

LAPORAN PENELITIAN AKHIR

Insentif Riset SINas

Judul Penelitian

Studi Hepatitis B pada Anak-Anak yang Lahir di Era Program Imunisasi Nasional Hepatitis B di Indonesia

**Bidang Prioritas Iptek
Teknologi Kesehatan dan Obat**

Ketua tim peneliti:

Prof.Maria Inge Lusida, dr, MKes, Ph.D, Sp.MK(K)

Nomer Identitas RT-2012-973

LEMBAGA/INSTITUSI PENGUSUL

**Lembaga Penyakit Tropis (Institute of Tropical Disease)
Universitas Airlangga**

**Kampus C Unair, Mulyorejo. Jawa Timur-Indonesia. 60115
Telp : 031-5992445, 5992446; Fax : 031-5992445;
e-mail : riset.itd@gmail.com**

18 November 2012

LAPORAN PENELITIAN AKHIR

Insentif Riset SINas

Judul Penelitian

Studi Hepatitis B pada Anak-Anak yang Lahir di Era Program Imunisasi Nasional Hepatitis B di Indonesia

**Bidang Prioritas Iptek
Teknologi Kesehatan dan Obat**

Ketua tim peneliti:

Prof.Maria Inge Lusida, dr, MKes, Ph.D, Sp.MK(K)

Nomer Identitas RT-2012-973

LEMBAGA/INSTITUSI PENGUSUL

**Lembaga Penyakit Tropis (Institute of Tropical Disease)
Universitas Airlangga**

**Kampus C Unair, Mulyorejo. Jawa Timur-Indonesia. 60115
Telp : 031-5992445, 5992446; Fax : 031-5992445;
e-mail : riset.itd@gmail.com**

18 November 2012

LEMBAR IDENTITAS DAN LEMBAR PENGESAHAN
LAPORAN PENELITIAN AKHIR
Insentif Riset Sinas 2012

Judul Penelitian

Studi Hepatitis B pada Anak-Anak yang Lahir di Era Program Imunisasi Nasional Hepatitis B di Indonesia

Bidang Prioritas Iptek

Teknologi Kesehatan dan Obat

Lokasi Penelitian

Lembaga Penyakit Tropis/Institute of Tropical Disease (ITD) Universitas Airlangga

Peneliti

Peneliti Utama : Prof. Maria Inge Lusida, dr.M.Kes,Ph.D,SpMK(K)
Lembaga/institusi : Universitas Airlangga
Unit Organisasi : Lembaga Penyakit Tropis/Institute of Tropical Disease
Telepon/HP/Fax : 031 5992445 / 08123037884 / 0315992445
Email : ingelusida@yahoo.com

Surabaya, 18 November 2012

Ketua
Lembaga Penyakit Tropis
Universitas Airlangga

Prof. Dr. Nasronudin, dr.,
Sp.PD- KPTI, FINASIM

Koordinator/ Peneliti Utama

Prof. Maria Inge Lusida, dr,
MKes, Ph.D, Sp.MK(K)



ABSTRAK LAPORAN PENELITIAN TAHAP 3

Indonesia termasuk negara dengan prevalensi infeksi hepatitis B sedang sampai tinggi. Persentasi Infeksi hepatitis B menjadi khronik adalah 90-95% pada mereka yang tertular waktu lahir dari ibu yang positif, dan hanya sekitar 5% pada mereka yang tertular setelah dewasa. Hepatitis B khronik kemungkinan besar berujung pada sirosis dan atau kanker hati. Oleh sebab itu vaksinasi hepatitis B pada bayi baru lahir sangatlah penting. Program vaksinasi massal pada semua bayi baru lahir di seluruh Indonesia dimulai sejak tahun 1997. Hingga saat ini belum ada evaluasi tentang keberhasilan vaksinasi massal tersebut.

Pada penelitian ini akan dicari data vaksinasi dan dilakukan pemeriksaan serologis, hepatitis B surface- antigen (HBsAg) dan antibody terhadap HBsAg (HBsAb), pada anak usia 1- 13 tahun di berbagai daerah representatif genotipe dan sub tipe virus hepatitis B (HBV) di Indonesia, yakni Kabupaten Kotawaringin Barat Kalimantan Tengah dan Kota Kupang, Nusa Tenggara Timur.

Di Kab Kotawaringin Barat Kalimantan Tengah, diperoleh hasil prevalensi HbsAg positif sejumlah 3 dari 258 anak (1.2%), angka keberhasilan imunisasi Hepatitis B dengan status anti HBs saja yang positif sebesar 108 anak (41.9%) dan angka anti HBc sebesar 4.3%.

Di Kota Kupang Nusa Tenggara Timur, prevalensi status HbsAg positif sejumlah 6 dari 177 anak (3.4%) angka keberhasilan imunisasi Hepatitis B dengan status anti HBs saja yang positif sebesar 85 anak (48.0%) dan angka anti HBc sebesar 5.1%.

Jumlah HBV DNA positif dari sampel dengan HbsAg dan atau anti HBc positif di Kab Kotawaringin Barat dan Kota Kupang NTT masing masing sebanyak 8 (3.1%) dan 9 (5.1%). Seluruh sampel dari Kab Kotawaringin Barat-Kalimantan Tengah merupakan HBV genotipe B dan sub tipe adw. Sedangkan distribusi strain HBV pada anak di Kota Kupang NTT yakni HBV genotipe B (5 sampel) dan C (4 sampel), serta jenis sub tipe adw, ayw dan adr masing masing 4, 3, dan 2 sampel. Mutasi M133L diduga berperan dalam HBV vaccine escape mutant yang diidentifikasi pada 1 sampel dari Kab Kotawaringin Barat Kalimantan Tengah.

