

# BAB 1

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Infeksi Hepatitis B merupakan masalah kesehatan utama di dunia. Lebih dari dua milyar penduduk dunia terinfeksi oleh Virus Hepatitis B (VHB). Diperkirakan 400-450 juta diantaranya merupakan pengidap hepatitis B yang selanjutnya dapat menderita hepatitis B kronis, sirosis hati atau kanker hati. 65 juta kematian pada pengidap hepatitis B diakibatkan oleh sirosis atau karsinoma hepatoselular ( Aspinal, 2011; Zubir, 2013; Oakes, 2014).

Prevalensi infeksi hepatitis B kronik bervariasi di beberapa tempat didunia, dan usia orang terinfeksi juga berbeda. Prevalensi tertinggi, 8-15% terdapat di Asia Tenggara, Afrika, Kepulauan Pasifik, Amazon Basin. Di Amerika Timur, Utara dan Selatan, infeksi menyerang lebih dari 60% anak-anak kecil. Prevalensi terendah, kurang dari 2%, terdapat pada populasi Eropa, dimana infeksi VHB ini lebih banyak menginfeksi kelompok dewasa. Indonesia menempati peringkat ketiga untuk jumlah penderita hepatitis B, setelah China dan India. Ahli Kesehatan dari Divisi Hepatologi Departemen Penyakit Dalam Universitas Indonesia, Sulaiman dalam penelitiannya pada tahun 2000 menyebutkan bahwa kurang lebih 13 juta penduduk Indonesia mengidap HBV. Sampai saat ini belum ada laporan mengenai kejadian Hepatitis B di Indonesia, yang ada baru pendataan di Rumah Sakit Umum Pusat (RSUP) dari berbagai kota besar, seperti penelitian Yulius dan Hanif di RSUP.DR.M.Djamil pada tahun 1973, ternyata infeksi VHB lebih banyak ditemukan pada usia 12-30 tahun dengan kejadian berbeda antara laki-laki dan perempuan (Hadi, 2002)

Penelitian mengenai HBV juga dilakukan oleh Zubir dan Siburian pada etnik

Minangkabau (2011), Secara epidemiologi molekuler, dengan mengumpulkan sampel dari Palang Merah Indonesia Cabang Padang dan dari beberapa penderita Hepatitis B kronik yang dirawat di RSUP DR.M.Djamil Padang, diperoleh VHB genotipe C lebih dominan ditemukan pada etnik Minang tersebut, diikuti oleh VHB genotipe B dan campuran genotipe B dan C. Pada tahun 2013, Zubir dan Siburian kembali melakukan penelitian VHB di etnik Minangkabau, dilaporkan bahwa dengan menggunakan mix primer, ditemukan VHB dari genotipe C yang mutasi pada Pre-S, dan *basal core promoter* (BCP).

Virus Hepatitis B merupakan virus *double- stranded Desoxyribonucleic acid* (DNA), berbentuk sirkular dan termasuk family Hepadnaviridae. VHB memperbanyak diri melalui *reverse transcriptase* RNA, memerlukan enzim *reverse transcriptase* untuk sintesis nukleotida. Hepadnavirus sudah dikenal sejak 19 ribu tahun yang lalu dan sudah mengalami evolusi paling sedikit  $7,72 \times 10$  substitusi/lokasi/tahun. Morfologi HBV berbentuk bulat dengan selubung ganda, selubung luar tersusun terutama oleh *Hepatitis B surface Antigen* (HBsAg), sedangkan selubung dalam yang disebut nukleokapsid atau core tersusun atas *Hepatitis B core antigen* (HBcAg) , didalam kapsid terdapat HBV DNA dan enzim polimerase yang berguna untuk replikasi virus ( Zubir, 2013; Ismail, 2014)

