

**LAPORAN
HIBAH KOMPETITIF PENELITIAN KERJASAMA INTERNASIONAL
DALAM RANGKA PUBLIKASI INTERNASIONAL**

**Analisis Kadar HBeAg dan DNA VHB Pada Penderita
Dengan HBsAg Positif**

KKA
KK
LP. 171 / 110
Ang



MILIK
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA

**Mochamad Amin
Soetjipto
Retno Handajani
Maria Inge L. Lusida
Takako Utsumi**

**Dibiayai oleh Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi, Departemen Pendidikan Nasional
Sesuai dengan surat Perjanjian Pelaksanaan Hibah Kompetitif Penelitian
Untuk Publikasi Internasional Batch II
Nomor : 651/SP2H/PP/DP2M/VII/2009, Tanggal 30 Juli 2009**

**Universitas Airlangga
Desember 2009**

HALAMAN PENGESAHAN

1. **Judul Penelitian** : Analisis kadar HBeAg dan DNA VHB pada penderita dengan HBsAg positif

2. **Ketua Peneliti**

a. **Nama Lengkap** : Mochamad Amin, S.Si
b. **Jenis Kelamin** : Laki-laki
c. **NIP** : 132 296039
d. **Jabatan Struktural** : -
e. **Jabatan fungsional** : Penata Muda /III b
f. **Fakultas/Jurusan** : Fak. Kedokteran
g. **Pusat Penelitian** : Lembaga Penyakit Tropis (LPT-UNAIR)
h. **Alamat** : Jl.Mulyorejo Kampus C Unair
i. **Telpon/Faks** : 031 5992445
j. **Alamat Rumah** : Jl.Jeruk I no.11 Geluran, Taman-Sidoarjo
k. **Telpon/Faks/E-mail** : 0818318039 / amin_tdc@yahoo.co.id

3. **Tim Peneliti**

No	Nama dan Gelar Akademik	Bidang Keahlian	Instansi
1.	Prof. Soetjipto,dr,MS,PhD	Biologi Molekuler	UNAIR
2.	Prof.Retno H, dr.MS,Ph.D	Biologi Molekuler	UNAIR
3.	Maria Inge L., dr,MKes, Ph.D	Mikrobiologi/Virologi	UNAIR
4.	Takoko Utsumi,PhD	Biologi Molekuler	KOBE UNIV.

4. **Jangka Waktu Penelitian**: 1 tahun

5. **Pembiayaan**

Jumlah biaya yang disetujui Dikti : Rp 100.000.000,-

Surabaya, 7 Desember 2009

**Mengetahui,
Ketua ITD-UNAIR**

Ketua Peneliti,

Dr. Naronudin, dr.,Sp.PD.,K-PTI
NIP.: 140 159 073

Mochamad Amin,S.Si
NIP.: 132 296 039

**Menyetujui,
Ketua Lembaga Penelitian dan
Pengabdian kepada Masyarakat,**

Prof. Dr. Bambang Sektiari L.,drh.,DEA
NIP.: 131 837 004

I. Identitas Penelitian

1. Judul Usulan : Analisis kadar HBeAg dan DNA VHB pada penderita dengan HBsAg positif
2. Ketua Peneliti
 - a. Nama lengkap : Mochamad Amin,S.Si
 - b. Bidang keahlian : Biologi
 - c. Jabatan Struktural : -
 - d. Jabatan Fungsional : Penata Muda
 - e. Unit kerja : ITD - UNAIR
 - f. Alamat surat : Jl.Mulyorejo Kampus C Unair
 - g. Telpon/Faks : 031 5992445-6 / 031 5992445
 - h. E-mail : amin_tdc@yahoo.co.id
3. Tim Peneliti .

Tim Peneliti Indonesia

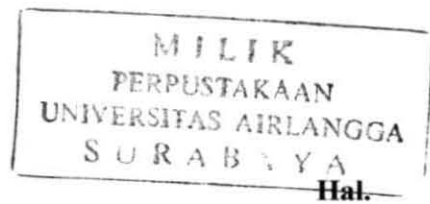
No	Nama dan Gelar Akademik	Bidang Keahlian	Instansi	Alokasi Waktu (jam/minggu)
1.	Prof. Soetjipto, dr,MS,PhD	Biologi Molekuler	UNAIR	5
2.	Prof.Retno H, dr,MS,Ph.D	Biologi Molekuler	UNAIR	10
3.	Maria Inge L. Lusida, dr, MKes, Ph.D	Mikrobiologi Virologi	UNAIR	10

Tim Peneliti Luar Negeri

No	Nama dan Gelar Akademik	Bidang Keahlian	Instansi	Alokasi Waktu (jam/minggu)
1.	Takoko Utsumi,PhD	Biologi Molekuler	KOBE UNIVERSITY	10
2.				

4. Objek penelitian.
Sampel serum dari penderita yang melakukan pemeriksaan di laboratorium ITD UNAIR
5. Masa pelaksanaan penelitian:
 - Mulai : Proposal di terima.
 - Berakhir : 1 tahun
6. Anggaran yang diusulkan:
Jumlah biaya yang dibutuhkan : Rp 250.000.000,-
Jumlah biaya yang disediakan oleh mitra : Rp 50.000.000,-
Jumlah biaya yang diajukan ke Dikti : Rp 200.000.000,-
7. Lokasi penelitian : ITD - UNAIR
8. Hasil yang ditargetkan :
 1. Analisis kadar HBeAg dan DNA VHB pada penderita.
 2. Publikasi Internasional.
9. Institusi lain yang terlibat : Kobe University
10. Keterangan lain yang dianggap perlu -.

DAFTAR ISI



Halaman Pengesahan.....	i
Identitas Penelitian.....	ii
Daftar isi.....	iii
Abstract	v
Prakata.....	vii
Daftar Tabel.....	viii
Daftar Gambar.....	ix
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	2
1.3 Subyek Penelitian.....	3
1.4 Tujuan dan Manfaat Penelitian.....	3
II. STUDI PUSTAKA.....	4
2.1 Epidemiologi Virus Hepatitis B (VHB).....	4
2.2 Struktur Genom Virus Hepatitis B (VHB).....	6
2.3 Transmisi Virus Hepatitis B (VHB).....	8
2.4 Manifestasi Klinis Infeksi Virus Hepatitis B (VHB).....	9
III. METODE PENELITIAN.....	12
3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian.....	12
3.2 Populasi dan Sampel Penelitian.....	12
3.3 Metode Pemeriksaan.....	12
3.3.1 Pemeriksaan dengan Metode ELISA.....	12
3.3.1.1 Pemeriksaan HBsAg.....	12
3.3.1.2 Pemeriksaan HBeAg.....	13
3.3.1.3 Pemeriksaan anti-HBe.....	14
3.3.2 Pemeriksaan DNA VHB.....	14
3.3.2.1 Ekstraksi DNA VHB.....	15
3.3.2.2 Amplifikasi dan Kwantitasi dengan Real-Time PCR 7300.....	17
3.3.2.3 Visualisasi Hasil.....	18

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	19
4.1 Hasil Pemeriksaan HBsAg, HBeAg dan Anti-HBe.....	19
4.1 Hasil Pemeriksaan HBeAg dan Anti-HBe.....	20
4.2 Hasil Pemeriksaan DNA VHB dengan Real Time – PCR.....	21
V. KESIMPULAN DAN SARAN	23
V.1 Kesimpulan.....	23
V.2 Saran.....	24
DAFTAR PUSTAKA	25
LAMPIRAN	27

ABSTRACT

Hepatitis B Virus (HBV) is one of the main causative agents of acute and chronic hepatitis in Indonesia. Indonesia has a moderate to high endemicity of HBV infection. Patients with chronic hepatitis B have a high risk to become liver cirrhosis and or hepatocellular carcinoma.

Hepatitis B surface antigen (HBsAg) has been used as a screening marker for HBV infection. Where as Hepatitis B envelope Antigen (HBeAg) has been classically used as an indicator of an active replication of the virus, infectivity, clinically worse condition and response to therapy. Besides, HBV DNA detection is also another important indicator.

The purpose of this study is to analyze the HBeAg, anti-HBe and HBV DNA of patients with HBsAg positive, for a better understanding the natural history of HBV infection. HBsAg, HBeAg and anti-HBe were detected by ELISA, and Real-Time PCR was used to detect HBV DNA.

Of the 51 serum samples with HBsAg positive, 24 showed HBV DNA positive, consists of 8 (15.69%), 5 (9.80%) and 11 (21.57%) with HBeAg positive/ anti-HBe negative, HBeAg negative/ anti-HBe positive, and HBeAg negative/ anti-HBe negative, respectively. The other 27 showed HBV DNA negative, consists of 2 (3.92%), 18 (35.29%), and 7 (13.73%) with HBe Ag positive/ anti-HBe negative, HBeAg negative/ anti-HBe positive, and HBeAg negative/ anti-HBe negative, respectively. These results showed that HBV DNA (means viremia) could be found in those with HBeAg positive/ anti-HBe negative, HBeAg negative/ anti-HBe positive, and HBeAg negative/ anti-HBe negative, where as HBV DNA negative was mostly 18 (35.29%) found in patients with HBeAg negative/ anti-HBe positive. Several possibilities could play a role, such as: dose of the infection, intensity and frequency of expose to HBV and the duration as HBV carriers. Anti-HBe is not a guarantee of the viral elimination.

Conclusion: This study confirmed 4 phases of the course of (chronic) HBV infection, i.e. immune tolerant, immune clearance, inactive carrier state and reactivation. HBeAg can be negative at the early phase of infection, eventhough HBV DNA has been positive. During anti-HBe positive, HBV DNA can be negative (inactive carrier state) or positive (reactivation phase).

Keyword : Serum, HBeAg, DNA HBV, Patients

Abstrak

Virus hepatitis B merupakan salah satu penyebab penyakit hati akut maupun kronis yang tersebar luas di Indonesia. Indonesia merupakan negara dengan endemisitas infeksi VHB yang cukup tinggi. Infeksi kronis VHB mempunyai resiko tinggi untuk berkembang menjadi sirosis hati dan karsinoma.

Deteksi infeksi VHB yang mudah dilakukan adalah pemeriksaan HBsAg. Mengingat HBeAg digunakan sebagai indeks replikasi virus, tingkat infektivitas, beratnya penyakit dan respon terapi. Selain itu, deteksi kuantitatif dari DNA VHB juga termasuk petanda yang penting.

Penelitian ini bertujuan untuk melakukan analisis kadar HBeAg, anti-HBe dan DNA VHB pada penderita dengan HBsAg positif, untuk menambah pengetahuan dari riwayat infeksi VHB. HBsAg, HBeAg dan anti-HBe dapat dideteksi dengan pemeriksaan ELISA dan pemeriksaan Real-Time PCR untuk mengetahui kadar DNA VHB.

Dari 51 sampel serum dengan HBsAg positif, 24 sampel menunjukkan DNA VHB positif, terdiri dari 8 (15,69%), 5 (9,80%) dan 11 (21,57%) dengan hasil HBeAg positif/ anti-HBe negatif, HBeAg negatif/ anti-HBe positif. Juga 27 sampel menunjukkan DNA VHB negatif, terdiri dari : 2 (3,92%), 18 (35,29%), dan 7 (13,73%) dengan hasil HBeAg positif/ anti-HBe negatif, HBeAg negatif/ anti-HBe positif. Hasil-hasil disini menunjukkan bahwa DNA VHB (*means viremia*) dapat ditemukan dengan HBeAg positif/ anti-HBe negatif, HBeAg negatif/ anti-HBe positif, and HBeAg negatif/ anti-HBe negatif. Mengingat DNA VHB negatif didapatkan penderita terbanyak 18 (35,29%) dengan HBeAg negatif/ anti-HBe positif. Beberapa kemungkinan dapat disebabkan oleh dosis dari infeksi, intensitas dan frekuensi dari pemaparan VHB dan lama dari pengidap VHB. Anti-HBe tidak menjamin dari virus tereliminasi.

Kesimpulan: Dari hasil analisis 4 kelompok hasil didapatkan adanya sampel serum dalam fase infeksi virus hepatitis B (Kronik) seperti *immune tolerant*, *immune clearance*, *inactive carrier state and reactivation*. HBeAg dapat negatif pada fase awal infeksi, meskipun DNA VHB dapat positif. Selama anti-HBe positif, DNA VHB dapat negatif (*inactive carrier state*) atau positif (*reactivation phase*).

Kata kunci : Serum, HBeAg, DNA VHB, Penderita

PRAKATA

Dengan memanjatkan Puji syukur ke hadirat Allah SWT. atas rahmat-Nya penelitian yang berjudul “Analisis kadar HBeAg dan DNA VHB pada penderita dengan HBsAg positif” ini dapat diselesaikan.

Dalam pelaksanaan penelitian ini kami menghaturkan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Rektor Universitas Airlangga atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan selama pelaksanaan penelitian ini.
2. Ketua Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat (LPPM) Unair Prof. Dr. Bambang Sektiari Lukiswanto, DEA., drh atas kesempatan, segala fasilitas dan bantuan yang diberikan selama pelaksanaan penelitian ini.
3. Kepala *Institute of Tropical Diseases* (ITD) Unair Surabaya, Dr.dr.Nasronudin,Sp.PD-KPTI atas ijin, bantuan dan fasilitas yang diberikan selama pelaksanaan penelitian ini.
4. Ketua kelompok studi hepatitis, Lab.Hepatitis *Institute of Tropical Diseases* (ITD) Unair Surabaya, Prof.Soetjipto,dr.,MS.,Ph.D atas ijin, bantuan dan fasilitas yang diberikan selama pelaksanaan penelitian ini.
5. Prof. Retno Handajani, dr., MS., Ph.D dan dr. Maria Inge Lusida., M.Kes., Ph.D., Sp.MK atas kerjasama, bimbingan dan arahan dalam pelaksanaan penelitian ini.
6. Mitra kerjasama internasional, Mrs.Takako Utsumi,Ph.D atas kerjasama, bimbingan dan arahan dalam pelaksanaan penelitian ini.
7. Semua staf *Institute of Tropical Diseases* (ITD) Unair Surabaya, Ibu Koen Pudjiati atas bantuan dan kerjasamanya.
8. Berbagai pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu yang telah membantu pelaksanaan penelitian ini.

Semoga Allah SWT. Membalas semua kebaikan-kebaikan ini.

Surabaya, Desember 2009

Penulis

DAFTAR TABEL

	Hal
Tabel 1. Jenis kelamin dan rata-rata umur dari 150 sampel serum.....	19
Tabel 2. Hasil pemeriksaan HBsAg dari 150 sampel serum.....	20
Tabel 3. Hasil pemeriksaan HBeAg dan anti-HBe dengan HBsAg positif.....	20
Tabel 4. Hasil deteksi DNA VHB pada sampel sera dengan HBsAg positif.....	21
Tabel 5. Hasil pemeriksaan HBeAg dan anti-HBe terhadap DNA VHB.....	22

DAFTAR GAMBAR

	Hal
Gambar 1 : Geografi infeksi virus hepatitis B	5
Gambar 2 : Genom virus hepatitis B.....	7
Gambar 3: Struktur protein permukaan.....	7
Gambar 4. Gambaran serologis selama infeksi virus hepatitis B.....	8
Gambar 5. Gambaran serologis dari infeksi virus hepatitis B kronis.....	9

BAB I. PENDAHULUAN



I.1. Latar belakang

Virus hepatitis B (VHB) merupakan suatu masalah kesehatan masyarakat global yang serius. Sekitar dua milyar penduduk dunia telah terinfeksi virus hepatitis B (WHO, 2000). Infeksi VHB dikaitkan dengan spektrum klinis yang luas, mulai dari status pengidap asimtomatik, hepatitis akut dan hepatitis fulminan hingga berbagai bentuk infeksi kronik termasuk hepatitis B kronik, sirosis hepatitis dan karsinoma hepatoselular. Lebih dari 350 juta orang diperkirakan menjadi pengidap virus hepatitis B (HBV) (Kao et al., 2002).

Indonesia merupakan daerah endemis tingkat sedang dari infeksi virus hepatitis B (VHB). Telah dilaporkan bahwa pengidap VHB pada donor darah di sebelas kota besar di Indonesia berkisar 2,1% sampai 9,5% , dan di Propinsi Papua sebesar 10,5% (Lusida M.I., et.al.2008).