Keywords : Virus Hepatitis B, Genotipe, Sub tipe, Program Imunisasi Hepatitis B di Indonesia

KATA PENGANTAR LAPORAN PENELITIAN AKHIR

Bersama ini kita sampaikan puji syukur kehadirat Tuhan Yang Maha Kuasa yang telah memberikan rahmatNya yang tak terhingga, sehingga kita dapat melaksanakan penelitian Insentif Ristek Sinas 2012 dan menyampaikan laporan penelitian akhir ini.

Penelitian di bidang teknologi kesehatan dan obat mengalami perkembangan yang pesat dan dinamis, hal tersebut menginspirasi kami untuk mengembangkan penelitian dan pengetahuan di bidang virus Hepatitis B. Sehingga pada tahun 2012 ini kami mengajukan dan melaksanakan penelitian dengan judul

Studi Hepatitis B pada Anak-Anak yang Lahir di Era Program Imunisasi Nasional Hepatitis B di Indonesia

Dengan penelitian ini kita berharap dapat mengetahui efektifitas program imunisasi nasional Hepatitis B pada balita dan anak-anak di Indonesia, kendala yang timbul serta pengembangan program tersebut. Tahun 2012 ini kami melakukan pengambilan sampel pada balita dan anak-anak di dua daerah yaitu Kabupaten Kotawaringin Barat Kalimantan Tengah dan Kota Kupang, Nusa Tenggara Timur.

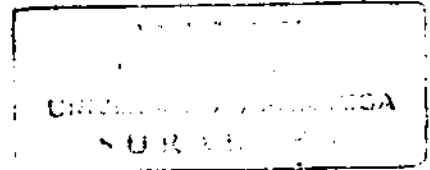
Dalam laporan akhir penelitian ini, kami telah menyelesaikan seluruh rangkaian kegiatan mulai pengambilan sampel, pemeriksaan laboratorium baik serologis maupun molekuler dan melakukan analisis pada semua hasil yang telah didapatkan. Pokok pembahasan pada laporan penelitian ini kami bagi sesuai wilayah populasi sampel penelitian.

Kami mengucapkan terimakasih kepada Kementerian Riset dan Teknologi RI, Rektor Universitas Airlangga, Ketua LPPM Universitas Airlangga, Ketua LPT Universitas Airlangga, Dinas Kesehatan Kabupaten Kotawaringin Barat, Dinas Kesehatan Kota Kupang serta seluruh pihak yang berperan dalam penelitian ini. Semoga laporan tahap akhir ini bermanfaat dan memberikan informasi mengenai penelitian yang telah, sedang dan akan kita laksanakan.

Surabaya, 18 November 2012
Peneliti Utama



Prof. Maria Inge Lusida, dr, MKes, Ph.D, Sp.MK(K)

DAFTAR ISI

Lembar Identitas dan Pengesahan.	i
Ringkasan / Abstrak.	ii
Kata Pengantar.	iii
Daftar Isi.	iv
Daftar Tabel.	v
Daftar Gambar.	vi
BAB I. PENDAHULUAN.	1-2
1.1. Latar Belakang	
1.2. Rumusan Masalah	
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA.	3-9
BAB III. TUJUAN DAN MANFAAT.	10
BAB IV. METODE.	11-13
IV.1 Rancangan penelitian	
IV.2 Populasi dan sampel	
IV.3 Variabel Penelitian	
IV.4 Alur Penelitian	
BAB V. RENCANA CAPAIAN*), HASIL DAN PEMBAHASAN.	14-20
V.1 Rencana Capaian	
V.2 Hasil Penelitian sementara	
V.3 Pembahasan	
BAB VI. KESIMPULAN DAN SARAN.	24
VI.1 Kesimpulan	
VI.2 Saran	
Daftar Pustaka.	25-26

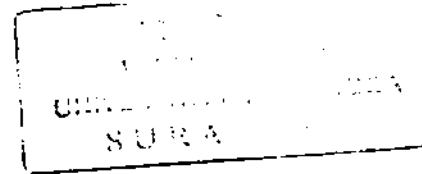
DAFTAR TABEL

Tabel 5.1. Karakteristik subjek penelitian berdasar kelompok usia dan jenis kelamin di Kab Kotawaringin Barat, Kalimantan Tengah	15
Tabel 5.2. Status HBsAg berdasar kelompok usia subjek di Kab. Kotawaringin Barat, Kalimantan Tengah	15
Tabel 5.3. Status anti HBs berdasar kelompok usia subjek di Kab Kotawaringin Barat Kalimantan Tengah	16
Tabel 5.4. Status anti HBc berdasar kelompok usia subjek di Kab Kotawaringin Barat, Kalimantan Tengah	16
Tabel 5.5. Status serologis Hepatitis B anak di Kab Kotawaringin Barat, Kalimantan Tengah	16
Tabel 5.6. Data subjek dengan HBsAg positif di Kab Kotawaringin Barat, Kalimantan Tengah	17
Tabel 5.7. Hasil pemeriksaan PCR pada sampel dengan HBsAg positif di Kab Kotawaringin Barat Kalimantan Tengah	17
Tabel 5.8. Data karakteristik demografis, serologis dan genotipe virus dari anak-anak dengan DNA HBV positif di Kab Kotawaringin Barat, Kalimantan Tengah	19
Tabel 5.9 Status serologis Hepatitis B anak di Kota Kupang, NTT	20
Tabel 5.10. Data karakteristik demografis, serologis dan genotipe virus dari anak-anak dengan DNA HBV positif di Kota Kupang NTT	21

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Virus Hepatitis B	3
Gambar 2.2 Siklus hidup Virus Hepatitis B	4
Gambar 5.1 Hasil elektroforesis PCR 1 st round 540 bp	18
Gambar 5.2 Hasil elektroforesis PCR 2 nd round 258 bp	18
Gambar 5.3 Susunan asam amino gen S sampel dengan DNA HBV positif di Kab Kotawaringin Barat Kalimantan Tengah dan Kota Kupang NTT	21

BAB I. PENDAHULUAN



I.1. Latar Belakang

Indonesia termasuk negara dengan infeksi hepatitis B endemisitas menengah sampai tinggi. Angka karier pada donor darah di 11 kota besar di Indonesia dilaporkan antara 2,1 – 9,5% (Khan et al, 2004). Transmisi perinatal merupakan faktor utama penyebab endemisitas tinggi HBV di Indonesia. Program vaksinasi massal pada bayi baru lahir di seluruh Indonesia dimulai sejak tahun 1997.