Virus Hepatitis B dapat menyerang semua usia, mulai dari bayi, remaja, orang dewasa sampai lanjut usia. Hepatitis B ini dapat berupa asimtomatis, infeksi hepatitis B kronik, dan jangka panjang dapat menyebabkan kerusakan hati yang parah seperti pengerasan hati atau sirosis (2,4-3,5%/tahun) dan kanker hati atau karsinoma hepatoselular (3-6%/tahun) yang berujung pada kematian (Vivekanandan, 2010; Aspinall, 2011)

Penularan HBV dapat melalui darah atau cairan tubuh yang mengandung VHB. Penularan dapat berbentuk transmisi secara horizontal seperti kontak seksual yang tidak

terlindungi, transfusi darah, pemakaian jarum berulang yang terkontaminasi. VHB dalam konsentrasi rendah terdapat pada semen, sekret vagina, air mata, keringat, urin dan air susu ibu. Penularan yang lain dapat secara vertikal, yaitu dari ibu ke anak selama proses persalinan. Disamping itu VHB dapat ditularkan antara anggota keluarga dalam rumah tangga, bisa berupa kontak kulit yang lecet, atau membran mukosa dengan sekresi cairan yang mengandung VHB (Valsamakis, 2007; Paganelli, 2012)

Infeksi Hepatitis B memberikan gejala klinis yang khas dan bervariasi, yaitu badan terasa lemah, nyeri pada perut kanan atas, mual, muntah, air kencing dapat berwarna seperti air teh pekat, mata dan seluruh tubuh dapat menjadi kuning (Hadi, 2002).

Diagnosis VHB dapat dilakukan dengan pemeriksaan laboratorium, yaitu serologi berupa pemeriksaan *Hepatitis B surface Antigen* (HBsAg) yang sekarang ini banyak disediakan secara komersial, pemeriksaan *Hepatitis B core Antigen* (HBcAg), *Hepatitis B e Antigen* (HBeAg), Anti HBc, AntiHBs, yang dilakukan secara ELISA, sampai pada pemeriksaan DNA VHB, genotipe virus, subgenotipe dan pemeriksaan struktur virus secara molekuler seperti HBV X Gene yang diperkirakan erat hubungannya dengan HCC (Kew, 2011). Pemeriksaan serologi untuk VHB dengan *rapid test* yang tersedia sampai saat ini adalah HBsAg dan Anti HBs, sedangkan untuk pemeriksaan serologi yang lain memerlukan alat khusus dan tenaga yang terampil untuk melakukan pemeriksaan.

Unit Transfusi Darah Rumah Sakit (UTDRS) merupakan unit tempat penyediaan darah transfusi bagi rumah sakit yang UTD Palang Merah Indonesia terdekat tidak ada. UTDRS mempunyai peran gabungan antara UTD dan Bank Darah Rumah Sakit (BDRS) dengan tugas pokok utama sebagai berikut: mulai seleksi donor, pengambilan darah donor, skrining darah donor dari 5 penyakit, uji silang serasi, pemisahan komponen darah, melayani permintaan para

klinisi, sampai pemberian darah untuk ditransfusikan ke penderita yang membutuhkan darah, pencatatan dan pelaporan serta rujukan dilakukan di UTDRS (DEPKES RI, 2008).

Pelayanan transfusi darah dimulai dengan melakukan rekrutment calon donor, yaitu mengumpulkan orang-orang yang bersedia menjadi donor darah. Selanjutnya dilakukan seleksi donor untuk mendapatkan donor sukarela dengan resiko rendah, dilanjutkan dengan pemeriksaan hemoglobin dan golongan darah. Setelah proses pengambilan darah donor, diambil lagi sampel darah untuk pemeriksaan ulang golongan darah ABO, rhesus dan uji saring, yaitu pemeriksaan terhadap penyakit Infeksi Menular Lewat Transfusi Darah (ILMTD) antara lain: Sifilis, Hepatitis B, Hepatitis C, dan HIV. Untuk daerah dengan prevalensi malarianya tinggi dapat ditambahkan dengan pemeriksaan malaria darah (DepKes, 2008).

