

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Hepatitis B adalah penyakit yang berpotensi mengancam jiwa dengan menyerang hati dan berpeluang memicu terjadinya peradangan hati akut hingga kronis yang disebabkan oleh infeksi virus hepatitis B (Tripathi and Mousa, 2023). Pada tahap akut, infeksi dapat menyebabkan gangguan kesehatan serius ditandai dengan pembengkakan hati, mual muntah, kehilangan nafsu makan, penyakit kuning, demam, serta urin berwarna gelap. Hepatitis B kronis sering berkembang menjadi komplikasi hati, seperti sirosis dan *hepatocellular carcinoma* (HCC) (Wilkins *et al.*, 2019). Virus hepatitis B dapat menular melalui kontak langsung dengan darah atau cairan tubuh yang terinfeksi virus. Penularan juga dapat terjadi dari ibu ke anak saat proses persalinan (Nguyen *et al.*, 2020). Infeksi virus hepatitis B menjadi ancaman terhadap kesehatan global.

Data *World Health Organization* (WHO) pada tahun 2022 mencatat bahwa sebanyak 254 juta orang terinfeksi hepatitis B kronis, dengan 1,2 juta kasus baru muncul setiap tahunnya. Infeksi ini menyebabkan 1,1 juta kematian, sebagian besar akibat sirosis dan karsinoma hepatoseluler (World Health Organization., 2024). Indonesia menjadi salah satu negara terbanyak di dunia dengan penduduk terinfeksi hepatitis B. Prevalensi hepatitis B di Indonesia meningkat dari 0,2% menjadi 0,4% dalam waktu 2013-2018 (Riskesdas, 2018). Berdasarkan data Riskesdas tahun 2018, prevalensi Hepatitis B di Sumatera Barat meningkat dari 0,3% pada tahun 2013 menjadi 0,4% pada tahun 2018 (Riskesdas, 2018).

Virus Hepatitis B (VHB) merupakan virus DNA yang dikategorikan dalam keluarga *Hepadnaviridae* (You *et al.*, 2014). Infeksi Virus Hepatitis B (VHB) terjadi ketika virus berhasil menginvasi sel hati, lalu materi genetik sel virus hepatitis B masuk ke dalam inti sel hati dan memicu pembentukan protein yang menjadi komponen virus tersebut (Karayiannis, 2017). Virus Hepatitis B (VHB) merupakan virus non-sitopatik, yaitu virus yang tidak secara langsung merusak sel inang selama proses replikasi. Kerusakan hati pada infeksi VHB umumnya disebabkan

oleh respons sistem imun yang menyerang sel-sel hati yang telah terinfeksi. Proses yang menyebabkan kerusakan pada organ hati dalam patogenesis infeksi VHB, baik yang bersifat akut maupun kronis, sangat bergantung pada kekuatan respon imun pasien terhadap virus (Hasan and Agustina, 2023).

Deteksi virus Hepatitis B dapat dilakukan dengan metode diagnostik serologis dan molekuler. Deteksi dengan metode serologis digunakan untuk indikator awal dan diagnosis *screening* VHB dengan mendeteksi keberadaan antigen atau antibodi seperti HBsAg, anti-HBc, dan HBeAg (Abbas *et al.*, 2021). Metode pemeriksaan serologis yang umum digunakan yaitu *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) dan Rapid Test (*Point of Care Test* /POCT). Kelebihan deteksi dengan metode serologis adalah cepat dan prosedur yang mudah. Namun, pemeriksaan serologis ini memiliki kelemahan pada kemampuannya yang terbatas hanya mendeteksi antigen atau antibodi, tetapi tidak bisa mengenali keberadaan DNA virus secara langsung, sehingga metode ini kurang efisien ketika mengidentifikasi infeksi Virus Hepatitis B dengan *viral load* yang sedikit. Secara tidak langsung, metode serologis ini memiliki risiko positif palsu akibat reaksi silang dengan protein lain dalam sampel sehingga memengaruhi hasil pengujian tersebut (Ghosh *et al.*, 2015). Untuk memastikan hasil dari tes serologis, mengukur jumlah virus, dan mengidentifikasi genotipe virus hepatitis B maka digunakan teknik deteksi molekuler secara kualitatif dan kuantitatif (Song and Kim, 2016).