Telah dilaporkan distribusi subtipe HBV di seluruh Indonesia, yang menunjukkan bahwa ada *geographic and ethnic-specific subtype-distribution*, dan secara garis besar bisa dibagi menjadi 4 zone, yaitu: (i) zone dengan predominan *adw*, (ii) zone *ayw*, (iii) zone *adr*, dan (iv) zone campuran (Mulyanto et al., 1997). Klasifikasi yang lebih baru berdasarkan homologi susunan nukleotida pada genom HBV, dibedakan menjadi 10 genotipe (A-J). Ada hubungan antara genotipe dan subtipe HBV, namun tidak selalu persis sama.

Kami telah melakukan studi profil serologis dan genetis hepatitis B pada anak sekolah usia 9-12 tahun di satu kabupaten di Jawa Timur dan satu kabupaten di Sulawesi Tenggara (Utsumi et al., 2010; Lusida et al., 2010; Lusida et al., 2011). Cakupan vaksinasi di kedua daerah tersebut, berturut-turut adalah 76% dan 83% (Riskesdas 2010). Angka seropositif untuk HBsAg, anti-HBs, dan anti-HBc adalah berturut-turut 3.6%, 23.5%, dan 22.2% dari 196 sampel, untuk Jawa Timur. Angka yang tidak jauh berbeda untuk Sulawesi Tenggara. Sedangkan HBV DNA terdeteksi pada 6,8% sampel dengan HBsAg negatif, namun anti-HBc dan atau anti-HBs positif (Occult hepatitis B Infection/OBI) di Jawa Timur. Yang menarik, OBI ditemukan pada 39,8% sampel di Sulawesi Tenggara. Perlu diteliti lebih lanjut di berbagai daerah lain sesuai representasi subtipe dan genotipe HBV di seluruh Indonesia.

Masalah lain adalah penundaan waktu pemberian vaksinasi. Cukup banyak persalinan dilakukan di rumah, yang mana akses ke bidan pada saat persalinan terbatas, sehingga

vaksinasi hepatitis B diberikan terlambat, dan cukup banyak alasan lain untuk tertundanya pemberian vaksinasi. Dalam hal ini, mungkin cakupan imunisasi tinggi, namun vaksinasi pertama yang tertunda bisa tidak bermanfaat. Sejak Oktober 2002, pemerintah Indonesia memulai usaha bahwa setiap bayi mendapatkan vaksinasi hepatitis B dalam waktu 7 hari kelahiran. Dengan demikian diharapkan efektifitas vaksinasi hepatitis B menjadi lebih baik.

Berdasarkan hal tersebut di atas, penting untuk dilakukan riset semacam di berbagai daerah lain di Indonesia, untuk mengetahui profil serologis dan molekuler karier HBV setelah 14 tahun program vaksinasi massal pada bayi baru lahir diterapkan di Indonesia.

1.2. Rumusan masalah

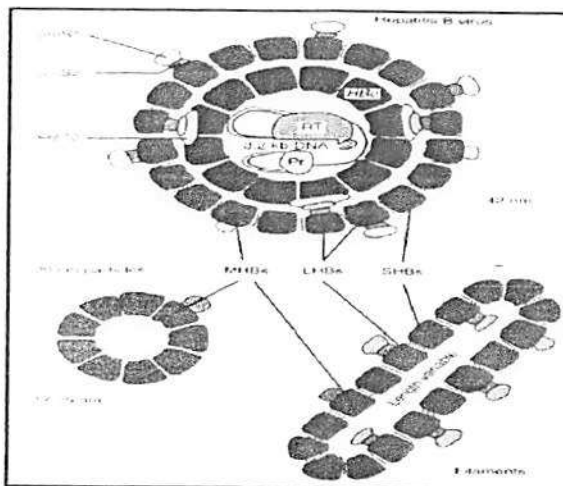
1. Berapakah angka prevalensi infeksi Hepatitis B pada anak-anak di Indonesia ?
2. Berapakah titer antibody terhadap Hepatitis B pada anak-anak di Indonesia ?
3. Bagaimanakah pola distribusi genotipe dan subtipe virus Hepatitis B pada anak-anak di Indonesia ?

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Virus Hepatitis B

Virus Hepatitis B (VHB) merupakan suatu agen penyebab dari penyakit hati kronis, termasuk hepatitis kronis, sirosis hepatis dan *hepatocellular carcinoma*, dan menjadi masalah kesehatan utama di berbagai belahan dunia khususnya negara-negara di Asia Pasifik (Merican, 2000). Menjadi perhatian khusus di Indonesia, yang termasuk wilayah dengan angka endemisitas Hepatitis B tingkat *intermediate* dan tinggi (angka karier 5 sampai 20 %) pada populasi masyarakat. Tingginya angka karier tersebut berkaitan dengan tingginya infeksi HBV pada bayi yang ditularkan secara vertikal, (Creati M et al, 2007).