Pemeriksaan VHB di Unit Transfusi Darah di Rumah Sakit (UTDRS) sampai saat ini masih menggunakan HBsAg tes strip, karena disamping harganya murah, dapat dilakukan tanpa keahlian khusus. Strip HBsAg didistribusikan oleh Kementerian Kesehatan setiap tahunnya sesuai dengan kebutuhan UTDRS. Tetapi pemeriksaan ini mempunyai kelemahan, pemeriksaan tersebut tidak dapat mendeteksi virus yang kadar HBV DNA nya  $< 10^4$  kopi, sehingga orang dengan HBV pada fase awal infeksi dengan kadar virus yang masih rendah atau pada penderita HBV silent, tidak dapat dideteksi dengan pemeriksaan HBsAg tes strip tersebut. Dalam kemasan tidak dijelaskan jenis antibodi monoklonal yang dipakai. Secara molekuler, bagian *surface* VHB mempunyai beberapa jenis antigen. Pada penderita VHB dengan adanya mutasi pada bagian VHB *surface*, tentu tidak dapat dideteksi dengan menggunakan HBsAg tes strip tersebut.

Reagen untuk mendiagnostik pemeriksaan HBsAg pada umumnya menggunakan antibodi yang ditujukan untuk epitop yang terdapat pada determinan-a. Epitop konformasional dari determinan-a distabilkan dengan suatu *backbone* yang terdiri dari residu yang terikat oleh

disulfide. Urutan asam amino pada HBsAg mempunyai domain yang sangat hidrofilik dan konformasional dan terletak pada urutan 100-160 dan dikenal sebagai *major hydrophilic loop* dari HBsAg. Antigenik determinan utama (*a-determinant*) merupakan daerah imunodominan dari HBsAg yang terletak diantara asam amino 121 dan 147 dalam *major hydrophilic loop*. *Determinant a* pada HBV wildtype terletak pada aa 140-146. Perubahan konformasional epitop ini menyebabkan kegagalan antibodi untuk menetralsir infeksi VHB dan menurunkan sensitifitas reagen untuk pemeriksaan HBsAg ( Valsamakis, 2007).

Virus Hepatitis B mempunyai keunikan, yaitu terdapat stadium RNA yang memerlukan mekanisme transkripsi balik menjadi bentuk DNA yang disertai bentuk mutasi. Keunikan yang lain adalah kemampuan mempertahankan infeksi dalam bentuk DNA *covalently closed circular* (cccDNA) yang menetap dalam inti sel hepar sebagai cetakan untuk pembentukan virus baru. Partikel dane atau virion HBV yang utuh dalam jumlah  $10^7 - 10^9$  virion/mL serum penderita, pada kondisi ini, kalau dilakukan pemeriksaan terhadap HBV dengan HBsAg saja, dapat ditemukan hasil negatif palsu. VHB cenderung mengalami mutasi karena tidak memiliki sistem koreksi saat replikasi. Hal ini disebabkan tidak adanya *3',5'exonuclease* untuk mengkoreksi kesalahan insersi nukleotide saat transkripsi balik (Zubir, 2013).

Berbagai studi klinik dan epidemiologi melaporkan terdapat empat pola mutant VHB, yaitu *mutant gen S*, *precore* dan *core promoter* gen C pada gen X, dan gen P. *Mutant gen S* dapat terjadi pada regio *Pre-S1*, *Pre-S2*, dan regio *S*. Mutasi regio *Pre-S* dan *Pre-S2* menyebabkan perubahan promoter sintesis HBsAg, sehingga produksi HBsAg berkurang. Hal ini menyebabkan HBsAg bereaksi negatif pada pemeriksaan serologi. Mutasi regio *S* lebih sering dilaporkan dan mempunyai implikasi lebih luas, khususnya bila terjadi pada gen penyandi determinan-a yang berpotensi menimbulkan kegagalan deteksi VHB pasien dan darah donor,

karena sarana yang tersedia tidak mampu mendeteksi HBsAg yang bermutasi, kedua adalah kegagalan vaksinasi, karena antibodi hasil vaksinasi tidak dapat menetralkan VHB yang bermutasi (*escape mutant*). Salah satu bentuk mutant yang ditemui adalah mutasi G menjadi r pada asam amino 145 (G145R), sering dilaporkan pada kasus kegagalan vaksinasi (Muljono, 2007).