Metode ELISA adalah suatu teknik yang sensitive untuk deteksi HBsAg dengan sensitivitas yang semakin meningkat. Pemakaian metode untuk uji saring HBsAg dengan sensitivitas yang semakin meningkat telah berhasil menurunkan terjadinya hepatitis B akibat transfusi darah di Inggris menjadi 1:50.000-170.000 dan di Amerika Serikat menjadi 1:63.000. Namun demikian, secara teoritis transmisi hepatitis B masih mungkin terjadi apabila pendonor darah sedang berada pada *window phase*. Hasil negatif palsu juga bisa terjadi apabila pendonor darah merupakan pengidap dengan level HBsAg rendah, sehingga HBsAg tidak terdeteksi oleh metode uji saring dengan tingkat sensitivitas tertentu (Regan et al., 2000).

HBeAg tidak ikut membentuk virus utuh, tidak berperan pada proses replikasi, virus tetapi disekresi langsung dari hepatosit ke dalam serum. Dalam klinik HBeAg digunakan sebagai indeks replikasi virus, tingkat infektivitas, beratnya penyakit dan respon terapi. Antigen ini muncul pada minggu 3 – 6 paska infeksi yang merupakan periode yang paling infeksius. Pada kasus-kasus hepatitis B akut yang *self limited*, HBeAg akan hilang segera setelah puncak meningkatnya kadar

SGPT, sebelum hilangnya HBsAg dan selanjutnya akan muncul anti HBe. Persistensi HBeAg positif lebih dari 10 minggu menunjukkan adanya penyakit yang progresif menuju kronis (CDC, 2002).

DNA VHB bisa ditemukan dalam 30 hari pasca infeksi, dengan puncaknya pada 6 minggu. Pemeriksaan DNA VHB dilakukan dari sampel serum maupun sel-sel hepar, baik secara kualitatif maupun kuantitatif. Pemeriksaan DNA VHB kuantitatif di dalam serum penting dan dapat digunakan mengetahui aktifitas penyakit, efektifitas obat antiviral, memprediksi hasil terapi antiviral, deteksi dini timbulnya resistensi serta menentukan adanya *occult hepatitis*. Mula-mula metode yang digunakan untuk pemeriksaan DNA VHB kuantitatif adalah hibridisasi dengan sensitifitas sekitar 5×10^5 kopi/ml, selanjutnya digunakan metode PCR yang mampu mendeteksi 300 kopi/ml. Karena belum adanya keseragaman dalam hal satuan yang dipakai, WHO menyarankan penggunaan IU/ml, dengan $1 \text{ IU/ml} = 5\text{-}6 \text{ kopi/ml}$ (CDC, 2002).

Institute of Tropical Disease (ITD) Universitas Airlangga telah merintis usaha dalam membantu menanggulangi permasalahan kesehatan di Indonesia dengan menjalin kerjasama penelitian dengan berbagai institusi dari dalam maupun luar negeri. Kerjasama penelitian tersebut dimanfaatkan untuk memperoleh data tentang kejadian, penularan dan penanggulangan penyakit seperti penyakit hepatitis yang ada di Indonesia.

Dengan demikian sebagai upaya memberikan kontribusi keilmuan, dirasakan perlu untuk dilakukan analisis kadar HBeAg dan DNA VHB pada penderitanya dengan HBsAg positif di Surabaya, Indonesia.

I.2. Rumusan masalah

Berdasarkan hal tersebut di atas, maka dapat dirumuskan masalah sebagai berikut :

1. Bagaimana analisis kadar HBeAg dan DNA VHB pada penderita dengan HBsAg Positif?

I.3. Subyek Penelitian

Subyek penelitian ini adalah koleksi sampel serum yang diperoleh dari penderita yang melakukan pemeriksaan dilaboratorium ITD UNAIR. Serum disimpan dalam *freezer* - 80°C sampai siap dikerjakan. Pemeriksaan dilakukan dilaboratorium Hepatitis, Institute of Tropical Disease (ITD) Unair Surabaya.

I.4. Tujuan dan manfaat penelitian

I.4.1. Tujuan Penelitian

I.4.1.1. Tujuan Umum

Penelitian ini bertujuan untuk melakukan analisis kadar HBeAg dan DNA VHB pada penderita dengan HBsAg positif.

I.4.1.1. Tujuan Khusus

1. Mengetahui hasil HBsAg positif pada sampel serum penderita.
2. Mengetahui hasil HBeAg positif sampel serum pada penderita.
3. Mengetahui kadar DNA VHB sampel serum pada penderita.
4. Melakukan analisis kadar HBeAg dan DNA VHB sampel serum pada penderita.

I.4.2. Manfaat Penelitian.

Dari hasil Analisis kadar HBeAg dan DNA VHB pada penderita dengan HBsAg positif, pada sampel serum dalam penelitian ini, diharapkan dapat bermanfaat untuk :

1. Menambah khasanah pengetahuan tentang kadar HBeAg dan DNA VHB pada penderita hepatitis.
2. Mengetahui tentang kadar HBeAg dan DNA VHB untuk monitor terapi pada penderita hepatitis.
3. Memberikan tambahan pertimbangan pemeriksaan pada pasien baru penderita hepatitis.

BAB II. STUDI PUSTAKA

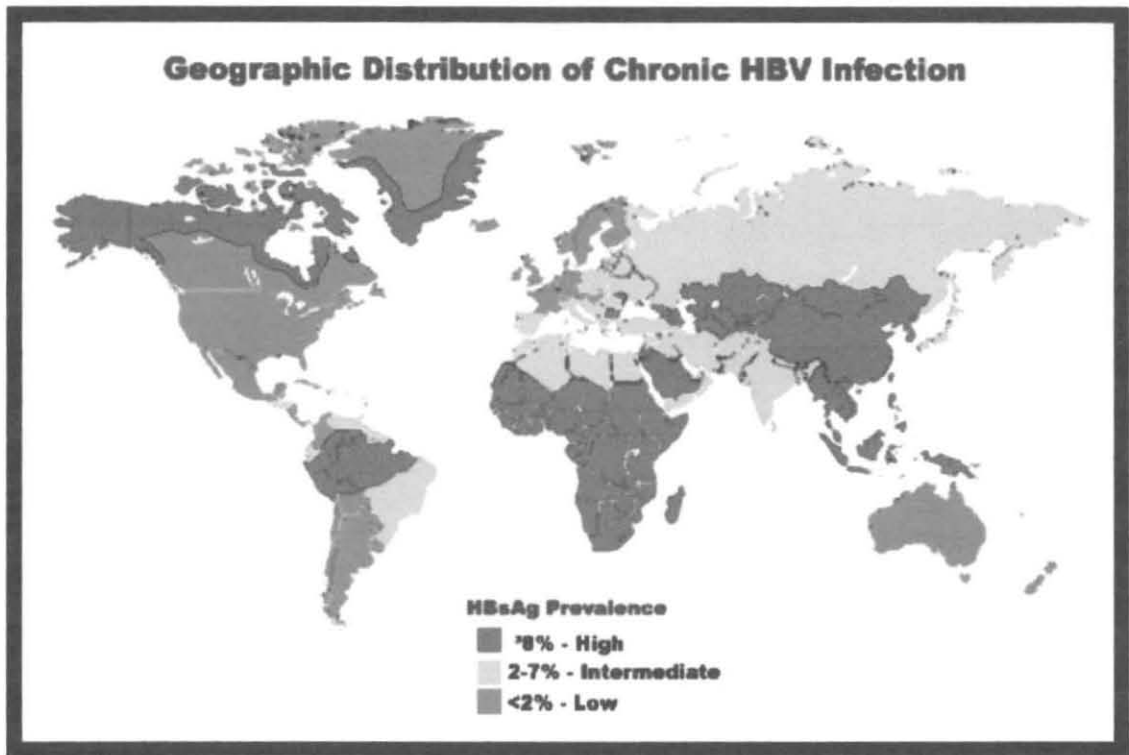
II.1. Epidemiologi HBV

Hepatitis B merupakan salah satu dari beberapa penyakit utama manusia dan merupakan masalah kesehatan masyarakat global yang serius. Sekitar dua milyar orang (WHO, 2000) yang mencakup lebih dari sepertiga penduduk dunia telah terinfeksi virus hepatitis B. Lebih dari 350 juta orang di antaranya menjadi pengidap virus hepatitis B (Zuckerman, 1999) yang sebagian besar berada di Asia atau Afrika (Horvat & Tegtmeier, 2003). Sekitar seperempat dari pengidap tersebut berkembang menjadi hepatitis B kronik aktif. Di seluruh dunia, sekitar satu juta kematian terjadi setiap tahunnya karena sirosis hepatis dan karsinoma hepatoseluler yang berkaitan dengan infeksi virus hepatitis B (Brooks *et al.*, 2004).

Persentase pengidap virus hepatitis B pada populasi mulai kurang dari 2% di area dengan tingkat endemisitas rendah hingga lebih dari 8% sampai 20% di area dengan tingkat endemisitas tinggi (Kordi & Wallace, 2004). Di berbagai negara, angka pengidap virus hepatitis B berkaitan dengan modus transmisi yang predominan dan umur pada saat mendapatkan infeksi (Horvat & Tegtmeier, 2003).

Indonesia merupakan daerah endemis tingkat sedang dari infeksi virus hepatitis B (VHB). Telah dilaporkan bahwa pengidap VHB pada donor darah di sebelas kota besar di Indonesia berkisar 2,1% sampai 9,5% , dan di Propinsi Papua sebesar 10,5%. (Lusida M.I.,*et.al.*2008).

Envelope virus hepatitis B mengandung protein yang disebut antigen permukaan (HBsAg) (Levinson & Jawetz, 2003) yang terdiri dari tiga polipeptida. Protein yang kecil disandi oleh regio S dari gen S dan terdiri dari 226 polipeptida asam amino (24 kilo Dalton (kDa)) dan bentukan glikosilasinya (27 kDa). Protein yang sedang disandi oleh regio pre-S2 dan S dari gen S dan mengandung sebuah tempat glikosilasi tambahan pada regio pre-S2. Polipeptida yang besar mengandung 389-400 asam amino yang disandi oleh regio *pre-S1*, *pre-S2* dan *S* dari gen *S*, namun umumnya kehilangan tempat glikosilasi *pre-S2* (Horvat & Tegtmeier, 2003).



Gambar 1 : Geografi infeksi virus hepatitis B. (CDC,2003).

HBeAg tidak ikut membentuk virus utuh, tidak berperan pada proses replikasi, virus tetapi disekresi langsung dari hepatosit ke dalam serum. Dalam klinik HBeAg digunakan sebagai indeks replikasi virus, tingkat infektivitas, beratnya penyakit dan respon terapi. Antigen ini muncul pada minggu 3 – 6 pasca infeksi yang merupakan periode yang paling infeksius. Pada kasus-kasus hepatitis B akut yang ”*self limited*”, HBeAg akan hilang segera setelah puncak meningkatnya SGPT, sebelum hilangnya HbsAg dan selanjutnya akan muncul anti Hbe. Persistensi HBeAg positif lebih dari 10 minggu menunjukkan adanya progresi penyakit menuju kronis (CDC, 2002).

HBV DNA bisa ditemukan dalam 30 hari pasca infeksi, dengan puncaknya pada 6 minggu. Pemeriksaan HBV DNA dilakukan dengan sampel dari serum dan sel-sel hepar, pemeriksaan tersebut dilakukan secara kualitatif maupun kuantitatif. Pemeriksaan HBV DNA kuantitatif di dalam serum penting dalam rangka mengetahui aktifitas penyakit, efektifitas obat antiviral,



Figure 1. The Global Distribution of HIV-1 Subtypes (UNAIDS, 2005)

HIV-1 subtype distribution varies significantly between regions. In sub-Saharan Africa, CRF01_AG is the dominant subtype, while in East Asia, CRF07_BC is the dominant subtype. In Europe and North America, CRF01_AG is the dominant subtype, while in the Caribbean, CRF02_AG is the dominant subtype. The distribution of HIV-1 subtypes is influenced by a variety of factors, including migration, trade, and social networks. The spread of HIV-1 from Africa to other parts of the world is thought to have occurred in several waves, with the first wave occurring in the 1960s and the second wave occurring in the 1970s. The spread of HIV-1 from Europe to other parts of the world is thought to have occurred in the 1980s and 1990s. The spread of HIV-1 from North America to other parts of the world is thought to have occurred in the 1990s and 2000s.

HIV-1 subtype distribution is also influenced by social and cultural factors. In sub-Saharan Africa, where HIV-1 prevalence is high, there is a strong emphasis on family and community ties. This may contribute to the spread of HIV-1, as individuals may be more likely to engage in high-risk behaviors. In East Asia, where HIV-1 prevalence is lower, there is a strong emphasis on social harmony and respect for authority. This may contribute to the spread of HIV-1, as individuals may be more likely to engage in high-risk behaviors. In Europe and North America, where HIV-1 prevalence is high, there is a strong emphasis on individualism and personal freedom. This may contribute to the spread of HIV-1, as individuals may be more likely to engage in high-risk behaviors.

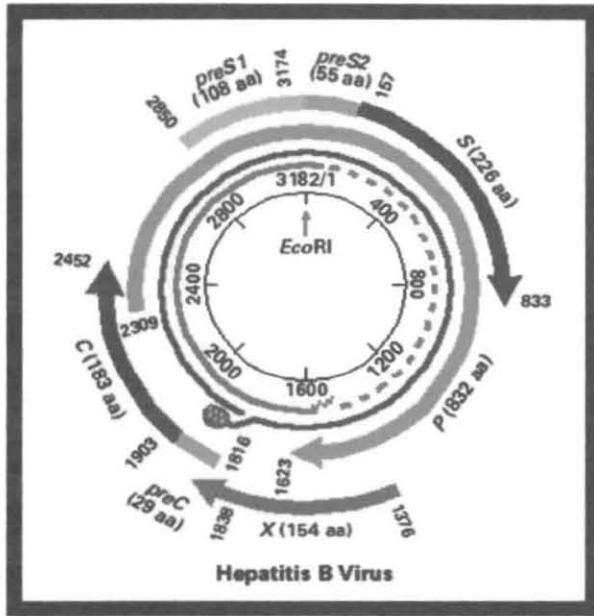
memprediksi hasil terapi antiviral, deteksi dini timbulnya resistensi serta menentukan adanya “occult hepatitis”. Mula-mula metode yang digunakan adalah hibridisasi dengan sensitifitas sekitar 5×10^5 kopi/ml, selanjutnya digunakan metode PCR yang mampu mendeteksi 300 kopi/ml. Karena belum adanya keseragaman dalam hal cara pemeriksaan dan hasil, WHO menyarankan penggunaan IU/ml, dengan $1 \text{ IU/ml} = 5\text{-}6 \text{ kopi/ml}$ (CDC, 2002).

II.2. Struktur Genom Virus Hepatitis B

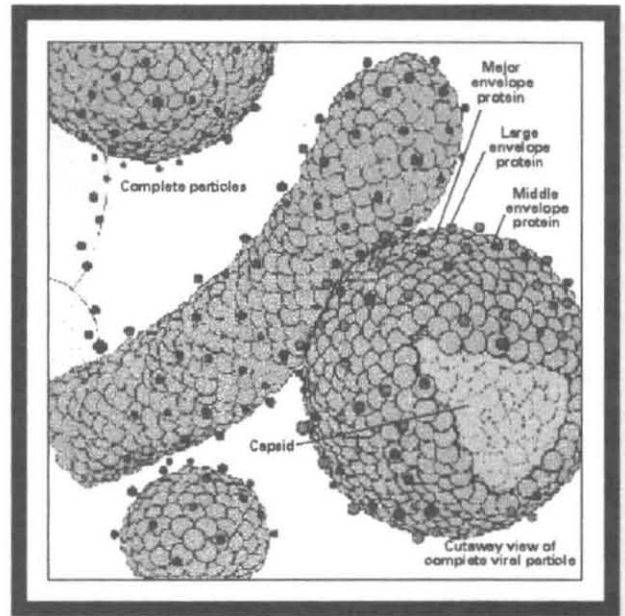
Virus hepatitis B (VHB) merupakan virus penyebab hepatitis akut dan kronis yang tersebar luas di dunia. Jumlah penderita carrier infeksi VHB yang kronis lebih dari tiga ratus lima puluh juta dari penduduk di dunia. Infeksi kronis VHB diperkirakan terjadi pada 5% - 10% penderita VHB dewasa dan penderita ini mempunyai resiko tinggi (lebih dari seratus kali) untuk berkembang menjadi karsinoma hepatoselular. Dari data penelitian yang ada, VHB merupakan 80% penyebab karsinoma hepatoselular (KHS) dimana KHS ini merupakan kanker hati terbanyak di dunia (Bonino, 1992; Kao et al., 2002; Lusida M.I. et.al.,2008).