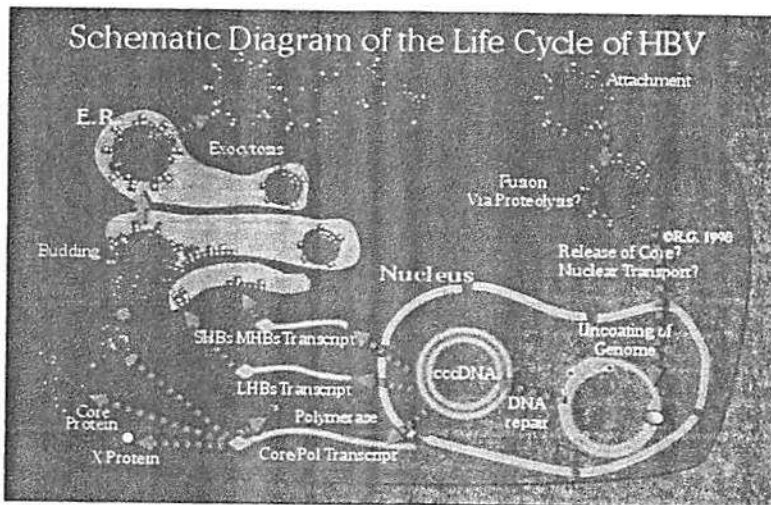
Hepatitis B adalah suatu penyakit yang disebabkan oleh virus Hepatitis B. Virus hepatitis B (VHB) termasuk dalam virus DNA, family Hepadnaviridae (Crawford, 2005). Mula-mula, virus ini dikenal sebagai *serum hepatitis*. Bila dibandingkan dengan virus AIDS (HIV), HBV seratus kali lebih ganas dan sepuluh kali lebih banyak menularkan. Di bawah mikroskop elektron, HBV tampak sebagai partikel dua lapis berukuran 42 nm yang disebut partikel Dane. Lapisan luarnya terdiri atas antigen, yang disingkat HBsAg. Antigen ini membungkus bagian dalam virus yang disebut partikel inti atau *core* yang berukuran 27 nm. Masa inkubasi HBV kira-kira selama 6 sampai 25 minggu. Virus ini juga tidak dapat tumbuh dalam kultur jaringan (Anonim, 2006).



Gambar 2.1. Struktur HBV. (Anonim, 2006)

Mekanisme penyerangan virus Hepatitis B dalam tubuh:

1. Mula-mula, HBV menyerang membran sel hati. Virus ini kemudian masuk ke dalam sel hati.
2. Partikel inti yang mengandung DNA dilepaskan, dan DNA-nya berpolimerase ke dalam nukleus sel hati.
3. Polimerase DNA ini menyebabkan sel hati membuat kopian DNA HBV dari RNA-m.
4. Sel ini kemudian memasang "kopian hidup" dari virus. Melalui cara ini, versi dari HBV dikonstruksikan lewat sel hati.
5. Karena memproduksi protein permukaan secara berlebihan, selnya tetap bersatu membentuk bulatan kecil atau rantai, yang memberikan penampilan khas pada sampel darah dibawah mikroskop.
6. Kopian dari virus dan antigen permukaan itu dilepaskan dari membran sel hati ke dalam aliran darah, dan dari sana dapat menginfeksi sel hati lainnya dan bereplikasi secara efektif.



Gambar 2.2. Siklus hidup dari HBV. (Kock, J. et al., 1993)

Dari kelima jenis Hepatitis (Hepatitis A, B, C, Delta, E, dan G), Hepatitis B adalah jenis penyakit yang paling serius. Tak ada kecenderungan musim tertentu ataupun golongan umur tertentu untuk dapat terjangkit penyakit ini, meskipun tentu saja ada kelompok-kelompok dengan resiko terjangkit yang lebih tinggi, misalnya penyalahguna

obat-obatan secara parenteral, tenaga kesehatan, orang-orang yang baru mendapat transfusi darah, penderita dan staf hemodialisa, penduduk yang memiliki kehidupan seks bebas dan bayi baru lahir yang ibunya adalah penderita penyakit ini (Watt, 1993).

Diagnosis infeksi Hepatitis B kronis didasarkan pada pemeriksaan serologi, virologi, biokimiawi dan histologi. Secara serologi, pemeriksaan yang dianjurkan untuk diagnosis dan evaluasi infeksi Hepatitis B kronis adalah : HBsAg, HBeAg, anti HBe dan HBV DNA (4,5). Pemeriksaan virology dilakukan untuk mengukur jumlah HBV DNA serum, yang sangat penting, karena dapat menggambarkan tingkat replikasi virus (Jawetz, E. et al, 1986). Sedangkan, pemeriksaan biokimiawi yang penting untuk menentukan keputusan terapi adalah kadar ALT. Peningkatan kadar ALT menggambarkan adanya aktifitas koinflamasi. Oleh karena itu, pemeriksaan ini dipertimbangkan sebagai prediksi gambaran histologi. Pasien yang kadar ALT-nya menunjukkan proses nekroinflamasi yang lebih berat dibandingkan dengan ALT yang normal. Pasien dengan kadar ALT normal mempunyai respon serologi yang kurang baik pada terapi antiviral. Jadi, pasien dengan kadar ALT normal lebih baik tidak diterapi, kecuali bila hasil pemeriksaan histologi menunjukkan proses nekroinflamasi aktif (Zaini, F., 1995). Tujuan pemeriksaan histologi adalah untuk menilai tingkat kerusakan hati, menyisihkan diagnosis penyakit hati lain, prognosis dan menentukan manajemen anti viral. Hepatitis B menyebabkan sel-sel hati mengalami kerusakan sehingga tidak dapat berfungsi sebagaimana mestinya. Pada umumnya, sel-sel hati dapat tumbuh kembali dengan sisa sedikit kerusakan, tetapi penyembuhannya memerlukan waktu berbulan-bulan disertai diet dan istirahat yang baik.