Penelitian pada penderita yang menerima transfusi dilakukan oleh Liu *et al.* (2010) di China. Ditemukan 5 dari 2972 (0,13%) penerima darah menderita *occult hepatitis*, ternyata secara filogenetik, ditemukan hubungan yang dekat dengan darah donor yang juga menderita *occult hepatitis*.

Penelitian yang dilakukan di China Tenggara oleh Yuan (2010) menyebutkan bahwa adanya *occult* HBV pada darah donor, setelah diperiksa HBV DNANYA, dimana dengan pemeriksaan HBsAg tidak terdeteksi, *Occult* HBV ini dihubungkan dengan ditemukan HBV mutant dan adanya penekanan replikasi virus dan ekspresi gen dan sekresi virus yang rendah (Yuan, 2010).

Penelitian serupa juga dilakukan di Bangladesh oleh Mahtab (2012), dengan menemukan DNA VHB, sedangkan pemeriksaan dengan HBsAg ditemukan negatif. Hal tersebut dideteksi pada 8 dari 20 pasien dengan *cripttogenic* sirosis hati, 2 dari 10 pasien dengan *hepatocellular carcinoma*, dan 2 dari 10 subyek dengan kadar *alanine aminotrasferase* yang meningkat.

Deteksi darah donor yang dilakukan oleh Tas (2012) di Turki juga menemukan pemeriksaan HBsAg yang negatif, tetapi setelah dilakukan pemeriksaan HBV DNA dengan menggunakan *polymerase chain reaction* (PCR), hasilnya adalah, dari 401 HBsAg negatif, ternyata 45 orang mempunyai anti Hbc positif, dengan PCR ditemukan 3 dari 45 darah donor

DNA VHB. Pada penelitian Tas ini, dianjurkan pada darah donor dengan HBsAg negatif diperlukan pemeriksaan Anti HBc terlebih dahulu, kalau perlu dilakukan pemeriksaan HBV DNA, agar darah donor betul betul bebas dari HBV.

Penelitian darah donor dengan HBsAg negatif juga dilakukan di Mesir oleh Badrawy (2013), ternyata 2 dari 7 darah donor dengan anti HBc positif, DNA VHB nya positif. Jadi dianjurkan perlunya pemeriksaan HBV DNA pada darah donor yang anti HBc positif, apalagi kalau titer anti Hbsnya rendah.

Penelitian yang dilakukan oleh Paganelli (2012) menyebutkan bahwa setelah terinfeksi oleh HBV, antibodi terhadap *surface HBV* (Anti HBs) terbentuk pada bulan keenam pasca infeksi atau pada masa pemulihan. Tetapi pada penelitian yang lain menyebutkan dengan terbentuknya anti HBs, ada beberapa kemungkinan, diantaranya adalah pertama pasien sembuh sempurna, kedua HBV masih ada tetapi dalam jumlah yang rendah atau *occult HBV*, selanjutnya adalah superinfeksi HBV dengan HBV mutant. Kondisi tersebut diatas berpotensi untuk penularan HBV, terutama pada pasien yang menerima darah transfusi, juga dapat menular kepada petugas laboratorium yang bekerja tidak mengikuti aturan, sehingga angka kejadian Hepatitis B semakin meningkat.

Penelitian pada darah donor pernah dilakukan oleh Theja (2010) di Institut eijkman, Mahtab (2012) di Bangladesh, Badrawy (2012) di Turki, ternyata dengan darah donor dengan HBsAg negatif, ditemukan DNA VHB . Adanya DNA VHB pada penelitian diatas dihubungkan erat dengan pemeriksaan Anti HBc yang positif. Pemeriksaan Anti HBc memerlukan alat khusus dan tenaga yang terampil untuk melakukannya, sementara pemeriksaan *rapid test* yang tersedia sampai saat ini hanya HBsAg dan Anti HBs.