Kemunculan kasus infeksi virus Hepatitis B yang tidak terdeteksi melalui pemeriksaan serologis, seperti infeksi HBeAg-negatif dan *occult HBV infection* membutuhkan metode deteksi yang memiliki sensitivitas dan spesifisitas tinggi (Song and Kim, 2016). Metode molekuler mendeteksi Virus Hepatitis B dengan mengidentifikasi DNA virus dari darah, serum, atau jaringan tubuh. Kelebihan metode ini dibandingkan dengan metode serologis adalah kemampuannya dalam mendeteksi DNA VHB secara langsung, sehingga dapat mendeteksi infeksi laten dan kasus yang memiliki *viral load* rendah. Metode molekuler memiliki tingkat sensitivitas dan spesifisitas yang lebih tinggi, sehingga dapat mengurangi risiko positif palsu. Selain itu, metode molekuler juga memberikan data kuantitatif yang berguna untuk memantau pengobatan pasien (Ghosh *et al.*, 2015). Kemajuan dalam

teknologi biologi molekuler seperti *Polymerase Chain Reaction* (PCR), dalam beberapa tahun terakhir telah membawa perkembangan yang signifikan dalam diagnostik molekuler Virus Hepatitis B.

Metode deteksi molekuler dapat digunakan untuk mendeteksi Virus Hepatitis B, seperti *Real-Time* PCR dan *Nested PCR*. *Real-Time* PCR merupakan metode molekuler yang efektif untuk mendeteksi dan mengukur jumlah DNA virus secara kuantitatif, termasuk Virus Hepatitis B. *Real-Time PCR* memiliki sensitivitas dan spesifisitas yang tinggi, sehingga memungkinkan untuk mendeteksi *viral load* yang rendah. Proses deteksi molekuler dengan *Real-Time* PCR melibatkan amplifikasi dan kuantifikasi DNA target secara simultan dalam satu reaksi. Metode ini menggunakan primer spesifik dan probe berlabel fluoresen, yang memungkinkan deteksi serta pengukuran sinyal fluoresen pada setiap siklus amplifikasi secara *Real-Time* (Ghosh *et al.*, 2015). *Nested PCR* merupakan metode PCR dengan menggunakan dua pasang primer sehingga didapatkan DNA target yang lebih spesifik (Anissa *et al.*, 2023). *Nested PCR* merupakan pengembangan dari metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) konvensional yang bertujuan untuk meningkatkan akurasi dan sensitivitas dalam mendeteksi DNA target dengan memanfaatkan dua set primer. Primer pertama atau *outer primer* digunakan pada tahap awal amplifikasi untuk memperbanyak fragmen DNA yang berukuran lebih besar, sedangkan primer kedua atau *inner primer* digunakan pada tahap berikutnya untuk mengamplifikasi fragmen DNA yang lebih kecil dari hasil amplifikasi awal. Pendekatan ini secara efektif mengurangi peluang terjadinya amplifikasi DNA yang tidak spesifik, yang merupakan salah satu kelemahan umum pada PCR standar (Makvandi, 2016). Kelebihan *Nested PCR* terletak pada spesifisitasnya yang tinggi dalam mendeteksi DNA target, pengurangan amplifikasi non-spesifik, kemampuan untuk mendeteksi DNA dalam jumlah kecil, kesesuaiannya untuk sampel yang kompleks, serta aplikasinya yang luas dalam diagnostik, terutama dalam mendeteksi patogen dengan konsentrasi rendah. Keunggulan yang dimiliki *Nested PCR* ini, berbeda dengan *Real-Time PCR* yang memerlukan peralatan khusus untuk pembacaan *fluoresensi*, *Nested PCR* dapat memberikan hasil yang akurat dengan

peralatan PCR konvensional, sehingga lebih ekonomis dan dapat diakses di berbagai fasilitas laboratorium diagnostik.

Beberapa penelitian sebelumnya telah membandingkan uji *Real-Time* PCR dan *Nested PCR* dalam mendeteksi berbagai jenis virus secara molekuler serta mengevaluasi penerapan kedua metode tersebut sebagai tes diagnostik. Sebuah penelitian yang dilakukan oleh Drago *et al* (2004) yang membandingkan *Real-Time* PCR dan *Nested PCR* dalam mendeteksi DNA virus herpes (HSV-1, CMV, dan EBV). Penelitian ini mengungkapkan bahwa sensitivitas dan spesifisitas antara metode *Nested PCR* dan *Real-Time* PCR memiliki tingkat hasil yang hampir sama, tetapi *Real-Time* PCR dianggap lebih unggul karena memiliki kelebihan dalam hal kecepatan, kemampuan deteksi kuantitatif, serta minimnya risiko kontaminasi (Drago *et al.*, 2004). Penelitian oleh Kawada *et al* (2004) mengungkapkan bahwa *Real-Time* PCR dan *Nested PCR* memiliki tingkat sensitivitas yang hampir sama dalam mendeteksi DNA virus herpes simplex (HSV), tetapi *Real-Time* PCR menunjukkan keunggulan seperti pengukuran kuantitatif, proses yang lebih cepat, dan risiko kontaminasi yang lebih rendah. Penelitian ini menunjukkan *Real-Time* PCR memiliki sensitivitas 100% dan spesifisitas 99% dibandingkan *Nested PCR*. Semua sampel positif oleh *Nested PCR* juga terdeteksi positif oleh *Real-Time* PCR, sementara dua sampel negatif pada *Nested PCR* berhasil terdeteksi positif dengan *Real-Time* PCR (Kawada *et al.*, 2004). Selanjutnya, penelitian oleh Jalal *et al* (2021) yang melakukan perbandingan RT-PCR, *Nested PCR*, dan qPCR untuk diagnosis *severe fever with thrombocytopenia syndrome* (SFTS) virus. Hasil penelitian menunjukkan bahwa *Nested PCR* memiliki kemampuan deteksi yang lebih tinggi dan sensitivitas yang lebih unggul dibandingkan metode PCR lainnya, terutama pada sampel yang dikumpulkan selama fase akut dan awal pemulihan. *Single-round* PCR menghasilkan tingkat positif 63% (24/38) dengan sensitivitas 63,9% dan spesifisitas 100%, sementara qPCR memiliki tingkat positif 92,1% (35/38) dengan sensitivitas 94,4% dan spesifisitas 100%. *Nested PCR* unggul dengan tingkat positif 97,3% (37/38), sensitivitas 100%, dan spesifisitas 100%. Analisis kurva ROC menunjukkan bahwa *Nested PCR* memiliki *Area Under the Curve* (AUC) lebih