Salah satu pencegahan yang dapat dilakukan adalah dengan pemberian imunisasi Hepatitis B, yang telah tersedia sejak beberapa tahun yang lalu. Juga telah tersedia vaksin Hepatitis B. Ada dua macam vaksin Hepatitis B, yaitu vaksin yang terbuat dari darah manusia yang telah kebal Hepatitis B dan vaksin Hepatitis yang dibuat dari perekayasa sel ragi. Vaksin hepatitis yang dibuat dari darah manusia kebal Hepatitis disuntikkan kepada orang sehat sekali sebulan sebanyak 3 kali, sedangkan vaksin hepatitis B yang direkayasa dari sel ragi diberi kepada penderita sebulan sekali sebanyak 2 kali, lalu suntikan yang ketiga diberi 5 bulan kemudian.

II.2 Epidemiologi Virus Hepatitis B

Sekitar dua milyar orang yang mencakup lebih dari sepertiga penduduk dunia telah terinfeksi virus hepatitis B (WHO, 2000). Hepatitis B disebabkan oleh virus hepatitis B (VHB). Virus ini pertama kali ditemukan oleh Blumberg pada tahun 1965 dan di kenal dengan nama antigen Australia. Virus ini termasuk DNA virus. Virus hepatitis B berupa partikel dua lapis berukuran 42 nm yang disebut "Partikel Dane". Lapisan luar terdiri atas antigen HBsAg yang membungkus partikel inti (core). Pada inti terdapat DNA VHB Polimerase. Pada partikel inti terdapat Hepatitis B core antigen (HBcAg) dan Hepatitis B e antigen (HBeAg). Antigen permukaan (HBsAg) terdiri atas lipo protein dan menurut sifat imunologik proteinnya virus Hepatitis B dibagi menjadi 4 sub tipe yaitu adw, adr, ayw dan ayr. Sub tipe ini secara epidemiologis penting, karena menyebabkan perbedaan geografik dan rasial dalam penyebarannya. Virus hepatitis B mempunyai masa inkubasi 45-80 hari, rata-rata 80-90 hari.

Hepatitis Virus B (VHB) menyebabkan peradangan hati akut atau menahun yang pada sebagian kecil kasus dapat berlanjut menjadi sirosis hati atau kanker hati. Mula-mula dikenal sebagai "serum hepatitis" dan telah menjadi epidemik pada sebagian Asia dan Afrika. Hepatitis B telah menjadi endemik di Tiongkok dan berbagai negara Asia. Penyakit hati, pada usia dewasa, sebagian besar merupakan akibat dari infeksi hepatitis B pada usia awal kehidupan. Riwayat alamiah akibat penyakit virus hepatitis B pada bayi berbeda dengan orang dewasa. Imunisasi 0 hari pada bayi baru lahir terbukti menurunkan prevalensi Hepatitis Virus B (HVB). Infeksi HVC akut akan berlanjut menjadi kronis sebesar 85%, sedangkan 20% akan berakhir dengan sirosis dan *karsinoma hepatoseluler* (kanker hati).

Prevalensi *carrier* bervariasi mulai dari 0,1-2% untuk daerah dengan tingkat prevalensi rendah, 3-5% untuk daerah dengan prevalensi sedang, 10-20% untuk daerah dengan tingkat prevalensi tinggi (Lok and Chan, 2000). Indonesia termasuk negara dengan tingkat prevalensi sedang sampai tinggi. Telah dilaporkan bahwa rerata *carrier* dari pendonor darah di Indonesia berkisar 2,1-9,5%, di Provinsi Papua sebesar 10,5% (Lusida, MI, et al., 2008). Penelitian juga melaporkan bahwa genotip VHB di Makassar, Sulawesi Selatan lebih dominan HBV/B dan HBV/C, meskipun HBV/D juga ditemukan meskipun jarang (Utama et al., 2009)

Strain VHB yang menginfeksi manusia menunjukkan perbedaan secara genetik, diklasifikasikan menjadi 8 genotipe (A sampai H), berdasarkan homologi 96% pada gen S (Okamoto et al, 1988). VHB juga diklasifikasikan menjadi 9 subtipe (*adw2*, *adw4*, *ayw1*, *ayw2*, *ayw3*, *ayw4*, *adrq+*, *adrq-*, *ayr*). Indonesia terbagi menjadi 4 zona subtipe HBV secara geografis, yaitu : zona *adw* yang meliputi Sumatra, Jawa, Bali, Lombok, Ternate, Morotai, Kalimantan selatan; zona *ayw* yang meliputi Nusa Tenggara Timur; zona campuran yang meliputi Kalimantan, Sulawesi, Sumbawa dan zona *adr* yang meliputi wilayah Papua yang sangat khas karena didominasi oleh subtype *adr* (Mulyanto et al, 1997).

II.3 Transmisi Virus Hepatitis B (VHB)

Tiga modus transmisi hepatitis B adalah melalui darah, hubungan seksual dan secara vertical dari ibu kepada bayinya selama periode perinatal (Levinson and Jawetz, 2003). Konsentrasi tertinggi virus hepatitis B berada di darah, sementara itu konsentrasi sedang berada di semen, cairan vagina dan saliva (CDC, 2003).

Penularan infeksi virus hepatitis B melalui berbagai cara yaitu :

- a. Parenteral : dimana terjadi penembusan kulit atau mukosa misalnya melalui tusuk jarum atau benda yang sudah tercemar virus hepatitis B dan pembuatan tattoo
- b. Non Parenteral : karena persentuhan yang erat dengan benda yang tercemar virus hepatitis B.