Virus hepatitis B adalah sebuah virus *deoxyribonucleic acid* (DNA) yang merupakan prototipe dari famili *Hepadnaviridae*. Virion virus hepatitis B berdiameter 42 nanometer (nm), ber-*envelope*, dengan nukleokapsid ikosa-hedral. Di dalam *core* virus hepatitis B terdapat polimerase DNA yang tergantung DNA, genom DNA sirkuler utas ganda sebagian (Levinson & Jawetz, 2003), yang terdiri dari 3.200 basa, *Hepatitis B e Antigen* (HBeAg) dan *Hepatitis B core Antigen* (HBcAg) (Horvat & Tegtmeier, 2003).

Petanda serologis untuk infeksi VHB yang sedang aktif adalah antigen dari daerah genom S (surface) VHB (HbsAg) (Bonino,1992).



Gambar 2 : Genom virus hepatitis B (CDC,2003).

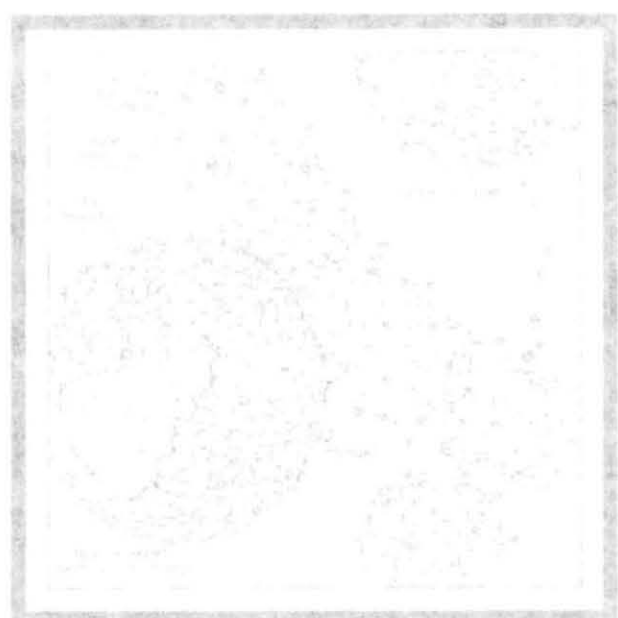


Gambar 3: Struktur protein permukaan (CDC, 2003)

Envelope virus hepatitis B mengandung protein yang disebut antigen permukaan (HBsAg) (Levinson & Jawetz, 2003) yang terdiri dari tiga polipeptida. Protein yang kecil disandi oleh regio S dari gen S dan terdiri dari 226 polipeptida asam amino (24 kilo Dalton (kDa)) dan bentuk glikosilasinya (27 kDa). Protein yang sedang disandi oleh regio pre-S2 dan S dari gen S dan mengandung sebuah tempat glikosilasi tambahan pada regio pre-S2. Polipeptida yang besar mengandung 389-400 asam amino yang disandi oleh regio pre-S1, pre-S2 dan S dari gen S, namun umumnya kehilangan tempat glikosilasi pre-S2 (Horvat & Tegtmeier, 2003).



Gambar 2. Contoh siklus sel pada hewan (CPT, 2003)



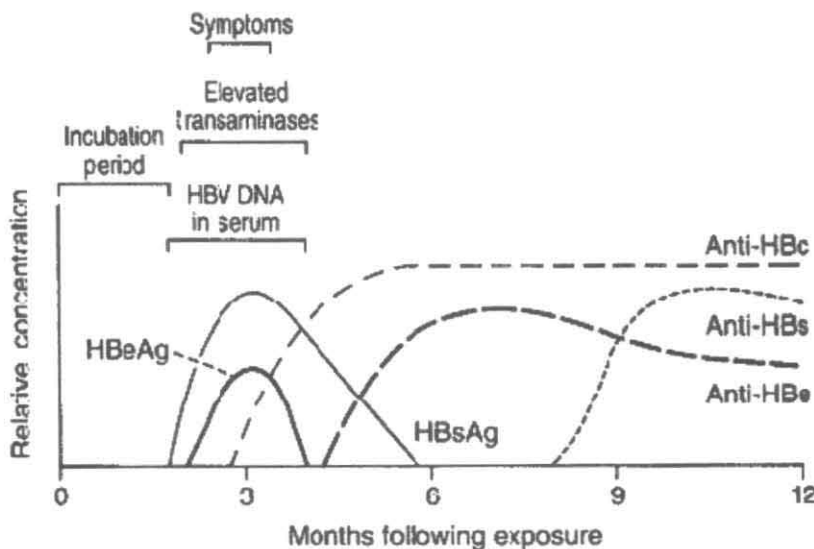
Gambar 3. Struktur protein perlekatan (CPT, 2003)

Analisis selisih protein B menunjukkan 8 protein yang disebut antigen perlekatan (APs). Di antara 8 protein yang terdapat dalam polipeptida protein yang kecil disebut oleh kelas 2 dan 3 dan terdiri dari 50 polipeptida asam amino (31 tipe) (Liu dan kawan-kawan, 1997). Protein yang sedang dibahas oleh artikel ini adalah protein yang mengikat ke bagian tengah ribosom tumbuhan pada tingkat polipeptida yang berkisar antara 180-100 asam amino yang disebut oleh penulis sebagai kelas 2 dan 3. Protein yang mengikat ke bagian tengah ribosom tumbuhan (APs) adalah (CPT dan kawan-kawan, 2003).

II.3. Transmisi VHB

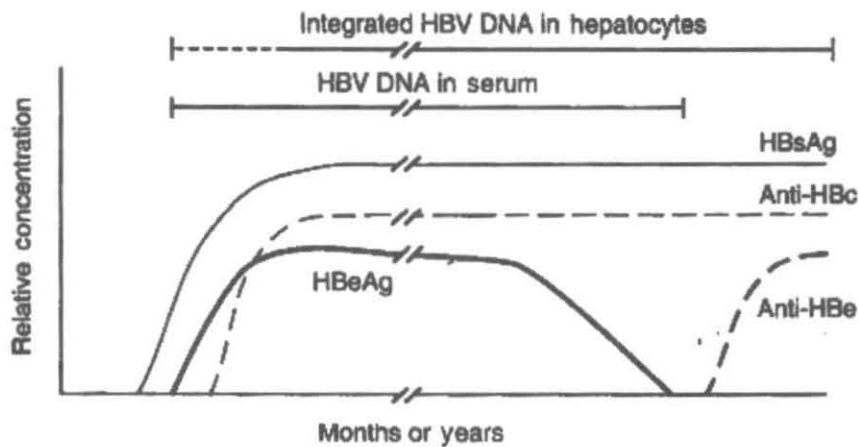
Virus hepatitis B ditransmisikan melalui paparan transkutan atau permukosal terhadap darah atau cairan tubuh individu yang mengalami infeksi virus hepatitis B akut atau kronik. Konsentrasi tertinggi virus hepatitis B berada di darah, sementara itu konsentrasi sedang berada di semen, cairan vagina dan saliva (CDC, 2003). Tiga modus transmisi hepatitis B adalah melalui darah, hubungan seksual dan secara vertikal dari ibu kepada bayinya selama periode perinatal (Levinson & Jawetz, 2003; dan Hou *et al.*, 2005). Pengguna obat-obatan secara intravena dan penerima transfusi darah, termasuk pasien hemodialisis merupakan kelompok risiko tinggi (Levinson & Jawetz, 2003).

Virus hepatitis B merupakan bentuk Hepatitis yang lebih serius dibandingkan dengan jenis hepatitis B lainnya. Penderita dapat terjadi di setiap orang dari semua umur. Ada beberapa hal yang dapat menyebabkan virus Hepatitis B menyebar. Vertikal, cara penularan vertikal terjadi dari ibu yang kontak dengan virus Hepatitis B kepada bayi yang lahir pada saat persalinan atau segera setelah melahirkan. Horizontal, dapat terjadi sebagai akibat dari sebuah alat suntik tercemar, tindik telinga, alat potong rambut, alat tatto, transfusi darah, penggunaan pisau cukur dan sikat gigi bersama-sama dan hubungan seksual dengan pengidap Hepatitis B. (CDC, 2005).



Gambar 1. Gambaran serologis selama infeksi virus hepatitis B. (Tim J. Harrison, dkk, 2004).

Mengikuti perjalanan infeksi virus hepatitis B, penanda pertama yang nampak dalam peredaran adalah HBsAg, dimana dapat ditemukan 2– 8 minggu sebelum bukti kerusakan hati atau demam kuning. Selanjutnya untuk mengetahui penanda virion, seperti aktivitas virus-specific DNA polymerase dan DNA virus. Dua sampai empat minggu setelah HBsAg, anti-HBc dapat terdeteksi dan persisten selama infeksi dan setelah fase kesembuhan. (Tim J. Harrison, dkk, 2004).



Gambar 2. Gambaran serologis dari infeksi virus hepatitis B kronis dengan serokonversi. (Tim J. Harrison, dkk, 2004).

Didalam infeksi akut pemeriksaan virus dengan melihat penanda dari seroconversion, dengan menghilangnya HBeAg dan munculnya anti bodi (anti-HBe). Kemudian, selama fase pemulihan, HBsAg juga nampak dengan produksi anti-HBs. (Tim J. Harrison, dkk, 2004).

II.4. MANIFESTASI KLINIS INFEKSI VHB

Sebagian besar orang dewasa yang terinfeksi VHB akan menderita sakit yang akut, dengan gejala klinis mulai dari yang asimpomatik atau ringan, seperti terkena infeksi H Influenza sampai gejala infeksi hepatitis yang berat. Sebagian besar penderita akan sembuh total secara spontan dalam waktu 6 bulan, walaupun sebagian kecil akan berkembang menjadi infeksi fulminant yang fatal. Sekitar 10% penderita yang terinfeksi VHB ketika dewasa dan 90% penderita yang terinfeksi VHB

diwaktu bayi akan menjadi *carrier* yang kronis. Sebagian besar penderita yang terinfeksi VHB kronis ini terdeteksi secara kebetulan pada waktu pemeriksaan darah yang rutin. Gambaran klinis penderita yang terinfeksi VHB kronis bermacam-macam. Pada *healthy carrier*, dapat tanpa gejala, tanpa replikasi VHB maupun tanpa gangguan faal hepar. Selain itu dapat pula infeksi kronis VHB berkembang menjadi sirosis hati bahkan menjadi karsinoma hepatoseluler (Bonino , 1992)

II.4.1. Tahap replikasi virus disertai dengan toleransi immunologis.

Fase ini karakteristik dengan tingginya kadar HbsAg, anti HBc, DNA-HBV dan HbeAg, disertai kadar *alanine amino transferase* (ALT) yang masih normal, menunjukkan belum adanya *necroinflammation* dari hati. Fase ini dapat berlangsung dari beberapa minggu sampai 10 tahun, sampai hilangnya toleransi immunologis. Pada fase ini HbeAg menghilang secara spontan dan terjadi dalam jumlah yang lebih besar 10% sampai 20%(Bonino,1992: Sulaiman 2000).

II.4.2. Tahap replikasi virus disertai eliminasi immunologis.

Fase ini juga disebut fase serokonversi, yang karakteristik dengan kadar HBsAg, DNAVHB, HBeAg dan atau anti-HBeAg dan kenaikan kadar ALT yang masih persisten. Pada saat ini dapat terjadi fluktuasi viremia, sehingga terjadi pula fluktuasi kadar ALT dan titer IgM anti-HBc. Hal ini merupakan usaha respon imun untuk menghilangkan VHB yang menginfeksi hepatosit. Bila efisien, akan terjadi kesembuhan, bila tidak efisien dalam waktu 6 bulan, akan terjadi VHB yang kronis. Beberapa penderita yang meninggal pada tahap penyakit hati kronis ini (karena sirosis atau karsinoma). Usaha pembersihan dari semua hepatosit yang terinfeksi sering menyebabkan meningkatnya kadar ALT yang kemudian diikuti dengan menurunnya kadar DNA VHB dan IGM anti-HBc ke kadar yang tidak terdeteksi (Bonino, 1992).

II.4.3. Tahap integrasi / non-replikasi virus atau periode laten.

Pada kondisi ini HBsAg tetap ada, tetapi tidak ada bukti-bukti bahwa VHB masih ber-replikasi secara aktif maupun tanda-tanda hepatitis. Dengan diperantarai oleh system kekebalan tubuh, adusaha tubuh untuk menghilangkan virus yang menginfeksi sel, sehingga apabila replikasi VHB dapat berhenti, HBeAg akan menghilang walaupun HBsAg masih ada. Setiap tahun 1 – 2% penderitanya pada tahap ini akan hilang HBsAg nya dan timbul anti-HBsnya. Kecepatan hilangnya HBsAg nampaknya ditentukan oleh lamanya infeksi. Penderita yang terinfeksi VHB kurang dari 2 tahun, nampaknya akan hilang HBsAgnya bila periode serokonversi ini sukses. Bila infeksi sudah terjadi lama DNA VHB yang berintegrasi dengan sel sudah banyak, maka hilangnya HBsAg ini hanya sedikit. Hepatosit yang berintegrasi dengan sekuen VHB tidak mengekspresikan protein nukleokapsid dan kehilangan kemampuan lisis imun. Penderita dengan infeksi laten dan sirosis mempunyai resiko untuk berkembang menjadi karsinoma hepatoseluler. (Bonino, 1992, Sulaiman 2000)

II.4.4. Tahap kekebalan tubuh.

Pada tahap ini HBsAg telah menghilang dan timbul antibody terhadap HBsAg yang merupakan petanda kekebalan terhadap VHB. Penderita dengan HBsAg yang menghilang mempunyai prognosis yang lebih baik daripada HBsAg tidak menghilang, namun penderita dengan HBsAg yang menghilang ini tidak menyingkirkan kemungkinan perkembangan kearah sirosis atau karsinoma hepatoseluler (Bonino, 1992, Sulaiman 2000)

BAB III. METODE PENELITIAN

III.1. Rancangan Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian observasional deskriptif (Friedman, 1993).

Ditinjau dari aspek waktu pengumpulan data, penelitian ini termasuk rancangan penelitian *cross sectional*.

III.2. Populasi dan Sampel Penelitian

III.2.1 Populasi Penelitian

Populasi penelitian adalah sampel darah dari penderita yang melakukan pemeriksaan di laboratorium ITD Unair.

III.2.2. Sampel Penelitian

Sampel penelitian adalah koleksi 150 sampel serum terakhir dari penderita yang selanjutnya disimpan pada suhu -80°C sampai jumlah sampel serum penelitian mencukupi, maka dilakukan pemeriksaan lebih lanjut.

III.3. Metode Pemeriksaan

III.3.1. Pemeriksaan dengan metode ELISA

III.3.1.1 Pemeriksaan HBsAg

Pemeriksaan HBsAg dilakukan dengan menggunakan metode *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA) kit dari Institute of Immunology Japan. Prosedur pemeriksaan dilakukan sesuai dengan petunjuk pada kit tersebut.

Prosedur pemeriksaan HBsAg :

Sumuran mikropate yang berlabel antigen ditandai dengan menyesuaikan urutan kontrol positif, kontrol negatif. Sampel yang akan dikerjakan kemudian ditambahkan $50\mu\text{l}$

kontrol positif, 50µl kontrol negatif kecuali yang akan digunakan sebagai blanko. Mikroplate ditutup dengan penutup plate kemudian diinkubasi selama 2 jam dengan suhu 37°C. Selesai inkubasi dicuci dengan 300µl *wash buffer* sebanyak 5 kali. Dimasukkan 100 µl enzim yang dilabel antibodi dan diinkubasi selama 2 jam dengan suhu 37°C. Selesai diinkubasi dicuci dengan 300µl *wash buffer* sebanyak 5 kali, kemudian dimasukkan 100 µl enzim substrat (khromogen) dan inkubasi 30 menit dengan suhu 37°C pada ruang gelap. Selanjutnya ditambahkan 50 µl stop solution dan dibaca dengan menggunakan ELISA *reader* pada panjang gelombang 450 nm.

III.3.1.2 Pemeriksaan HBeAg

Pemeriksaan kadar HBeAg dilakukan dengan menggunakan metode *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA) kit dari Institute of Immunology Japan. Prosedur pemeriksaan dilakukan sesuai dengan petunjuk pada kit tersebut.