besar dan sensitivitas yang lebih tinggi dibandingkan metode lainnya (Jalal *et al.*, 2021).

Variasi hasil yang ditemukan dalam berbagai penelitian disebabkan oleh sejumlah faktor, seperti jenis virus yang diuji, kondisi laboratorium, serta jenis primer dan probe yang digunakan. Tingkat kesesuaian antara dua metode diagnostik dapat dianalisis menggunakan koefisien Kappa, yang memberikan gambaran seberapa konsisten hasil yang diperoleh dari kedua metode (McHugh, 2012). Analisis ini memiliki peran penting dalam menilai sejauh mana keselarasan antara *Real-Time* PCR dan *Nested PCR* dalam mendeteksi virus Hepatitis B. Penelitian ini penting dilakukan untuk menentukan apakah *real-time* PCR dan *nested PCR* dapat digunakan secara konsisten dalam mendeteksi virus Hepatitis B. Urgensi penelitian ini semakin besar mengingat virus Hepatitis B merupakan salah satu penyebab utama penyakit hati kronis, termasuk sirosis dan kanker hati, dengan tingkat morbiditas dan mortalitas yang tinggi di seluruh dunia. Berdasarkan latar belakang tersebut, peneliti tertarik untuk meneliti tingkat kesesuaian hasil diagnostik antara *Real-Time* PCR dan *Nested PCR* dalam identifikasi virus Hepatitis B.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan permasalahan yang telah di jelaskan dalam latar belakang, maka rumusan masalah dari penelitian ini adalah “Bagaimana tingkat kesesuaian hasil diagnostik *Real-Time* PCR dan *Nested PCR* dalam mendeteksi virus hepatitis B?”.

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Tujuan umum dari penelitian ini adalah untuk menganalisis kesesuaian yang signifikan antara *Real-Time* PCR dan *Nested PCR* dalam mendeteksi virus hepatitis B.

1.3.2 Tujuan Khusus

- 1) Untuk mengetahui gambaran virus Hepatitis B yang terdeteksi positif dan negatif dengan metode *Real-Time* PCR dan *Nested* PCR pada sampel yang tersedia
- 2) Untuk mengetahui analisis tingkat kesesuaian hasil diagnostik antara *Real-Time* PCR dengan *Nested* PCR

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Bagi Peneliti

Studi ini bermanfaat dalam memberikan wawasan ilmiah mengenai deteksi virus Hepatitis B berbasis PCR dan tingkat kesesuaian antar metode, serta menambah wawasan, pengalaman, dan keterampilan peneliti dalam pelaksanaan penelitian.

1.4.2 Manfaat Bagi Ilmu Pengetahuan

Penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat sebagai bahan informasi peneliti lainnya tentang tingkat kesesuaian dua metode PCR dalam mendeteksi virus Hepatitis B, sehingga dapat memperkaya literatur dan menjadi referensi bagi pengembangan metode diagnostik yang lebih akurat.

1.4.3 Manfaat Bagi Perguruan tinggi

Studi ini bermanfaat sebagai media pengimplementasian Tri Dharma Perguruan Tinggi dan diharapkan meningkatkan reputasi perguruan tinggi dari aspek publikasi ilmiah.

1.4.4 Manfaat Bagi Masyarakat

Penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat bagi masyarakat dengan memberikan informasi mengenai keandalan dua metode PCR dalam mendeteksi virus Hepatitis B.