Secara epidemiologik penularan infeksi virus hepatitis B dibagi 2 cara penting yaitu:

- a. Penularan vertikal; yaitu penularan infeksi virus hepatitis B dari ibu yang HBsAg positif kepada anak yang dilahirkan yang terjadi selama masa perinatal. Resiko terinfeksi pada bayi mencapai 50-60 % dan bervariasi antar negara satu dan lain berkaitan dengan kelompok etnik.
- b. Penularan horizontal; yaitu penularan infeksi virus hepatitis B dari seorang pengidap virus hepatitis B kepada orang lain disekitarnya, misalnya: melalui hubungan seksual.

II.4 Patologi Hepatitis B

Pada manusia hati merupakan target organ bagi virus hepatitis B. Virus Hepatitis B (VHB) mula-mula melekat pada reseptor spesifik dimembran sel hepar kemudian mengalami penetrasi ke dalam sitoplasma sel hepar. Dalam sitoplasma VHB melepaskan mantelnya, sehingga melepaskan nukleokapsid. Selanjutnya nukleokapsid akan menembus dinding sel hati. Di dalam inti asam nukleat VHB akan keluar dari nukleokapsid dan akan menempel pada DNA hospes dan berintegrasi; pada DNA tersebut. Selanjutnya DNA VHB memerintahkan sel hati untuk membentuk protein bagi virus baru dan kemudian terjadi pembentukan virus baru. Virus ini dilepaskan ke peredaran darah, mekanisme terjadinya kerusakan hati yang kronik disebabkan karena respon imunologik penderita terhadap infeksi. Apabila reaksi imunologik tidak ada atau minimal maka terjadi keadaan karier sehat.

Gambaran patologis hepatitis akut tipe A, B dan Non A dan Non B adalah sama yaitu adanya peradangan akut diseluruh bagian hati dengan nekrosis sel hati disertai infiltrasi sel-sel hati dengan histiosit. Bila nekrosis meluas (masif) terjadi hepatitis akut fulminan. Bila penyakit menjadi kronik dengan peradangan dan fibrosis meluas didaerah portal dan batas antara lobulus masih utuh, maka akan terjadi hepatitis kronik persisten. Sedangkan bila daerah portal melebar, tidak teratur dengan nekrosis diantara daerah portal yang berdekatan dan pembentukan septa fibrosis yang meluas maka terjadi hepatitis kronik aktif.

II.5. Program Vaksinasi Hepatitis B pada anak-anak

Vaksin yang aman dan efektif mencegah hepatitis B telah tersedia sejak tahun 1982. Pengenalan program imunisasi anak-anak di banyak negara secara dramatis telah menurunkan angka karier HBV dan secara signifikan menurunkan kejadian Karsinoma Hepatosellular (Hou J, 2005).

Indonesia telah menerapkan program nasional vaksinasi hepatitis B pada bayi baru lahir sejak tahun 1997, dan angka cakupan (tiga dosis lengkap pemberian vaksin Hepatitis B) tahun 2007 diperkirakan oleh WHO/UNICEF mencapai rata-rata 78 % (WHO, 2009). Namun suatu studi pada anak sekolah yang dilakukan pasca program

imunisasi di Lamongan Jawa Timur menunjukkan angka prevalensi antiHBs masih rendah sekitar 23.7%. (Utsumi et al, 2010).

Program vaksinasi Hepatitis B yang diberlakukan secara universal memungkinkan munculnya *vaccine escape mutants*, yakni beberapa jenis mutasi virus yang terhindar dari sistem netralisasi dari antibodi yang terbentuk oleh vaksin. Hal ini mengakibatkan *Vaccine escape mutant* memiliki resiko infeksi di masyarakat karena vaksin HBV dan HBIG yang tersedia tidak efektif dalam upaya pencegahannya (Yamamoto et al, 1994).

Secara molekuler *Vaccine escape mutant* HBV menunjukkan mutasi pada region gen S (surface) yang mengkode determinan "a" HBsAg yang terletak pada posisi asam amino 99 sampai 168. Menurut Ogura et al, mutasi pada determinan a yang di induksi dengan pemberian imunisasi aktif dan atau pasif lebih banyak ditemukan dalam asam amino 139 sampai 147 (Ogura et al, 1999). Fenomena ini diperkuat adanya fakta bahwa mutasi regio gen S selain dapat terdeteksi pada anak-anak yang telah divaksinasi, juga pada resipien transplantasi liver yang diobati dengan antibodi monoclonal dan polyclonal Hepatitis B, dan juga pada karier kronis dengan infeksi HBV occult (Mu SC et al, 2009).

BAB III. TUJUAN DAN MANFAAT

III.1. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Menentukan angka prevalensi infeksi Hepatitis B pada anak-anak di Indonesia.
2. Menentukan titer antibody terhadap Hepatitis B pada anak-anak di Indonesia
3. Menentukan pola distribusi genotipe dan subtipe virus Hepatitis B pada anak-anak di Indonesia.

III.2. Manfaat Penelitian

Teoritis. Memberi informasi ilmiah tentang prevalensi, status imunitas dan genotype serta subtype virus Hepatitis B pada anak-anak yang lahir pasca program imunisasi nasional di Indonesia

Praktis. Dasar pengembangan program vaksinasi Hepatitis B yang efektif di Indonesia dengan keberagaman distribusi geografis genotype dan subtype virus Hepatitis B

BAB IV. METODE PENELITIAN

IV.1. Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan metode observasional deskriptif

IV.2. Populasi dan Sampel Penelitian

Populasi Penelitian

Populasi studi adalah anak-anak usia 1-13 tahun di Indonesia.