Prosedur pemeriksaan HBeAg :

Sumuran mikroplate yang berlabel antigen ditandai dengan menyesuaikan urutan kontrol positif, kontrol negatif. Sampel yang akan dikerjakan kemudian ditambahkan 50µl kontrol positif, 50µl kontrol negatif kecuali yang akan digunakan sebagai blanko. Mikroplate ditutup dengan penutup plate kemudian diinkubasi selama 2 jam dengan suhu 37°C. Selesai inkubasi dicuci dengan 300µl *wash buffer* sebanyak 5 kali. Dimasukkan 100 µl enzim yang dilabel antibodi dan diinkubasi selama 2 jam dengan suhu 37°C. Selesai diinkubasi dicuci dengan 300µl *wash buffer* sebanyak 5 kali, kemudian dimasukkan 100 µl enzim substrat (khromogen) dan inkubasi 30 menit dengan suhu 37°C pada ruang gelap. Selanjutnya ditambahkan 50 µl stop solution dan dibaca dengan menggunakan ELISA *reader* pada panjang gelombang 490 nm.

III.3.1.3 Pemeriksaan anti-HBe

Pemeriksaan kadar anti-HBe dilakukan dengan menggunakan metode *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA) kit dari Institute of Immunology Japan. Prosedur pemeriksaan dilakukan sesuai dengan petunjuk pada kit tersebut.

Prosedur pemeriksaan anti-HBe :

Sumuran mikropate yang berlabel antigen ditandai dengan menyesuaikan urutan kontrol positif, kontrol negatif. Sampel yang akan dikerjakan kemudian ditambahkan 50µl kontrol positif, 50µl kontrol negatif dan ditambahkan 50µl anti-HBe inhibisi setiap sumuran kecuali yang akan digunakan sebagai blanko. Mikropate ditutup dengan penutup plate kemudian diinkubasi selama 2 jam dengan suhu 37°C. Selesai inkubasi dicuci dengan 300µl *wash buffer* sebanyak 5 kali. Dimasukkan 100 µl enzim yang dilabel antibodi dan diinkubasi selama 2 jam dengan suhu 37°C. Selesai diinkubasi dicuci dengan 300µl *wash buffer* sebanyak 5 kali, kemudian dimasukkan 100 µl enzim substrat (khromogen) dan inkubasi 30 menit dengan suhu 37°C pada ruang gelap. Selanjutnya ditambahkan 50 µl stop solution dan dibaca dengan menggunakan ELISA *reader* pada panjang gelombang 490 nm.

III.3.2. Pemeriksaan DNA VHB metode Real-Time PCR 7300

III.3.2.1. Ekstraksi DNA VHB

Ekstraksi DNA VHB dari serum dengan HBsAg positif dengan (metode ELISA) dilakukan dengan menggunakan QIAamp. DNA Mini and Blood Mini Kit (Qiagen) yang pengerjaannya sesuai dengan petunjuk kit. Dalam proses ekstraksi ini juga digunakan etanol, *yellow* dan *blue tips* steril, tabung eppendorf 1,5 ml steril.

Persiapan ekstraksi DNA VHB :

- a. Larutan stok Qiagen *Protease* di tambah dengan 1,2 ml *nuclease-free water* yang mengandung 0.04% *sodium azide*. Ini akan stabil pada suhu -20°C dan dibuat alikuot.
- b. *Buffer* AL sebelum digunakan dikocok terlebih dulu. *Buffer* ini akan stabil pada suhu 15 - 25°C
- c. *Buffer* AW1 dimbah dengan 25 ml alkohol 96 – 100% pada botol AW1 yang berisi 19 ml konsentrat. Ini akan stabil pada suhu 15 - 25°C
- d. *Buffer* AW2 ditambah dengan 30 ml alkohol 96 – 100% pada botol AW1 yang berisi 13 ml konsentrat. Campuran ini stabil pada suhu 15 - 25°C
- e. Kemudian *heating block* diset dengan suhu 56°C

Prosedur ekstraksi DNA VHB :

- a. 20µl Qiagen *Protease* dimasukkan pada tabung eppendorf 1,5 ml, Dengan jumlah yang disesuaikan dengan jumlah sampel yang akan dikerjakan dan dilabel sesuai dengan ID sampel.
- b. Tabung eppendorf 1,5 ml yang berisi 20µl Qiagen *protease* ditambahkan 200µl sampel serum.
- c. Sebanyak 200µl *buffer* AL ditambahkan kedalam tabung eppendorf 1,5 ml yang berisi sampel serum dan Qiagen *Protease*, kemudian diforteks selama 25 detik.
- d. Kemudian tabung eppendorf 1,5 ml yang berisi campuran sampel, *protease* dan *buffer* AL diinkubasi 56°C pada *heating block* selama 10 menit, kemudian dispindown untuk menurunkan cairan yang menempel pada tutup tabung eppendorf.
- e. Sebanyak 200µl alkohol 96% - 100% ditambahkan kedalam tabung eppendorf 1,5 ml yang berisi campuran sampel, *protease* dan *buffer* AL dan difortek selama 15 detik

kemudian dispindown untuk menurunkan cairan yang menempel pada tutup tabung eppendorf.

- f. Disiapkan QIAamp spin column beserta tabung koleksi dan diberi label QIAamp spin column yang sesuai dengan jumlah sampel.
- g. Campuran sampel, *protease* dan *buffer* AL dimasukkan dengan hati-hati pada QIAamp spin column kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 8.000 rpm selama 1 menit.
- h. Tutup QIAamp spin column dibuka dengan hati-hati kemudian ditambahkan 500µl buffer AW1 dan disentrifugasi dengan kecepatan 8.000 rpm selama 1 menit.
- i. QIAamp spin column dipindahkan pada tabung koleksi baru, kemudian dibuang tabung koleksi yang berisi filtrat.
- j. Tutup QIAamp spin column dibuka dengan hati-hati dan tambahkan 500µl buffer AW2 pada QIAamp spin column kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 14.000 rpm selama 3 menit.
- k. QIAamp spin column dipindahkan pada tabung koleksi baru dan tabung koleksi dibuang yang berisi filtrat.
- l. QIAamp spin column dipindahkan pada tabung koleksi baru kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 14.000 rpm selama 1 menit.
- m. QIAamp spin column dipindahkan pada tabung eppendorf baru yang sudah diberi tanda sesuai dengan ID sampel dan ditambahkan 200µl Elusion buffer atau DW, kemudian diinkubasi suhu ruang selama 1 menit setelah itu disentrifugasi dengan kecepatan 8.000 rpm selama 1 menit.
- n. QIAamp spin column dibuang dan pada tabung eppendorf didapatkan DNA VHB yang siap dilakukan pemeriksaan lanjutan.
1. Pemeriksaan dengan menggunakan mesin Real Time – PCR 7300 dari hasil isolasi DNA virus hepatitis B sebagai berikut :

III.3.2.2. Amplifikasi dan Kwantitasi dengan Real-Time PCR 7300

Reaksi amplifikasi dan kwantitasi ini selain menggunakan mesin Real-Time PCR Applied Biosystems 7300 juga digunakan hasil dari ekstraksi DNA VHB, TaqMan Master Mix (Applied Biosystems), Primer Forward HBVF: 5'-CACATCAGGATTCCTAGGACC-3' ; Primer Reverse HBVR: 5'-GGTGAGTGATTGGAGGGTTG-3' ; Primer Probe (TAMRA) HBVP: 5'-GCAGAGTCTAGACTCGTGGTGGACTTC-3') konsentrasi dari semua primer 10 pmol/ μ l. dan juga digunakan internal dan eksternal Stantard.

Prosedur pemeriksaan DNA VHB dengan Real-Time PCR 7300 :

- a. Disiapkan sampel DNA VHB dari ekstraksi dengan Qiagen
- b. Membuat pengenceran standar dari sampel VHB yang sudah diketahui kadarnya sebanyak 6 tabung yang masing-masing tabung sudah berisi 9 μ l DW dengan cara: ambil 1 μ l dimasukan pada tabung 1, mix dengan baik kemudian dipipet 1 μ l dari tabung ke 1 dimasukkan tabung ke 2, mix dengan baik kemudian dimasukkan pada tabung ke 3, mix dengan baik, dan sampai tabung ke 6 (terakhir) kemudian dipipet 1 μ l dan buang.
- c. Disiapkan sampel kontrol positif VHB yang sudah diketahui kadar.
- d. Membuat semua sampel termasuk kontrol dan standar secara duplo untuk konfirmasi dari hasil kerja maupun alat.
- e. Membuat campuran reagen dan sampel yang akan dikerjakan.
- f. Disiapkan tabung plate Real Time dan ditandai dengan tinta sesuai dengan sampel yang akan dikerjakan kemudian dibagikan campuran reagen tersebut.
- g. Dipindahkan DNA sampel pada tabung plate Real Time dengan dibuat secara duplo.
- h. Ditutup menggunakan *cover plastic* dengan baik kemudian divortek.
- i. Dicek bagian bawah tabung dengan memastikan tidak ada gelembung sebelum dimasukkan pada Mesin Real Time – PCR dari Applied Biosystems 7300.

Prosedur operasional Mesin Real Time – PCR dari Applied Biosystems 7300 :

- a. Menu operasional dipilih 7300 system create new command wizard kemudian diklik next
- b. Dimasukkan kode standar, kontrol dan sampel sesuai dengan seting tabung plate
- c. Unknown sebagai sampel dan kontrol positif, SD sebagai standar dan dimasukkan angka / nilai SD yang sudah diketahui kemudian diklik finish

- d. Ditunggu mesin sedang inialisasi kemudian diklik set up

Stage 1	Stage 2	Stage 3	
Reps	Reps 1	Reps 53	
50°C	95°C	95°C	
2 min	10 min	20 detik	60°C
			1 min
Volume akhir sampel 20 µl			
Klik Start			

III.3.2.3. Visualisasi Hasil Real Time - PCR

Hasil analisa Real-Time PCR divisualisasikan dengan instrumen komputer dan monitor yang dapat diketahui kadar DNA VHB pada instrumen dengan print out data. Analisis data Standart yang digunakan adalah standart internal dan eksternal dari sampel DNA VHB yang sudah diketahui jumlah virusnya.

BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

Deteksi menggunakan petanda serologis HBsAg dapat menandakan adanya antigen dari daerah genom S (*surface*) VHB, cara ini merupakan yang paling umum untuk mendeteksi adanya infeksi VHB yang sedang aktif.

Dalam penelitian "Analisis kadar HBeAg dan DNA VHB pada penderita dengan HBsAg positif" telah selesai dilakukan pemeriksaan 150 sampel serum yang berasal dari sampel koleksi dari laboratorium *Institute of Tropical Disease (ITD)* Universitas Airlangga. Pemilihan sampel koleksi dalam penelitian ini adalah untuk analisis hasil dari HBsAg, HBeAg, anti-HBe dan DNA VHB serum dari penderita yang pemeriksaannya dilaboratorium hepatitis ITD-UNAIR.

IV.1. Hasil Pemeriksaan HBsAg, HBeAg dan Anti-HBe

Dalam koleksi sampel dari 150 sampel serum pada laki-laki sebanyak 82 (54,7%) dan pada perempuan sebanyak 68 (45,3%) sampel dengan kisaran umur 11 tahun sampai dengan 75 tahun dengan rata-rata (*mean*) umur $\pm 37,80$ tahun. Ringkasan data jenis kelamin sampel serum ditampilkan dalam table 1 yang tersebut dibawah.

Tabel 1. Jenis kelamin dan rata-rata umur dari 150 sampel serum.

Jenis Kelamin	Jumlah sampel serum (%)		Rata-rata (<i>mean</i>) Umur (Tahun)
Laki – laki	82	54,7	39,86
Perempuan	68	45,3	35,45
Total	150	100	37,80

Dari pemeriksaan 150 sampel serum didapatkan 39,3% (59/150) menunjukkan hasil HBsAg positif dan 91 (60,7%) dengan hasil HBsAg negatif. Hasil 62,7% (37/59) sampel serum dari jenis kelamin laki-laki memberikan hasil HBsAg positif dan didapatkan 37,3% (22/59) sampel serum dari jenis kelamin perempuan memberikan hasil HBsAg positif. Rangkuman data jenis kelamin dan HBsAg positif ditampilkan pada tabel 2 dibawah.

Tabel 2. Hasil pemeriksaan HBsAg dari 150 sampel serum.

	Jenis Kelamin		Total
	L	P	
HBsAg Positif	62,7% (37/150)	37,3% (22/59)	39,3% (9/150)
HBsAg Negatif	49,5% (45/150)	50,5% (46/150)	60,7% (91/150)
Total	54,7% (82/150)	45,3% (68/150)	100,0% (150/150)

Keterangan : Dari 59 sampel HBsAg positif, hanya 51 sampel serum yang cukup volumenya untuk pemeriksaan lebih lanjut.

IV.2. Hasil Pemeriksaan HBeAg dan anti-HBe

Dari 59 sampel dengan HBsAg positif yang pemeriksaannya menggunakan metode ELISA selanjutnya 51 sampel dilakukan pemeriksaan lebih lanjut. Hanya 8 sampel serum dengan HBsAg positif yang tidak dilanjutkan pemeriksaannya dikarenakan spesimen serum telah habis. Dengan demikian didapatkan hasil 19,61% (10/51) sampel yang memberikan hasil HBeAg positif, 45,10% (23/51) dengan hasil anti-HBe positif dan 15,69% (8/51) sampel yang memberikan hasil HBeAg dan anti-HBe positif dari kedua pemeriksaan tersebut dan 35,29% (18/51) sampel yang memberikan hasil HBeAg dan anti-HBe negatif dari kedua pemeriksaan tersebut. Rangkuman data pemeriksaan HBeAg dan anti-HBe dari sampel serum dengan HBsAg positif dapat dilihat dalam tabel 3 dibawah.

Tabel 3. Hasil pemeriksaan HBeAg dan anti-HBe dengan HBsAg positif.

	HBeAg		Anti-HBe		HBeAg&anti-HBe	
	Positif	Negatif	Positif	Negatif	Positif	Negatif
51 serum HBsAg Positif	10	41	23	28	8	18
	19,61% (10/51)	79,39% (41/51)	45,10% (23/51)	54,90% (28/51)	15,69% (8/51)	35,29% (18/51)
Total	100% (51/51)		100% (51)			

IV.3. Hasil Pemeriksaan DNA VHB dengan Real Time – PCR

Sesudah pemeriksaan HBsAg, HBeAg dan anti-HBe kemudian dilanjutkan pemeriksaan DNA VHB dengan menggunakan Real-Time PCR dari Applied Biosystem 7300, dari 51 sampel serum dengan HBsAg positif didapatkan hasil DNA VHB yang terdeteksi sebanyak 47,06% (24/51) dan 52,94% (27/51) memberikan hasil DNA VHB yang tidak terdeteksi. Gambaran hasil pemeriksaan DNA VHB dapat dilihat pada tabel 4 dibawah.

Tabel 4. Hasil deteksi DNA VHB pada sampel sera dengan HBsAg positif.

	DNA VHB	
	Terdeteksi	Tidak Terdeteksi
HBsAg Positif	24 (\pm 4,499 log copies/ml)	27
	47,06% (24/51)	52,94% (27/51)
Total	100% (51/51)	

Dari hasil analisis pemeriksaan HBe dan DNA VHB pada sampel serum dengan HBsAg positif, telah didapatkan 15,69% (8/51) dengan HBeAg positif, anti-HBe dan DNA VHB positif keadaan ini sebagai infeksi virus hepatitis B yang sedang berjalan. Seperti dalam *Principles and Practice of Clinical Virology* (Tim J. Harrison dkk, 2004) adalah fase berat dari hepatitis kronis dapat dikenali. Tipe fase ini dengan HBsAg, HBeAg dan anti-HBe positif dan terdeteksi dengan tingginya kadar DNA VHB dalam serum dan juga mulai menurunnya kadar DNA VHB yang terdeteksi, HBeAg negatif, HBsAg dan anti-HBe positif. Dalam pemeriksaan ini juga didapatkan 9,80% (5/51) HBeAg negatif, HBsAg dan anti-HBe positif dan DNA VHB masih terdeteksi, fase ini juga dapat sebagai infeksi virus hepatitis B yang sedang berjalan.

Didapatkan 35,29% (18/51) hasil HBeAg negatif, dan juga DNA VHB tidak terdeteksi dalam sampel serum tetapi hasil anti-HBe positif dengan HBsAg positif, maka keadaan ini dapat sebagai keadaan fase penyembuhan (*seroconversion*) atau sebagai keadaan *inactive HBsAg carrier*.

