trop Med Hyg.* 2009; 80: 302-11.
 24. Chambers TJ, Nestorowicz A, Mason PW, Rice CM. Yellow fever/Japanese encephalitis chimeric viruses: construction and Biological properties. *J Virol.* 1999; 73: 3095-101.
 25. Radji M. Vaksin DNA: Vaksin generasi keempat. *Majalah Ilmu Kefarmasian.* 2009; 6 (1): 28-37.
 26. Jacqueline LD. The challenge of dengue vaccine development and introduction. *Trop Med and International Health.* 2004; 9: 1-3.
 27. Mukhijab. Mayoritas korban serangan DBD anak-anak. *Pikiran Rakyat Online.* Jumat (29/11/2013). [diakses tanggal 3 April 2014]. Available from: <http://www.pikiran-rakyat.com/node/260536>.
 28. Konsep one health diterapkan dalam pengendalian penyakit DBD. [diakses tanggal 3 April 2014]. Available from: <http://ugm.ac.id/id/berita/8460-konsep-one-health-diterapkan.dalam.pengendalian.penyakit.dbd>.
 29. Sasmono T, Yohan B, Setianingsih TY, Aryati, Wardhani P, Rantam FA. Identifikasi genotipe dan karakterisasi genome virus dengue di Indonesia untuk penentuan prototipe virus bahan pembuatan vaksin dengue berbasis strain Indonesia. [diakses tanggal 3 April 2014]. Available from: http://insentif.ristek.go.id/PROSIDING2012/file-KO-Word_35.pdf.