Sampel Penelitian

Sampel penelitian adalah anak-anak usia 1-13 tahun, di 4 zona subtype HBV antara lain :

1. Wilayah zona subtype *adw* : Sebagian Sumatra, Jawa, Bali
2. Wilayah zona subtype *adr* : Papua, Sumatra bagian Barat dan Utara
3. Wilayah zona subtype *ayw* : Nusa Tenggara, Maluku
4. Wilayah zona mix subtype : Kalimantan, Sulawesi

Pada tahun pertama, penelitian akan dilakukan pada dua daerah yaitu : Banda Aceh (Nangroe Aceh Darussalam) dan Kabupaten Kotawaringin Barat (Kalimantan Tengah). Namun karena kendala ijin dari instansi setempat, maka Banda Aceh diganti dengan Kota Kupang (Nusa Tenggara Timur).

Besar sampel : 240 anak setiap daerah, sehingga dua daerah total 480 anak

Kriteria Sampel Penelitian

Kriteria inklusi sampel adalah anggota populasi studi yang lahir pada era program imunisasi nasional Hepatitis B.

Kriteria eksklusi sampel adalah anggota populasi studi yang tidak bersedia mengikuti penelitian, tanpa persetujuan orangtua.

IV.3. Variabel Penelitian

Variabel penelitian meliputi : status HBsAg, Anti HBs, Anti HBc, Genotipe dan Subtipe HBV serta *Vaccine Escape Mutant* dan mutan lain HBV.

Definisi operasional

- HBsAg : antigen pada permukaan HBV, dideteksi menggunakan metode ELISA
- Anti HBs : antibodi terhadap antigen permukaan HBV, dideteksi menggunakan metode ELISA
- Anti HBc : antibodi terhadap antigen inti HBV, dideteksi menggunakan metode ELISA
- Genotipe HBV : Tipe genome HBV didasarkan holomogi sebesar minimal 96% pada regio S, dideteksi dengan metode *DNA sequencing*.
- Subtipe HBV : Tipe antigen permukaan HBV ditentukan berdasarkan deduksi dari prediksi sekuens asam amino HBsAg.
- *Vaccine escape mutant* dan mutan lain HBV: Jenis HBV yang memiliki mutasi pada gen tertentu sehingga mampu menghindar dari antibodi, dideteksi pada orang dengan anti HBs yang positif menggunakan metode analisa susunan asam amino permukaan HBV sesuai hasil PCR dan *DNA sequencing*.

IV.4. Alur Pelaksanaan Penelitian

1. Mengumpulkan 3-5 ml darah dari anak-anak usia 1-13 tahun di sejumlah daerah, dengan total 240 sampel tiap daerah dan diproses menjadi serum.
2. Mengumpulkan informasi mengenai data imunisasi Hepatitis B (waktu vaksin, nama vaksin, tempat pemberian vaksin)
3. Semua serum disimpan dalam suhu -20°C sampai ditransport ke Institute of Tropical Disease (ITD) Unair Surabaya, kemudian disimpan suhu -80°C.
4. Memeriksa HBsAg, anti HBs dan anti HBc dengan metode ELISA (Hepalisa Kit Diagnostic) pada seluruh sampel yang dikumpulkan.
5. Selanjutnya pada sampel dengan HBsAg positif dan/atau Anti HBs positif dan/atau anti HBc positif, dilakukan ekstraksi DNA HBV dari 100 µl sampel serum dengan menggunakan kit ekstraktor DNA (QIAamp DNA Blood Mini Kit ; Qiagen, Tokyo,

Japan). Jumlah estimasi sampel yang dilakukan ekstraksi DNA adalah 180 per daerah, dihitung sesuai penelitian Lusida et al, 2010.

6. Pemeriksaan DNA HBV dengan metode polymerase chain reaction (PCR) nested dengan pasangan primer gen surface virus yaitu primer PCR tahap 1, P7(5'-GTGGTGGACTTCTCTCAATTTTC-3'), P8 (5'-CGCTAW^[AVCI] AAAGGG ACTCAM^[AVCI] GAT-3'), dan bila hasil negatif dilanjutkan primer HBS1 (5' - CAA GGTATGTTGCCCGTTTG-3') dan HBS2 (5'-AAAGCCCTGCGAACCAC TGA-3') (Lusida et al, 2008).
7. Produk PCR yang positif disequencing menggunakan reagen Big Dye Deoxy Terminator sequencing kit dengan ABI PRISM 310 genetic analyzer (Applied Biosystems, Foster City, CA). Jumlah estimasi DNA HBV amplicon sebesar 25 sampel per daerah, dihitung berdasar penelitian Lusida et al, 2010.
8. Genotipe HBV ditentukan berdasarkan homologi gen S lebih dari 96 % dan phylogenetic tree dari regio S dengan strain reference HBV dari berbagai Genotipe (dari DNA Data Bank of Japan/European Molecular Biology Laboratory/Gen Bank Database). (Magnius and Norder, 1995; Arauz Ruiz et al (1997). Analisis dilakukan dengan menggunakan software Molecular Evulotioary Genetic Analysis (MEGA).
9. Urutan basa nukleotida dari gen S ditranslasikan menjadi asam amino dan dibandingkan dengan strain HBV reference dari GenBank untuk menentukan subtype HBV (Okamoto et al, Norder et al 1988, Kramvis et al 2005) dan keberadaan Vaccine Escape Mutant (Kreutz et al, 2002; Weber et al, 2005).