Disamping didapatkan hasil tersebut pemeriksaan ini mendapatkan 21,57% (11/51) hasil HBeAg dan anti-HBe negatif tetapi DNA VHB masih terdeteksi dalam sampel serum, hal ini kemungkinan adanya infeksi VHB dengan *pre-core mutant*. Dan juga didapatkan 13,73% (7/51) hasil HBeAg, anti-HBe negatif dan DNA VHB tidak terdeteksi keadaan ini mengindikasikan adanya infeksi VHB baru. Ringkasan hasil pemeriksaan HBeAg, anti-HBe dan DNA VHB pada sampel dengan HBsAg positif dapat dilihat dalam tabel 5 dibawah.

Tabel 5. Hasil pemeriksaan HBeAg dan anti-HBe terhadap DNA VHB.

n=51	ELISA		Total
	HBeAg	Anti-HBe	
DNA VHB Terdeteksi	+	-	8
	-	+	5
	-	-	11
DNA VHB Tidak terdeteksi	+	-	2
	-	+	18
	-	-	7
Total	51		

V. KESIMPULAN DAN SARAN

V.1. Kesimpulan :

1. Dari 150 sampel serum didapatkan 39,3% (59/150) sampel yang memberikan hasil HBsAg positif dan 60,7% (91/150) sampel dengan hasil HBsAg negatif. Dari 59 sampel HBsAg positif, 51 sampel serum yang cukup volumenya untuk pemeriksaan lebih lanjut dan hanya 8 sampel serum dengan HBsAg positif yang tidak dilanjutkan pemeriksaannya dikarenakan spesimen serum telah habis .
2. Dari 51 sampel serum HBsAg positif didapatkan 10 (19,61%) sampel yang memberikan hasil HBeAg positif dan 45,10% (23/51) sampel yang memberikan hasil anti-HBe positif.
3. Dari 51 sampel serum HBsAg positif didapatkan 47,06% (24/51) sampel memberikan hasil DNA VHB yang terdeteksi dan 52,94% (27/51) sampel memberikan hasil DNA VHB yang tidak terdeteksi.
4. Dari analisis hasil pemeriksaan HBeAg, anti-HBe dan DNA VHB didapatkan hasil sebagai berikut :
 - a. Didapatkan 15,69% (8/51) hasil HBeAg positif, anti-HBe negatif dan DNA VHB terdeteksi dan juga 9,80% (5/51) hasil HBeAg negatif, Anti-HBe positif dan DNA VHB masih terdeteksi, fase ini sebagai infeksi virus hepatitis B yang sedang berjalan.
 - b. Didapatkan 35,29% (18/51) hasil HBeAg negatif dan juga DNA VHB tidak terdeteksi dalam sampel serum tetapi hasil anti-HBe positif, maka keadaan ini dapat sebagai keadaan fase penyembuhan (*seroconversion*) atau sebagai keadaan *inactive HBsAg carrier*.
 - c. Didapatkan 21,57% (11/51) hasil HBeAg dan anti-HBe negatif tetapi DNA VHB masih terdeteksi keadaan ini kemungkinan adanya infeksi VHB dengan *pre-core mutant*.

- d. Didapatkan 13,73% (7/51) hasil HBeAg dan anti-HBe negatif juga DNA VHB tidak terdeteksi keadaan ini mengindikasikan infeksi VHB baru.
- e. Didapatkan 3,92% (2/51) hasil HBeAg positif tetapi anti-HBe negatif dan DNA VHB tidak terdeteksi, perlu pemeriksaan DNA VHB lebih lanjut dengan menggunakan primer-primer lain.

V.2. Saran :

1. Untuk dapat mendefinisikan keadaan *seroconversion* atau *inactive HBsAg carrier* perlu pemeriksaan lanjutan dengan pemeriksaan histopatologi dan pemeriksaan ALT secara rutin pada penderita.
2. Untuk penentuan VHB dengan *pre-core mutant* perlu dilakukan pemeriksaan lanjutan dengan pemeriksaan PCR dan sequencing.
3. Perlu penelitian lebih lanjut dengan menggunakan sampel penelitian yang lebih banyak .

V. DAFTAR PUSTAKA

1. Arauz-Ruiz, P., H. Norder, K. A. Visona', and L. O. Magnius. 1997. Molecular epidemiology of hepatitis B virus in Central America reflected in the genetic variability of the small S gene. *J. Infect. Dis.* 176:851–858.
2. Banerjee, A., F. Kurbanov, D. Sibnarayan, P. K. Chandra, Y. Tanaka, M. Mizokami, and R. Chakravarty. 2006. Phylogenetic relatedness and genetic diversity of hepatitis B virus isolates in Eastern India. *J. Med. Virol.* 78:1164–1174.
3. Blitz, L., F. H. Pujol, P. D. Swenson, L. Porto, R. Atencio, M. Araujo, L. Costa, D. C. Monsalve, J. R. Torres, H. A. Fields, S. Lambert, C. Van Geyt, H. Norder, L. O. Magnius, J. M. Echevarri'a, and L. Stuyver. 1998. Antigenic diversity of hepatitis B virus strains of genotype F in Amerindians and other population groups from Venezuela. *J. Clin. Microbiol.* 36:648–651.
4. Bonino, F. 1992. Chronic Hepatitis B. The role of interferon in chronic viral hepatitis. F Hoffman-La-Roche Ltd. CH-4002. Basle, Switzerland.
5. Bozdayi, G., A. R. Tu'rkylmaz, R. Idilman, E. Karatayli, S. Rota, C. Yurdaydin, and A. M. Bozdayi. 2005. Complete genome sequence and phylogenetic analysis of hepatitis B virus isolated from Turkish patients with chronic HBV infection. *J. Med. Virol.* 76:476–481.
6. Centers for Disease Control and Prevention, 2003. Hepatitis B virus (online). http://www.cdc.gov/ncidod/diseases/hepatitis/slideset/hep_b/slide_3.htm.
7. Chan, H. L. Y., M. L. Wong, A. Y. Hui, L. C. T. Hung, F. K. L. Chan, and J. J. Y. Sung. 2003. Hepatitis B virus genotype C takes a more aggressive disease course than hepatitis B virus genotype B in hepatitis B e antigenpositive patients. *J. Clin. Microbiol.* 41:1277–1279.
8. Chan, H. L. Y., S. K. W. Tsui, C. H. Tse, E. Y. T. Ng, T. C. C. Au, L. Yuen, A. Bartholomeusz, K. S. Leung, K. H. Lee, S. Locarnini, and J. J. Y. Sung. 2005. Epidemiological and virological characteristics of 2 subgroups of hepatitis B virus genotype C. *J. Infect. Dis.* 191:2022–2033.
9. Fareha Jesmin Rabbi, Md. Kamar Reswan and Tahmina Shirin, 2008. HBeAg/anti-HBe, alanin aminotransferaseand HBV DNA levels in HBsAg positive chronic carriers. *Bangladesh Med Res Counc Bull* 2008; 34:39-43.
10. Handajani, R., Soetjipto, M. I. Lusida, P. Suryohudoyo, P. Adi, P. B. Setiawan, C. A. Nidom, R. Soemarto, Y. Katayama, M. Fujii, and H. Hotta. 2000. Prevalence of GB virus C/hepatitis G virus infection among various populations in Surabaya, Indonesia, and identification of novel groups of sequence variants. *J. Clin. Microbiol.* 38:662–668.
11. Kao, J.-H. 2002. Hepatitis B viral genotypes: clinical relevance and molecular characteristics. *J. Gastroenterol. Hepatol.* 17:643–650.12. Khan, M., J. J. Dong, S. K. Acharya, Y. Dhagwahdorj, Z. Abbas, W. Jafri, D. H. Mulyono, N. Tozun, and S. K. Sarin. 2004. Hepatology issues in Asia: perspective from regional leaders. *J. Gastroenterol. Hepatol.* 19:S419–S430.
12. Kidd-Ljunggren, K., Y. Miyakawa, and A. H. Kidd. 2002. Genetic variability in hepatitis B viruses. *J. Gen. Virol.* 83:1267–1280.
13. Kramvis, A., M. Kew, and G. Franc,ois. 2005. Hepatitis B virus genotypes. *Vaccine* 23:2409–2423.
14. Lindh M, Anderson AS, and Gusdal A, 1997. Genotypes, nt 1858 variants, and geographic origin of hepatitis B virus – large-scale analysis using a new genotyping method. *J Infect Dis* 175:1285-1293.
15. Lusida, M. I., Surayah, H. Sakugawa, M. Nagano-Fujii, Soetjipto, Mulyanto, R. Handajani, Boediwarsono, P. B. Setiawan, C. A. Nidom, S. Ohgimoto, and H. Hotta. 2003. Genotype and subtype analyses of hepatitis B virus (HBV) and possible co-infection of HBV and hepatitis C virus (HCV) or hepatitis D virus (HDV) in blood donors, patients with chronic

- liver disease and patients on hemodialysis in Surabaya, Indonesia. *Microbiol. Immunol.* 47: 969–975.
16. Magnius, L. O., and H. Norder. 1995. Subtypes, genotypes and molecular epidemiology of the hepatitis B virus as reflected by sequence variability of the S-gene. *Intervirology* 38:24–34.
 17. Mulyanto, F. Tsuda, A. T. Karossi, S. Soewignjo, Roestamsjah, D. Sumarsidi, R. H. Trisnamurti, Sumardi, Surayah, L. Z. Udin, Melani-Wikanta, K. Kanai, and S. Mishiro. 1997. Distribution of the hepatitis B surface antigen subtypes in Indonesia: implications for ethnic heterogeneity and infection control measures. *Arch. Virol.* 142:2121–2129.
 18. Okamoto, H., F. Tsuda, H. Sakugawa, R. I. Sastrosoewignjo, M. Imai, Y. Miyakawa, and M. Mayumi. 1988. Typing hepatitis B virus by homology in nucleotide sequence: comparison of surface antigen subtypes. *J. Gen. Virol.* 69:2575–2583.
 19. Orito, E., M. Mizokami, H. Sakugawa, K. Michitaka, K. Ishikawa, T. Ichida, T. Okanoue, H. Yotsuyanagi, and S. Iino for the Japan HBV Genotype Research Group. 2001. A case-control study for clinical and molecular biological differences between hepatitis B viruses of genotypes B and C. *Hepatology* 33:218–223.
 20. Orito, E., T. Ichida, H. Sakugawa, M. Sata, N. Horiike, K. Hino, K. Okita, T. Okanoue, S. Iino, E. Tanaka, K. Suzuki, H. Watanabe, S. Hige, and M. Mizokami. 2001. Geographic distribution of hepatitis B virus (HBV) genotype in patients with chronic HBV infection in Japan. *Hepatology* 34:590–594.
 21. Regan FAM, Hewitt P, Barbara JAJ, and Contreras M, 2000. Prospective investigation of transfusion transmitted infection in recipients of over 20.000 units of blood. *BMJ* 320:403-406.
 22. Sharma S. K., Saini N., and Yogesh Chwla, 2005. Hepatitis B virus: Inactive carriers. *Virology Journal* 2005, 2:82.
 23. Sastrosoewignjo, R. I., B. Sandjaja, and H. Okamoto. 1991. Molecular epidemiology of hepatitis B virus in Indonesia. *J. Gastroenterol. Hepatol.* 6:491–498.
 24. Schaefer, S. 2007. Hepatitis B virus taxonomy and hepatitis B virus genotypes. *World J. Gastroenterol.* 13:14–21.
 25. Sugauchi, F., E. Orito, T. Ichida, H. Kato, H. Sakugawa, S. Kakumu, T. Ishida, A. Chutaputti, C.-L. Lai, R. Ueda, Y. Miyakawa, and M. Mizokami. 2002. Hepatitis B virus of genotype B with or without recombination with genotype C over the precore region plus the core gene. *J. Virol.* 76:5985–5992.
 26. Sugauchi, F., M. Mizokami, E. Orito, T. Ohno, H. Kato, S. Suzuki, Y. Kimura, R. Ueda, L. A. Butterworth, and W. G. E. Cooksley. 2001. A novel variant genotype C of hepatitis B virus identified in isolates from Australian aborigines: complete genome sequence and phylogenetic relatedness. *J. Gen. Virol.* 82:883–892.
 27. Sulaiman, A.H. Pengobatan hepatitis kronik, masa lalu, masa kini dan masa yang akan datang, 10th Juli 2000. Symp. Highlight in KOPAPDI XI, di Surabaya.
 28. Tatsuji Kimura, Akinori Rokuhara, Akihiro Matsumoto, Shintaro Yagi, Eiji Tanaka, Kendo Kiyosawa, and Noboru Maki. New Enzyme Immunoassay for Detection of Hepatitis B Virus Core Antigen (HBcAg) and Relation between Levels of HBcAg and HBV DNA. *Journal Of Clinical Microbiology*, May 2003, p. 1901–1906.
 29. Lusida, M. I., Victor Eka Nugrahaputra, Soetjipto, Retno Handajani, Motoko Nagano-Fujii, Mikiko Sasayama, Takako Utsumi and H. Hotta. 2008. Novel Subgenotypes of Hepatitis B Virus Genotypes C and D in Papua, Indonesia. *J. Clin. Microbiol.* 46: 2160–2166.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Keterangan Kelaikan Etik Penelitian

Lampiran 2. Instrument Penelitian

Lampiran 3. Personalia Tenaga Peneliti

Lampiran 4. Hasil Real-Time PCR sampel penelitian

Lampiran 5. Rekapitulasi penggunaan dana penelitian



UNIVERSITAS AIRLANGGA

LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGABDIAN KEPADA MASYARAKAT

Kampus C Mulyorejo Surabaya 60115 Telp. (031) 5995246, 5995247, 5995248 Fax. (031) 5962066

Website : <http://lppm.unair.ac.id> - Email : infolemlit@unair.ac.id

KOMISI ETIKA PENELITIAN

KETERANGAN KELAIKAN ETIK (ETHICAL CLEARANCE)

Nomor : 086/PANEC/LPPM/2009

Panitia Kelaikan Etik Penelitian Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Universitas Airlangga, setelah mempelajari dan mengkaji secara seksama rancangan penelitian yang diusulkan, maka dengan ini menyatakan bahwa penelitian yang berjudul :

"Analisis Kadar HbeAg dan DNA VHB Pada Penderita Dengan HbsAg Positif"

Peneliti Utama : Mochamad Amin, S.Si.
Unit/Lab. Tempat Penelitian : Lembaga Penyakit Tropis Universitas Airlangga

DINYATAKAN LAIK ETIK

Surabaya, 14 Oktober 2009

Komis Etk Penelitian LPPM UNAIR

Ketua,

UNIVERSITAS AIRLANGGA
LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGABDIAN KEPADA MASYARAKAT

Prof. Dr. H. Soedibjo Hari Poernomo, dr., DTMH.
NIP. 130 359 279

LAMPIRAN 2.

Instrumen penelitian

1. Spectrophotometer (BioRAD System)
2. Real Time - PCR Applied Biosystem 7300 yang dilengkapi perangkat computer.
3. *Microcentrifuge* : High Speed Micro Refrigerated Centrifuge MRX-150 (Tomy).
4. *Freezer* : Ultra Low -80°C dan -30°C (Sanyo).
5. *Biosafety Cabinet* : Bio Clean Bench MCV-16BSF (Sanyo).
6. Hot Plate (Sanyo).
7. *Hot air oven* : Thermotec Sterilizer ST-450 (Sibata).
8. Mikropipet 20 µl, 200 µl dan 1.000 µl.
9. Mikropipet Chanel 8 dan 12 for 20 µl, 200 µl dan 1.000 µl.
10. *Spin-down machine* : Milipore.
11. Vorteks : Genie-2; TME-21 Test Tube Mixer (Advantec).
12. *Refrigerator* : SR-33M (Sanyo); MR-087W (Mitsubishi).
13. Inkubator dengan temperatur 37°C (Sanyo).
14. Timbangan analitik.
15. Tabung *Erlenmeyer*.
16. Gelas ukur.
17. Tabung ukur.
18. Pinset.
19. Pengukur waktu.
20. Rak tabung *ependorf*.
21. Rak Tabung Konikal 15 ml, 50 ml.
22. Kontainer berisi sodium hipoklorit 5%.
23. *Ice box* dan *ice pack*.
24. *Autoclave*

LAMPIRAN 3.