Berdasarkan hal-hal tersebut diatas, maka perlu dilakukan penelitian tentang pemeriksaan

DNA virus hepatitis B pada darah donor dengan *hepatitis B surface antigen* negatif dan *anti hepatitis B surface* positif dengan tujuan supaya darah donor betul bebas dari VHB.

## 1.2 Rumusan masalah

Berdasarkan uraian dalam latar belakang diatas, dapat dirumuskan masalah penelitian sebagai berikut:

1. Apakah terdapat DNA VHB pada darah donor dengan HBsAg negatif dan anti-HBs positif?
2. Apakah terdapat *occult Hepatitis B* pada darah donor dengan HBsAg negatif dan Anti HBs`positif?

## 1.3 Tujuan Penelitian

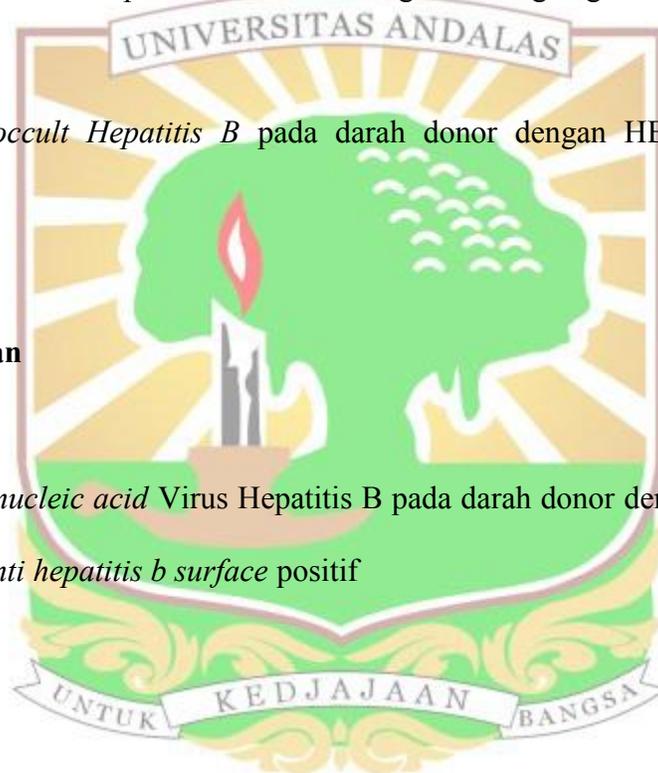
### Tujuan umum:

Mengkaji *desoxyribonucleic acid* Virus Hepatitis B pada darah donor dengan *hepatitis b surface antigen* negatif dan *anti hepatitis b surface* positif

### Tujuan Khusus

1. Untuk mengkaji pemeriksaan DNA VHB pada darah donor dengan HBsAg negatif dan anti HBs positif.
2. Untuk mengkaji pemeriksaan *occult hepatitis B* pada darah donor dengan HBsAg negatif dan Anti HBs`positif.

## 1.4 Manfaat penelitian



### 1.4.1 Ilmu pengetahuan

1. Diharapkan penelitian ini dapat berkontribusi pada pengembangan ilmu pengetahuan pada pemeriksaan DNA VHB pada darah donor dengan HBsAg negatif dan Anti HBs`positif.

### 1.4.2 Praktisi

Diharapkan temuan dalam penelitian ini dapat menjadikan dasar perumusan kebijakan nasional, agar skrining darah donor terutama untuk VHB dilakukan secara molekuler, dan skrining darah yang berdasarkan HBsAg saja dikaji ulang bagi kepentingan masyarakat. Lebih lanjut implikasi ini supaya menjadi informasi yang berharga bagi klinikus agar berhati-hati dalam memberikan transfusi darah dan atau produk darah pada pasien.

### 1.4.3 Manfaat bagi masyarakat

1. Menurunkan angka kesakitan dan kematian akibat HBV, serta membuka kemungkinan pencegahan penularan karena HBV melalui transfusi darah.