BIODATA PENELITI

Nama Lengkap dan Gelar	Mochamad Amin,S.Si
Jenis Kelamin	Laki-laki
Tempat Tanggal Lahir	Sidoarjo, 31 Agustus 1973
Alamat Rumah	Jl. Jeruk I no.11 Geluran, Taman-Sidoarjo Telp. 0818318039 / amin_tdc@yahoo.co.id
Unit Kerja	Laboratorium Hepatitis ITD - Unair
Alamat Kantor	Jl. Mulyorejo Kampus C Unair Surabaya Tlp. 031 599245 / 5992446
Bidang Keahlian	Biologi
Pendidikan	S-1 Biologi S-2 Ilmu Kedokteran Dasar (mahasiswa)

Daftar Publikasi dan Penelitian :

- 1) C.A. Nidom, Soetjipto, Retno H, Purnomo Suryohudoyo, Nanik SW, Wahyu T, M. Amin. Analisis sekuens Asam Amino Protein hemaglutinin virus Avian Influenza di Indonesia. Seminar Nasional PBBMI Yogyakarta, 2 Oktober 2004.
- 2) Chairul A. Nidom, Kiyoko Iwatsuki-Horimoto, Indi Dhamayanti, Tribakti, Taisuke Horimoto, Ayato Takada, Hideo Goto, Yuko Tagawa-Sakai, Mutsumi Ito, Soetjipto, Purnomo S.Hudoyo, M. Amin, Yoes Prijatna, Yoshihiro Kawaoka. Molecular Analysis H5N1 Subtype Avian Influenza Virus Genome In Indonesia. 2005 CAS-JSPS Asian Science Seminar 20-23 December 2005, TEDA International Hotel & Club, Tianjin, China.
- 3) M. Amin, C.A Nidom, M. Yusuf Alamudi, Arlita LA, Reviany VN, Nanik SW, Soetjipto, Purnomo Suryohudoyo,, Yoshihiro Kawaoka. Analisis Filogenetik gen Haemaglutinin Virus Flu Burung Subtipe H5N1 pada Babi Di Indonesia sebagai ketua peneliti dan telah diseminarkan Nasional ke XVIII Perhimpunan Biokimia dan Biologi Molekuler Indonesia di Universitas Al-Azhar Jakarta tanggal 6 Desember 2006.
- 4) M.Yusuf Alamudi, CA.Nidom, M. Amin, Arlita LA, Reviany VN. Deteksi Virus Flu Burung Subtipe H5N1 dengan menggunakan Real Time PCR dan Novel Rapid Test pada sampel ayam, babi dan manusia sebagai anggota peneliti dan telah diseminarkan Nasional ke XVIII Perhimpunan Biokimia dan Biologi Molekuler Indonesia di Universitas Al-Azhar Jakarta tanggal 6 Desember 2006.

- 5) CA.Nidom, M. Amin, R Vibriaanita, K Rahmawati, WT Wibawan, K Zarkasie, M Enami. Clinical Evaluation Of Conventional And Reverse Genetic Vaccines For Chicken Against H5N1-HPAI Viruses sebagai anggota peneliti dan telah diseminarkan di pertemuan Option For The Control Of Influenza VI 17 Juni s/d 23 Juni 2007 Toronto Ontario Canada.
- 6) Arlita LA, CA.Nidom, Reviany VN, M. Amin, M. Yusuf Alamudi, Deteksi Antibodi terhadap Virus Flu Burung H5N1 pada serum kucing liar (*Felis silvestris catus*) dengan menggunakan kombinasi uji serologi sebagai anggota peneliti dan telah diseminarkan di Perhimpunan Mikrobiologi Banjarmasin tgl 31 Agustus - 1 September 2007.
- 7) Reviany VN, CA.Nidom, Arlita LA, M. Amin, M. Yusuf Alamudi, Isolasi dan karakterisasi virus Flu burung H5N1 pada kucing liar (*Felis silvestris catus*) dengan menggunakan Novel rapid test dan Real Time PCR sebagai anggota peneliti dan telah diseminarkan di Perhimpunan Mikrobiologi Banjarmasin tgl 31 Agustus - 1 September 2007.
- 8) Juniastuti, Victor Eka Nugrahaputra, M. Amin. Analisis Molekuler virus hepatitis B pada Pendorong Darah di Jayapura, Indonesia : genotype, subtype, kekerabatan dan Mutasi precore stop codon. Riset Pembinaan IPTEK Kedokteran Tahun 2006 dan 2007.
- 9) Prevalence of hepatitis E virus infection in Pig and Human from two communities, Indonesia: a preliminary report. Takako Utsumi, Yoshihiko Yano, Maria Inge Lusida, Soetjipto, Mochamad Amin, Yoshitake Hayashi, and Hak Hotta . Proceeding Asian – African Research Forum on Emerging and Reemerging Infections. Hokkaido University Japan. December 15 – 16, 2008.
- 10) Characteristics of hepatitis B virus infection among school children in East Java, Indonesia. Takako Utsumi, Yoshihiko Yano, Maria Inge Lusida, Soetjipto, Mochamad Amin, Yoshitake Hayashi, and Hak Hotta. Proceeding 8th Asia Pasific Congress of Medical Virology. Hong Kong Convention and Exhibition Center, Hong Kong SAR, China. February 25 – 28, 2009.
- 11) Complete Genome Sequence and Phylogenetic Relatedness of Hepatitis B Virus Isolates in Papua, Indonesia. Takako Utsumi, Maria Inge Lusida, Yoshihiko Yano, Victor Eka Nugrahaputra, Mochamad Amin, Juniastuti, Soetjipto, Yoshitake Hayashi, and Hak Hotta. Journal of Clinical Microbiology. Doi:10.1128/JCM.02328-08. JCM Accepts, published online ahead of print on 22 April 2009.
- 12) The relatedness between hepatitis B virus from non-Papuan blood donors in Jayapura and the Papuan clusters. Juniastuti, Victor Eka Nugraha Putra, Mochamad Amin, Ni Made Mertaniasih, and Maria Inge Lusida. Journal Microbiology Indonesia. ISSN 1978-3477. Volume 3, Number 2, August 2009.

Surabaya, 9 Desember 2009
Peneliti Utama,



(Mochamad Amin, S.Si)

BIODATA
Prof. Soetjipto, dr., M.S., Ph.D

I. DATA PRIBADI

Nama : Prof. Soetjipto, dr., M.S., PH.D.
Tempat/Tanggal Lahir : Kediri/ 17-02-1950
NIP : 130 687 606
Pangkat : Guru Besar Gol. IV d
Jabatan Fungsional/Struktural: Wakil Rektor III Universitas Airlangga
Fakultas : Kedokteran
Departemen : Ilmu Biokimia Kedokteran
Alamat Kantor : Kampus A Unair, Jl. Mayjen. Prof. Dr. Moestopo 47
Surabaya. Telp. (031) 5020251, 5030252, 5030253
Fax: (031) 5022472
Web site: <http://www.fk.unair.ac.id>
Kampus C Unair, Jl Mulyorejo, Surabaya.
E-mail: warek3@unair.ac.id
Alamat Tempat Tinggal : Jl. JolotundoBaru III/2 Surabaya
Nomor Telepon Rumah : (031) 5033726
Handphone : 081 654 169 08
E-mail : soetjiptojtbr@sby.centrin.net.id atau warek3@unair.ac.id
Pendidikan Terakhir : S-3
Bidang Keahlian : 1) Guru Besar Ilmu Biokimia
2) Biologi Molekuler

II. DATA AKADEMIK

1. Bidang Keahlian / Keilmuan : Biokimia
2. Riwayat Pendidikan : - Lulus Dokter dari FK UNAIR, tahun 1977
(Tingkat sarjana ke atas) - Lulus Magister Sain (MS), dari Program Pascasarjana UNAIR, tahun 1982
- Lulus Doktor (Ph.D) dari Kobe University School of Medicine, Kobe, Jepang, tahun 1996.
3. Pendidikan Tambahan : - Lulus Akta Mengajar V tahun 1983
- JSPS Exchange Scientist Program tahun 1985 dan 1986 di Kobe University Jepang
4. Judul Disertasi : Differential Prevalence of Hepatitis C Virus Subtypes Among Healthy Blood Donors, Patients on Maintenance Hemodialysis, and Patients with Hepatocellular Carcinoma in Surabaya, Indonesia.
5. Judul Pidato Pengukuhan : Hepatitis C dan Permasalahannya : Dari Pendekatan Biologi Molekuler ke Aplikasi Klinik.

III. PENELITIAN

1. Penelitian yang dipublikasikan :

(yang relevan dengan proposal yang diajukan)

a. Dalam majalah Internasional

1. "Differential Prevalence of Hepatitis C Virus Subtypes among Healthy Blood Donors, Patients on Maintenance Hemodialysis, and Patients with Hepatocellular Carcinoma in Surabaya, Indonesia". (Dipublikasikan dalam Journal of Clinical Microbiology, tahun 1996, sebagai author)
2. Hepatitis C Virus Infection-Associated Markers in Sera from Blood Donors in Surabaya, Indonesia. (Dipublikasikan dalam : Microbiology and Immunology, tahun 1996, Sebagai Co-Author).
3. Genotype Analysis of Hepatitis C Virus Among Blood Donors and Inmates in Metro, Manila, The Philippines. (Dipublikasikan dalam : ICMR Annals, tahun 1996, Sebagai Co-Author).
4. Differential Distribution of Hepatitis C Virus Subtypes in Asia: Comparative Study Among Thailand, Indonesia, The Philippines, and Japan. (Dipublikasikan dalam: Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health, tahun 1997, Sebagai Co-Author).
5. Viral Load in Indonesian Patients with Chronic Liver Disease and Blood Donors Infected with Different Subtypes of Hepatitis C Virus. (Dipublikasikan dalam: Japanese Journal of Infectious Diseases, tahun 2000, Sebagai Co-Author).
6. Correlation Between Mutations in the Interferon Sensitivity Determining Region of NS5A Protein and Viral Load of Hepatitis C Virus Subtypes 1b, 1c, and 2a. (Dipublikasikan dalam: Journal of Clinical Microbiology, tahun 2001, Sebagai Co-Author).
7. Novel subgenotypes of hepatitis B virus genotypes C and D in Papua, Indonesia (Dipublikasikan dalam Journal of Clinical Microbiology, vol.46, no.7, tahun 2008, sebagai Co-author)

b. Dalam Majalah Nasional Terakreditasi:

1. Third Millenium Challenge: Hepatitis C Virus Infection (Dipublikasikan dalam: Majalah Kedokteran Tropis, tahun 2003 , Sebagai Author).
2. Identifikasi urutan asam amino protein E2 virus hepatitis C isolate Indonesia dengan metode long PCR dan sekuensing (Jurnal Penelitian Media Eksakta, vol.5 no.3, 2004, sebagai Co-author)

Penelitian yang berperan sebagai (Author):

1. The prevalence of Hepatitis C, Hepatitis G, and Hepatitis TT Virus in Surabaya, Indonesia (Sebagai Author: Dipresentasikan pada 5th Asia Pacific Congress of Medical Virology, tahun 2000 di Bali).
2. Molecular Epidemiological Analysis of Hepatitis C Virus and hepatitis GB Virus C/Hepatitis G Among Various Populations in Surabaya,Indonesia. (Sebagai

Author: Dipresentasikan pada International Symposium on Helicobacter Pylori and Viral Hepatitis, tahun 2001 di Singapore).

3. Hepatitis C and Hepatitis G Co-infection Among Healthy Blood Donors, and Patients on Maintenance Hemodialysis in Surabaya (Sebagai Author: Dipresentasikan pada Pertemuan Ilmiah Tahunan dan Rakernas Perhimpunan Ahli Mikrobiologi Klinik Indonesia, tahun 2001 di Surabaya).
4. The Relationship Between Hepatitis C Viral Load and Its ubtypes Among Blood Donors, and Patients with Chronic Liver Disease in Surabaya, Indonesia (Sebagai Author: Dipresentasikan pada Seminar Nasional XV dan Kongres IX PBBMI, tahun 2001 di Bogor).
5. Kloning Ekspresi dan Karakterisasi Protein E2 Virus Hepatitis C Subtipe-1c Sebagai protein Subunit” (Sebagai Author: Dana Penelitian Hibah Bersaing XI)
6. The third millennium challenge “Hepatitis C virus infection”. From molecular biology aspect to clinical application (Sebagai keynote speaker pada Seminar Nasional XVII dan Kongres X PBBMI tahun 2005 di Riau)
7. Mutation in the interferon sensitivity determining region and viral load of hepatitis C virus (Sebagai author pada Seminar Nasional XVIII PBBMI tahun 2006 di Jakarta)
8. Hepatitis B virus genotypes and subtypes and possible co-infection of hepatitis B virus and hepatitis C virus among blood donors, patients on maintenance hemodialysis, and chronic liver disease patients in Surabaya (Sebagai Author pada Seminar Nasional XIX PBBMI tahun 2008 di Padang)
9. Molecular tools for the optimal management of chronic hepatitis (sebagai Author pada Seminar Emerging and Re-emerging infectious diseases update 1 di Surabaya)


IV. LAIN-LAIN

1. Kepala Bagian Biokimia Fakultas Kedokteran UNAIR, sejak tahun 2001 – 2007.
2. Ketua Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar, Program Magister Program Pascasarjana UNAIR, sejak tahun 1999 – 2005
3. Sekretaris Jurusan Ilmu Kedokteran Dasar Umum Fakultas Kedokteran UNAIR, sejak tahun 1983 – 2004.
4. Kepala Direktorat Basic Research, Tropical Disease Centre UNAIR, sejak tahun 1995 – 2007
5. Ketua Kelompok Studi Hepatitis, Tropical Disease Centre UNAIR, sejak tahun 1995 s/d sekarang
6. Anggota Tim Penyusun Rencana Induk Pengembangan Universitas Airlangga, tahun 2003.
7. Staf Ahli Pembantu Rektor Universitas Airlangga, sejak tahun 2003 – 2006
8. Ketua Pusat Penjaminan Mutu Universitas Airlangga, sejak tahun 2004 - 2007
9. Wakil Rektor III Universitas Airlangga sejak tahun 2008 – sekarang
10. Pengarah Tim Penyiapan Seed Vaccine Virus Avian Influenza H5N1 Universitas Airlangga, sejak tahun 2008 - sekarang

V. PENGABDIAN PADA MASYARAKAT

1. Lokakarya Metodologi Laboratorium Biologi Molekuler (Dilaksanakan di Tropical Disease Centre UNAIR, tahun 2000, Sebagai Pembicara).
2. Pencegahan Terhadap Infeksi Hepatitis B dan Hepatitis C (Dilaksanakan di Tropical Disease Centre UNAIR, tahun 2001, Sebagai Pembicara).
3. Penyuluhan dan Pelatihan Deteksi Dini Penyakit Hepatitis Dalam Rangka Peningkatan Kualitas Hidup Sumber Daya Manusia di Kecamatan Sawahan Kodya Surabaya (Dilaksanakan tahun 2000, Sebagai Pelaksana).
4. Pelatihan Mewaspadaai Terjadinya Kegemukan Serta Usaha Penanggulangannya Dalam Rangka Meningkatkan Kualitas Hidup Sumber Daya Manusia di Kecamatan Mulyorejo, Kota Surabaya, tahun 2002, Sebagai pelaksana).
5. Peningkatan Pemahaman Terhadap Diabetes Mellitus dan Komplikasi-komplikasinya Dalam Rangka Meningkatkan Kualitas Hidup Pada Ibu-iu PKK Pradahkalikendal Dukuh Pakis Kodya Surabaya, tahun 2002, Sebagai Pelaksana.

Surabaya, 3 Juli 2009
Anggota Peneliti.



(Prof. Soetjipto, dr., M.S., PH.D)

BIOGRAFI / DAFTAR RIWAYAT HIDUP

1. Nama lengkap dan gelar : Prof. Retno Handajani, dr, MS, PhD.

2. Tempat / tanggal lahir : Tulungagung, 12 Oktober 1948

3. Pendidikan (dari sarjana muda / yang sederajat ke atas)

UNIVERSITAS / INSTITUT DAN LOKASI	GELAR	TAHUN SELESAI	BIDANG STUDI
1. Fakultas Kedokteran UNAIR	Dokter	1975	Dokter Umum
2. Fakultas Kedokteran UNAIR	MS	1982	Ilmu Kedokt. Dasar / Ilmu Biokimia
3. Kobe University, Kobe, Japan	JSPS Course	1993	Biologi Molekuler Virus Hepatitis C
4. Kobe University, Kobe, Japan	JSPS Course	1994	Biologi Molekuler Virus Hepatitis C
5. Kobe University, Kobe, Japan	PhD	2000	Biologi Molekuler Virus Hepatitis G
6. Kobe University, Kobe, Japan	Post Doctoral	2002	Biologi Molekuler

4. Pengalaman kerja dalam penelitian dan pengalaman professional serta kedudukan saat ini. (disusun secara kronologis).

INSTITUSI	JABATAN	PERIODE KERJA
I. Pengalaman Kerja :		
1. Duden FK Unair	Pmbina Utama	1975 s/d sekarang
2. Guru Besar Fak. Kedokt. UNAIR	Pembina Utama	Sept 2002 s/d sekarang
3. Program Studi Ilmu Kedok- teran Dasar Pasca Sarjana Unair	Ketua Pelaksana Tugas Ketua	2003 s/d 2007 2008
4. Peneliti Tropical Disease Center UNAIR.	Anggota Kelompok Studi Hepatitis	1992 s/d sekarang

INSTITUSI	JABATAN	PERIODE KERJA
II. Pengalaman Penelitian : (yang relevan dengan proposal penelitian yang diajukan)		
1. Studi genotip virus hepatitis C (Dana Pengembangan Lab. Eijkmann).	Ketua Peneliti	1994/ 1995 & 1995/1996
2. Deteksi Virus Hepatitis C pada penderita hemodialisis (Penelitian Dasar).	Ketua Peneliti	1996/1997
3. Deteksi virus hepatitis C bedasar daerah genom 5'UTR dengan teknik RFLP (Risbin IPTEKDOK I).	Ketua Peneliti	1996/ 1997 1997/1998
4. Analisis kadar Alanine Amino Transferase (ALT) dan sub tipe virus hepatitis C pada penderita hepatitis kronis (Dana dari TDC Unair).	Ketua Peneliti	2002
5. Analisis molekuler mutasi berbagai daerah genom virus hepatitis B pada penderita hepatitis kronis tanpa dan dengan setahun terapi lamivudin (Penelitian Hibah Bersaing XI).	Ketua Peneliti	2003 dan 2004
6. Analisis daerah genom <i>Precore dan X</i> dari virus hepatitis B pada penderita infeksi kronis virus hepatitis B tanpa dan dengan hepatoseluler karsinoma, di Surabaya, Indonesia (Penelitian Hibah Bersaing XIII).	Ketua Peneliti	2005 dan 2006
7. Genotip Virus Hepatitis B (VHB) dan C (VHC) pada penderita yang sedang menjalani hemodialisis sebagai populasi beresiko tinggi tertular VHB di Surabaya, Indonesia (Penelitian Hibah Strategi Nasional DirJen DikTi 2009)	Ketua Peneliti	2009

5. Daftar publikasi yang relevan dengan proposal penelitian yang diajukan.

- 5.1. **Retno Handajani**, Hotta H, Soemarto, Widawati S, Homma M, Maria IL, Soetjipto, Mertaniasih Nm., et al. Genotip virus hepatitis C di Indonesia. *Majalah IDI (Ikatan Dokter Indonesia)*. (Dec) 1995, 20; 4: 11-16 (ISSN: 0852-8493).
- 5.2. **Retno Handajani**, Soemarto, Purnomo S, Soetjipto, Maria IL., Mertaniasih NM, Choirul AN. Subtipe virus hepatitis C pada penderita penyakit hati di Surabaya. *Buletin PGI-PPHI-PEGI(Apr-Juni)* 1996, 3, 2: 45-54 (ISSN: 0854-8749).
- 5.3. **Retno Handajani**. Deteksi RNA dan Genotip Virus Hepatitis C menggunakan PCR. *Majalah Teknologi Kedokteran*. (Feb-Apr 1997) 11: 17-24 (ISSN: 0217-1707).
- 5.4. **Retno Handajani**. Deteksi virus hepatitis C dengan teknik RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphisme) berdasar daerah genom 5'UTR. *Majalah IDI (Ikatan Dokter Indonesia)*. (June) 1997, 22, 2 : 17-24. (ISSN: 0852-8493).
- 5.5. **Retno Handajani**, Soemarto, Purnomo S, Soetjipto, Maria IL., Mertaniasih NM, and Choirul AN. Pemanfaatan primer spesifik untuk deteksi genotip virus hepatitis C didalam serum. *Majalah Kedokteran Surabaya*. (Apr-Juni) 1997, 20.5: 49-58 (ISSN: 0303-7932).
- 5.6. Maria. I. L., Soejipto, **Retno Handajani**, Hak Hotta, et al. Viral Load in Indonesian Patients with Chronic Liver Disease and in Blood Donors infected with different Subtypes of Hepatitis C Virus. *Jpn. J. Infect. Dis.* 2000., 53, 67-69.
- 5.7. Maria. I. L., Soejipto, **Retno Handajani**, Hak Hotta, et al. Correlation between Mutations in the Interferon Sensitivity-Determining Region of NS5A Protein and Viral Load of Hepatitis C Virus Subtypes 1b, 1c, and 2a. *Journal of Clinical Microbiology*, Feb. 2000, 38; 2: 662-668.
- 5.8 Maria. I. L., Soejipto, **Retno Handajani**, Hak Hotta, et al. Mutations in the Interferon Sensitivity-Determining Region Virus Hepatitis C (HCV) genome in relation to serum HCV titers in Indonesian patients without Interferon Treatment. 2nd

International Eijkman Symposium. "Tropical Diseases: From Molecule to Bedside".
2-6 September 2001.

- 5.9 Maria. I. L., Soejipto, **Retno Handajani**, Hak Hotta, et al. Analysis of Hepatitis B Virus (HBV) and its possible coinfection with Hepatitis C Virus (HCV) and Hepatitis D Virus (HDV) in blood donors and patients with chronic liver disease in Surabaya, Indonesia. 6th Asia Pasific Congress of Medical Virology (APCMV) di Kualalumpur, Malaysia, 7-10 Desember 2003.
- 5.10 **Retno Handajani**, Soetjipto, Soewignjo Soemohardjo. Mutation on Polymerase HBV Gene in Chronic Hepatitis B Patients After One Year Lamivudine Therapy. Indonesia – Italy Meeting : "Future Trends in Molecular Medicine. December 12-13, 2003 (Sebagai pemenang ke 2 dari penyajian makalah poster).
- 5.11 **Retno Handajani**, Soetjipto, Poernomo Budi S. Analisis molekuler mutasi berbagai daerah genom Virus Hepatitis B pada penderita hepatitis kronis sebelum dan sesudah setahun terapi Lamivudin. Terpilih untuk presentasi di : Seminar IX Hasil Penelitian Hibah Bersaing di Jakarta 15-17 Juni 2005.
- 5.12 **Retno Handajani**, Poernomo Budi Setiawan, Soetjipto. Precore mutant virus hepatitis B pada penderita infeksi kronis Virus Hepatitis B tanpa atau dengan karsinoma hepatoseluler. Seminar Nasional ke XVIII Perhimpunan Biokimia dan Biologi Molekuler Indonesia (PBBMI) di Jakarya, 6 Desember 2006.
- 5.13 Soetjipto, Maria Inge Lusida, **Retno Handajani**. Mutation in the interferon sensitivity-determining region and viral load of Hepatitis C virus subtypes. Seminar Nasional ke XVIII Perhimpunan Biokimia dan Biologi Molekuler Indonesia (PBBMI) di Jakarya, 6 Desember 2006.
- 5.14 Harlina Soetjipto, Gadis Meinar Sari, Indeswati Diyatri, **Retno Handajani**. Analisis sekuens nukleotida daerah *surface* genom virus hepatitis B pada penderita Thalasemia. Seminar Nasional ke XVIII Perhimpunan Biokimia dan Biologi

Molekuler Indonesia (PBBMI) di Jakarta, 6 Desember 2006.

- 5.15 A Novel Sub-genotype of Hepatitis B Virus Genotype C identified in Papua, Indonesia. Maria Inge Lusida, Victor Eka Nugrahaputra, Soetjipto, **Retno Handajani**, Motoko Nagano-Fujii, Mikiko Sasayama, Takako Utsumi, and Hak Hotta. The 4 th International Eijkman Conference in Sanur Bali, 15-18 November 2007.
- 5.16 Dalam buku Biologi Molekuler Penyakit Infeksi. Institute of Tropical Disease, Airlangga University. **Editor:** Nasronudin, Maria Inge Lusida, Prihartini Widiyanti, Eduardus Bimo Aksono, Dadik Rahardjo. Surabaya, Airlangga University Press, 2008. Judul **artikel:** Genotipe VHB dan Analisis Molekuler Mutasi Berbagai Daerah Genom Virus Hepatitis B pada Penderita Hepatitis Kronis Sebelum dan Sesudah Setahun Terapi Lamivudin. **Penulis:** **Retno Handajani**, Soewignjo Soemohardjo, Soetjipto, Maria Inge Lusida.
- 5.17 **Retno Handajani**, Soetjipto, Purnomo Budi Setiawan. Analisis daerah genom *Precore dan X* dari virus hepatitis B pada penderita infeksi kronis virus hepatitis B tanpa dan dengan hepatoseluler karsinoma, di Surabaya, Indonesia. Pertemuan Anggota PEGI –PGI-PPHI (Perhimpunan Peneliti Hati Indonesia) Cabang Surabaya, 29 Maret 2008.
- 5.18 Novel Subgenotypes of Hepatitis B Virus Genotypes C and D in Papua, Indonesia. Maria Inge Lusida, Victor Eka Nugrahaputra, Soetjipto, **Retno Handajani**, Motoko Nagano-Fujii, Mikiko Sasayama, Takako Utsumi, and Hak Hotta. Journal of Clinical Microbiology. July 2008 , Vol. 46, No. 7, p.2160-2166.
- 5.19 Analysis of Basal Core Promotor and Precore HBV Regions in Chronic Hepatitis B Infection Patients With or Without Hepatocellular Carinoma, in Surabaya, Indonesia. **Retno Handajani**, Poernomo Budi Setiawan, Soetjipto, Juniadi Soetowo. Seminar Nasional XIX dan Kongres XI Perhimpunan Biokimia dan

Biologi Molekuler di Padang. 15-16 Agustus 2008

- 5.20 Hepatitis B Virus (HBV) Genotypes and Subtypes and Possible Co-infection of HBV and Hepatitis C Virus (HCV) Sub genotypes among Chronic Hepatitis Patients, in Surabaya, Indonesia. Soetjipto, Maria Inge Lusida, **Retno Handajani**, Harlina. Seminar Nasional XIX dan Kongres XI Perhimpunan Biokimia dan Biologi Molekuler di Padang. 15-16 Agustus 2008.
- 5.21 The Correlation between the Positivity of Anti-HCV and Hepatitis C Virus RNA in Sera Among Blood Donors, Patients on maintenance Hemodialysis, and Patients with Hepatocellular Carcinoma. Harlina, Soetjipto, **Retno Handajani**, Indeswati Diyatri. Seminar Nasional XIX dan Kongres XI Perhimpunan Biokimia dan Biologi Molekuler di Padang. 15-16 Agustus 2008.
- 5.22 Analysis of Alanine Amino Transferase levels and Hepatitis C Virus Subtypes among Chronic Hepatitis Patients in Surabaya, Indonesia. **Retno Handajani**, Inseswati Diyatri, Soetjipto, Harlina. Seminar Nasional XIX dan Kongres XI Perhimpunan Biokimia dan Biologi Molekuler di Padang. 15-16 Agustus 2008.

Surabaya, 3 Juli 2009

Anggota Peneliti



(Prof. Retno Handajani, dr, MS, PhD)

CURRICULUM VITAE**Peneliti**

Nama : Maria Lucia Inge Lusida, dr., MKes., PhD., SpMK
 NIP : 131569394
 Pangkat/ Gol : Pembina Tk.I – IV/b
 Instansi : Departemen Mikrobiologi Kedokteran
 Alamat Rumah : Jl. Mojoarum VI/ 17D Surabaya 60285
 Alamat e mail : ingelsd@sby.centrin.net.id
ingelusida@yahoo.com

Riwayat Pendidikan:

Strata	Perguruan Tinggi	Gelar	Tahun	Bidang Studi
S1 / Dokter	FK Unair	Dokter	1984	Pendidikan Dokter
S2/ Magister	Unair	M.Kes	1993	Imunologi
Spesialis 1	Kolegium	Sp.M.K.	2001	Mikrobiologi Klinik
S3/ Doktor	Kobe University Graduate School of Medicine	Ph.D.	2001	Hepatitis Viruses

Pengalaman Kerja:

Kerja	Institusi	Periode Kerja
Dosen Mikrobiologi	Departemen Mikrobiologi Kedokteran FK Unair	1985 - sekarang
Post-doctoral	Kobe University Graduate School of Medicine	2006-2007 (3 bulan)
Sekretaris Lembaga	Lembaga Penyakit Tropis (Institute of Tropical Disease) Unair.	2008 -sekarang
Researcher of the Indonesia – Japan Collaborative Research Center for Emerging and Re- emerging Infectious Diseases (CRC-ERID)	Lembaga Penyakit Tropis (Institute of Tropical Disease) Unair.	2007-sekarang

Daftar Publikasi Internasional:

No.	Judul/ Topik	Publikasi
1	Utsumi T, Lusida MI, Yano Y, Nugrahaputra VE, Amin Mochamad, Juniastuti, Soetjipto, Hayashi Y5 and Hotta H. Complete Genome Sequence and Phylogenetic Relatedness of 1 Hepatitis B Virus 2 Isolates in Papua, Indonesia.	J Clin Microbiol 2009. 47:
2.	Lusida MI, Nugrahaputra VE, Soetjipto, Handajani R, Nagano-Fujii M, Sasayama M, Utsumi T, and Hotta H. Novel Subgenotypes of Hepatitis B Virus Genotypes C and D in Papua, Indonesia.	J Clin Microbiol 2008. 46: 2160-2166.
3.	Lusida MI, Surayah, Hiroshi Sakugawa, Motoko Nagano-Fujii, Soetjipto, Mulyanto, Retno Handajani, Boediwarsono, Poernomo B. Setiawan, Chairul A. Nidom, Shinji Ohgimoto, and Hak Hotta. Genotype and Subtype Analyses of Hepatitis B Virus (HBV) and Possible Co-Infection of HBV and Hepatitis C Virus (HCV) or Hepatitis D Virus (HDV) in Blood Donors, Patients with Chronic Liver Disease and Patients on Hemodialysis in Surabaya, Indonesia.	Microbiol. Immunol., 2003. 47 (12): 969-975.
4.	Lusida MI, Surayah, Hiroshi Sakugawa, Motoko Nagano-Fujii, Soetjipto, Mulyanto, Retno Handajani, Boediwarsono, Poernomo B. Setiawan, Chairul A. Nidom, and Hak Hotta. Analysis of Hepatitis B Virus and Its Possible Coinfection with Hepatitis C Virus and Hepatitis D Virus in Blood Donors and Patients with Chronic Liver Disease in Surabaya, Indonesia. .	J Clin Virol 2003. 28, Suppl.1, p. S78.
5.	Lusida MI, Nagano-Fujii M, Nidom CA, Soetjipto, Handajani R, Fujita T, Oka K, Hotta H. Correlation between Mutations in the Interferon Sensitivity-Determining Region of NS5A Protein and Viral Load of Hepatitis C Virus Subtypes 1b, 1c, and 2a.	J Clin Microbiol 2001. 39: 3858-3864.
6.	Lusida MI, Soetjipto, Handajani R, Nidom CA, Soemarto, Darmadi S, Adi P, Fujii M, Fujita T, Ishido S, Hotta H. Viral load in Indonesian patients with Chronic Liver Disease and in Blood Donors Infected with Different Subtypes of Hepatitis C Virus.	Jpn. J. of Infect Dis 2000. 53: 67-69.
7.	Handajani R, Soetjipto, Lusida MI, Surjohudojo P, Setiawan PB, Nidom CA, Soemar-to, Katayama Y,	J Clin Microbiol 2000. 38: 662-668.

	Fujii M, Hotta H. Prevalence of GB Virus C/ Hepatitis G Virus Infection among Various Populations in Surabaya, Indonesia, and Identification of Novel Groups of Sequence Variants.	
8.	Soetjipto, Handajani R, Lusida MI, Darmadi S, Adi P, Soemarto, Ishido S, Katayama Y, Hotta H. Differential Prevalence of Hepatitis C Virus Subtypes in Healthy Blood Donors, Patients on Maintenance Hemodialysis, and Patients with Hepatocellular Carcinoma in Surabaya.	J. of Clin. Microbiol. 1996. 34: 2875-2880.
9.	Darmadi S, Soetjipto, Handajani R, Lusida MI, Soemarto, Sakugawa H, Hotta H. Hepatitis C virus infection-associated markers in sera from blood donors in Surabaya, Indonesia.	Microbiol. Immunol. 1996. 40: 401-405.
10.	Hotta H, Handajani R, Lusida MI, Soemarto W, Doi H, Miyajima H, Homma M. Subtype Analysis of Hepatitis C Virus in Indonesia on the Basis of NS5b Region Sequences.	J of Clin Microbiol, 1994. 32: 3049-3051.
11.	Hotta H, Doi H, Hayashi T, Purwanta M, Lusida MI, Soemarto W, Homma M. Sequence analysis of hepatitis C virus obtained from Indonesian patients and identification of novel sequence variants;	<i>in:</i> Nishioka K, Suzuki H, Mishiro S, Oda T (eds.). 1994. Viral Hepatitis and Liver Disease. Springer-Verlag Tokyo, p:310-313.
12.	Ezaki T, Hashimoto Y, Yamamoto H, Lusida MI, Liu SL, Kusunoki S, Asano K, Yabuu-chi E. Evaluation of the Microplate Hybridization Method for Rapid Identification of <i>Legionella</i> species.	Europ J of Clin Microbiol & Infect Dis, 1990.9: 213-217.

Beberapa Publikasi Nasional.

Surabaya, 29 Oktober 2009
Anggota Peneliti.

(Maria L. Inge Lusida, dr., MKes., PhD., SpMK)

Curriculum Vitae

Name: Takako Utsumi

Experience 6/2007- Center for Infectious Diseases (CID) Kobe University School of Medicine
Assistant Professor
Institute of Tropical Disease, Airlangga University

Education 4/2001-3/2003
Graduate School of Kobe University, International Cooperation Studies
Master (International Studies)
4/2003-3/2007 Kobe University Graduate School of medicine
Doctor of Philosophy (Medical Science)

Miscellaneous

Activities: 2/2000- Member of Japan Overseas Christian Medical Cooperative Service
9/2000- Member of Japan Association for International Health
7/2006- Member of Japanese Society of Tropical medicine
7/2008- Member of the Japanese society for virology

Publication

*Youssef A, Yano Y, Utsumi T, abd El-alah EM, abd El-Hameed Ael-E, Serwah Ael-H, Hayashi Y. Molecular epidemiological study of hepatitis viruses in Ismailia, Egypt. Intervirology. 2009;52(3):123-31.

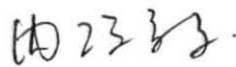
*Utsumi T, Lusida MI, Yano Y, Nugrahaputra VE, Amin M, Juniastuti, Soetjipto, Hayashi Y, Hotta H. Complete genome sequence and phylogenetic relatedness of hepatitis B virus isolates in Papua, Indonesia. J Clin Microbiol. 2009 Jun;47(6):1842-7.

*Lusida MI, Nugrahaputra VE, Soetjipto, Handajani R, Nagano-Fujii M, Sasayama M, Utsumi T, Hotta H. 2008. Novel Subgenotypes of Hepatitis B Virus Genotypes C and D in Papua, Indonesia. J Clin Microbiol. 2008 May 7.

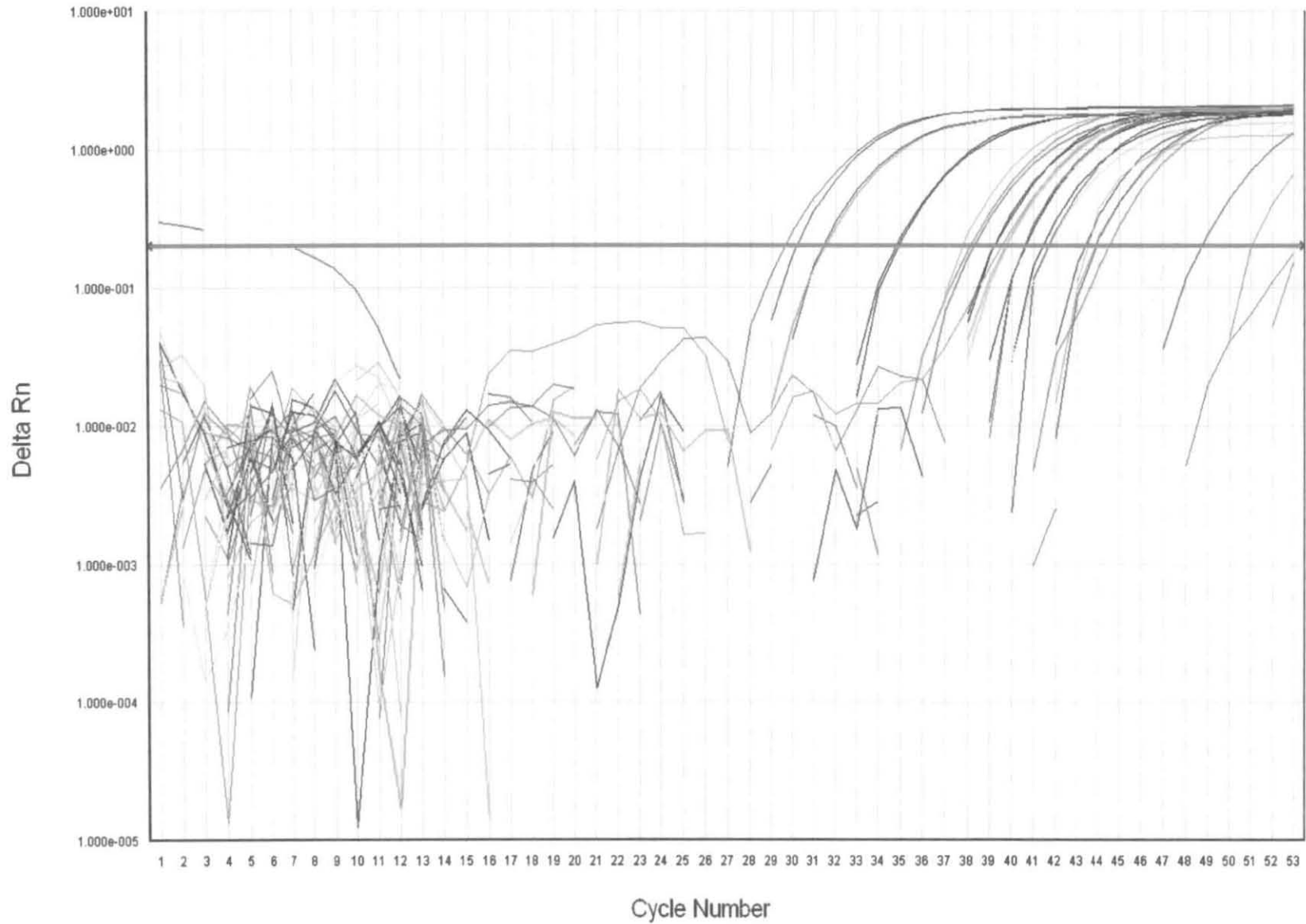
*Truong BX, Yano Y, Seo Y, Phuong TM, Tanaka Y, Kato H, Miki A, Utsumi T, Azuma T, Trach NK, Mizokami M, Hayashi Y, Kasuga M. 2007. Variations in the core promoter/pre-core region in HBV genotype C in Japanese and Northern Vietnamese patients. J Med Virol. 2007 Sep;79(9):1293-304.

*Utsumi T, Yano Y, Truong BX, Tanaka Y, Mizokami M, Seo Y, Kasuga M, Kawabata M, Hayashi Y. Molecular epidemiological study of Hepatitis B Virus Infection in two different ethnic populations from the Solomon Islands. J Med Virol, 79:229-235, 2007.

Surabaya, 3 July 2009

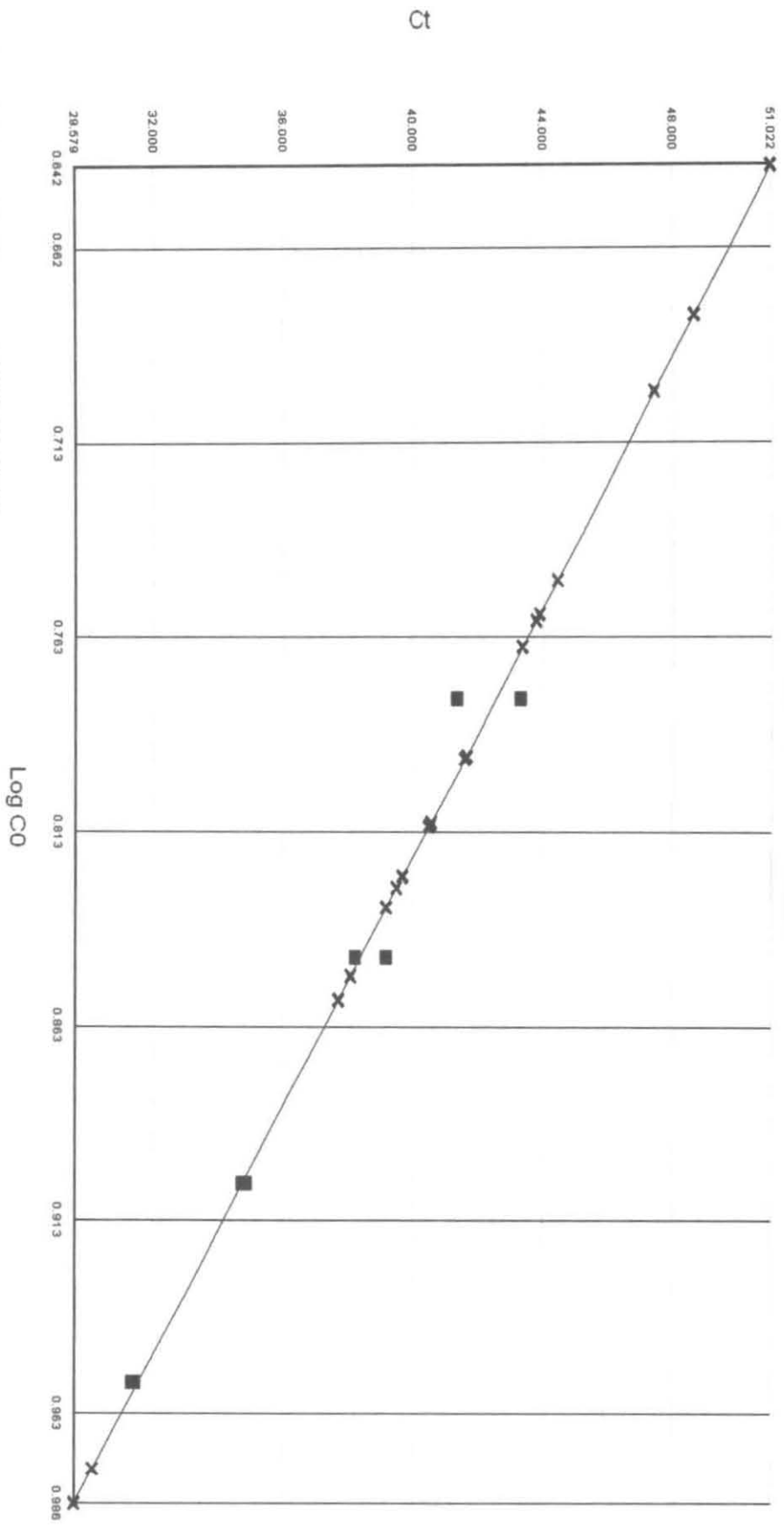

Takako Utsumi

Delta Rn vs Cycle



Selected Detector: All
Well(s): A1-F12
Document: HBV-1.A.sds (Standard Curve)

Standard Curve



Detector: HBV, Slope: 62.289294, Intercept: 91.012604, R2: 0.979971
Document: HBV-1_A.sds (Standard Curve)

LAMPIRAN 5.

REKAPITULASI :
PENGUNAAN DANA PENELITIAN / PENGMAS

Hibah Kompetitif Penelitian Untuk Publikasi Internasional Batch II
Tahun Anggaran 2009

JUDUL :

Analisis Kadar HBeAg dan DNA VHB pada Penderita Dengan HBsAg positif

PENELITI : Mochamad Amin, S.Si. (Ketua)
Prof.dr.Soetjipto, MS.,Ph.D
Prof.dr.Retno Handajani, MS.,Ph.D
dr. Maria Inge Lusida, MS.,Ph.D
Takako Utsumi, Ph.D

Nilai dana penelitian sebesar : Rp. 100.000.000,-
Dana yang diterima dari LPPM Unair (70%) : Rp. 58.831.818,-
(30%) : Rp. 25.213.636,-

RINCIAN

HONOR TIDAK TETAP

No.	Rincian	Jumlah
1	Ketua Peneliti : 1 orang x 15 minggu x 15 jam x Rp. 27.500,-	Rp. 6.187.500,-
2	Anggota : 4 orang x 15 minggu x 10 jam x Rp. 22.500,-	RP. 13.500.000,-
3	Teknisi : 1 orang x 15 minggu x 15 jam x Rp. 17.500,-	Rp. 3.937.500,-
	Subtotal	Rp. 23.625.000,-

No.	Rincian	Jumlah
	BIAYA ADMINISTRASI DAN KELENGKAPANNYA	
1	Biaya administrasi kelaikan etik penelitian	Rp. 500.000,-
2	Biaya konsumsi seminar kelaikan etik penelitian	Rp. 250.000,-
3	Foto copy dan jilid proposal penelitian	Rp. 435.500,-
4	Foto copy dan jilid laporan penelitian	Rp. 527.400,-
5	Biaya sewa alat di ITD Unair	Rp. 1.660.000,-
	Subtotal	Rp. 3.372.900,-

No.	Rincian	Jumlah	Harga Satuan	Total
	BAHAN HABIS PAKAI			
1	Appendorf 1,5 ml	1 box	Rp. 450.000,-	Rp. 450.000,-
2	Appendorf 0,5 ml	1 box	Rp. 550.000,-	Rp. 550.000,-
3	Yellow tips	2 box	Rp. 135.000,-	Rp. 270.000,-
4	Blue tips	2 box	Rp. 155.000,-	Rp. 310.000,-
5	Conikal 15 ml Steril	1 box	Rp. 550.000,-	Rp. 550.000,-
6	Conical 50 ml Steril	1 box	Rp. 665.500,-	Rp. 665.500,-
7	QiaAMP DNA Blood Isolation Kit	2 kit	Rp. 2.260.500,-	Rp. 4.521.000,-
8	ELISA kit untuk HBsAg	2 kit	Rp. 4.450.000,-	Rp. 8.900.000,-
9	ELISA kit untuk HBeAg	1 kit	Rp. 5.400.000,-	Rp. 5.400.000,-
10	ELISA kit untuk anti-HBe	1 kit	Rp. 6.100.500,-	Rp. 6.100.500,-
11	Master Mix RT-PCR HBV (Applied Biosystems)	1 kit	Rp.14.800.000,-	Rp. 14.800.000,-
12	Primer F (Invitrogen)	1 tabung	Rp. 750.000,-	Rp. 750.000,-
13	Primer R (Invitrogen)	1 tabung	Rp. 750.000,-	Rp. 750.000,-
14	Primer Probe (Invitrogen)	1 tabung	Rp. 1.800.000,-	Rp. 1.800.000,-
15	Plate tube (Applied Biosystems)	1 box	Rp. 1.300.000,-	Rp. 1.300.000,-
16	Aquabidest Steril	500 ml	Rp. 760.000,-	Rp. 760.000,-
17	Aquadest Steril	5 ltr	Rp. 125.000,-	Rp. 125.000,-
18	Sarung tangan	1 pak	Rp. 55.000,-	Rp. 55.000,-
19	Masker	1 pak	Rp. 45.000,-	Rp. 45.000,-
20	Rak tabung eppendorf	4 buah	Rp 230.000,-	Rp. 920.000,-
			Subtotal	Rp. 49.023.000,-

No.	Rincian	Jumlah	Harga Satuan	Total
	BIAYA OPERASIONAL LAIN			
1	Catride Head ink colour	1 unit	Rp. 350.000,-	Rp. 350.000,-
2	Catride Head ink Black	1 unit	Rp. 300.000,-	Rp. 300.000,-
3	Rainbow ink colour	2 set	Rp. 35.000,-	Rp. 70.000,-
4	Rainbow ink black	2 set	Rp. 30.000,-	Rp. 60.000,-
5	Flask disk 4 GB	2 unit	Rp. 225.000,-	Rp. 225.000,-
6	Kertas A4	3 rim	Rp. 40.000,-	Rp. 120.000,-
7	CD Blank	1 box	Rp. 200.000,-	Rp. 200.000,-
8	Buku log book	1 buah	Rp. 15.000,-	Rp. 15.000,-
9	Buku catatan	1 buah	Rp. 15.000,-	Rp. 15.000,-
10	Akses internet	4 bulan	Rp. 150.000,-	Rp. 600.000,-
12	Biaya tidak terduga	4 bulan	Rp. 6.058.200,-	Rp. 6.058.200,-
			Subtotal	Rp. 8.013.200,-
	Total			Rp. 84.036.100,-