BAB V. RENCANA CAPAIAN, HASIL DAN PEMBAHASAN

V.1. Rencana Capaian Penelitian

Penelitian ini dilakukan dalam beberapa tahapan yaitu :

Tahap 1 (Januari - Juni 2012) :

1. Pengajuan ijin penelitian ke instansi setempat (Kab Kotawaringin Barat-Kalimantan Tengah dan Banda Aceh-Nangroe Aceh Darussalam)
2. Persiapan alat dan bahan
3. Pengambilan dan penyimpanan sampel
4. Pemeriksaan serologi I (HBsAg)

Tahap 2 (Juli - September 2012) :

1. Pemeriksaan serologi II (Anti HBs dan anti HBc)
2. Ekstraksi DNA dan PCR
3. Sequencing DNA

Tahap 3 (Oktober – Desember 2012)

1. Analisis molekuler DNA virus Hepatitis B
2. Pembuatan laporan akhir penelitian
3. Penyusunan draf jurnal ilmiah

V.2. Hasil Penelitian

V.2.1 Kabupaten Kotawaringin Barat – Kalimantan Tengah

1. Karakteristik subjek penelitian

Lokasi pengambilan sampel dilaksanakan di wilayah Puskesmas Kumai, Kabupaten Kotawaringin Barat. Jumlah subjek yang mengikuti penelitian dan dilakukan analisa sebanyak 258 anak, yang terbagi menjadi kelompok usia balita (1-5 tahun) dan kelompok usia anak SD (6-13 tahun).

Secara lengkap karakteristik subjek penelitian di Kab Kotawaringin Barat dapat dilihat pada tabel 5.1.

Tabel 5.1. Karakteristik subjek penelitian berdasar kelompok usia dan jenis kelamin di Kab Kotawaringin Barat, Kalimantan Tengah

Kelompok usia anak	Jenis kelamin		Total
	laki-laki	Perempuan	
balita (1-5 th)	77	66	143
anak SD (6-13 th)	64	51	115
Jumlah	141	117	258

2. Pemeriksaan serologi

Pada seluruh sampel dilakukan uji serologi berupa HBsAg, anti HBs, dan anti HBe. Status HBsAg subjek penelitian ditampilkan pada tabel 5.2, yang diketahui bahwa jumlah status HBsAg positif adalah 3 dari 258 anak (1.2%) yang semuanya pada kelompok balita.

Tabel 5.2. Status HBsAg berdasar kelompok usia subjek di Kab. Kotawaringin Barat, Kalimantan Tengah

Kelompok usia subjek	HBsAg		Total
	Positif	Negatif	
Balita	3	140	143
Anak SD	0	115	115
Jumlah	3	255	258

Selanjutnya status Anti HBs positif pada anak di Kab Kotawaringin Barat Kalimantan Tengah sejumlah 112 anak (43.4%) dengan perincian pada kelompok balita sejumlah 88 anak (61.5%) dan kelompok anak SD 24 anak (26.4%). Selengkapnya data status anti HBs dapat dilihat pada tabel 5.3.

Tabel 5.3. Status anti HBs berdasar kelompok usia subjek di Kab Kotawaringin Barat Kalimantan Tengah

Kelompok usia subjek	Anti HBs		Total
	Positif	Negatif	
Balita	88	55	143
Anak SD	24	91	115
Jumlah	112	146	258

Sedangkan status anti HBc pada anak di Kab Kotawaringin Barat ditunjukkan pada tabel 5.4.

Tabel 5.4. Status anti HBc berdasar kelompok usia subjek di Kab Kotawaringin Barat, Kalimantan Tengah

Kelompok usia Subjek	Anti HBc		Total
	Positif	Negatif	
Balita	5	138	143
Anak SD	6	109	115
Jumlah	11	247	258

Dari data pada tabel 5.4 diketahui bahwa jumlah total status anti HBc positif sejumlah 11 dari 258 anak (4.3%), dengan perincian anti HBc positif pada kelompok balita 5 dari 143 anak (3.5%) dan kelompok anak SD 6 dari 109 anak (5.5%).

Tabel 5.5. Status serologis Hepatitis B anak di Kab Kotawaringin Barat, Kalimantan Tengah

Grup	Status serologis			Jumlah
	HBsAg	Anti HBc	Anti HBs	
I	-	-	-	138 (53.5%)
II	-	+	+	4 (1.5%)
III	-	-	+	108 (41.9%)
IV	+	+	-	2 (0.8%)
V	-	+	-	5 (1.9%)

Berdasarkan tabel 5.5 diketahui terdapat 5 kelompok status serologis yakni kelompok I yakni kelompok yang memerlukan imunisasi hepatitis B. Kelompok II adalah kelompok yang memiliki imunitas terhadap hepatitis B karena infeksi alami, kelompok III memiliki imunitas terhadap hepatitis B karena riwayat imunisasi. Kelompok IV merupakan kelompok yang terinfeksi hepatitis B akut maupun kronik (dibedakan dengan pemeriksaan IgM anti HBc) dan kelompok V yakni kelompok yang terinfeksi yang pulih.

Tabel 5.6. Data subjek dengan HBsAg positif di Kab Kotawaringin Barat, Kalimantan Tengah

No	Kode	Usia (Tahun)	Jenis Kelamin	Status imunisasi			
				HB0	HB- DPT1	HB- DPT2	HB- DPT3
1	KB 017	2	Perempuan	X	V	V	V
2	KB 023	1	Laki-laki	X	V	V	V
3	KB 130	1	Laki-laki	V	V	V	V

(Keterangan : NA=Not Available/tanpa data; X=tidakimunisasi; V=imunisasi)

3. Pemeriksaan Molekuler

Tabel 5.7. Hasil pemeriksaan PCR pada sampel dengan HBsAg positif di Kab Kotawaringin Barat Kalimantan Tengah

No	Kode	PCR 1 st round (P7-P8)	PCR 2 nd round (HBs1-HBs2)
1	KB 017	Neg	+
2	KB 023	+	-
3	KB 130	+	-

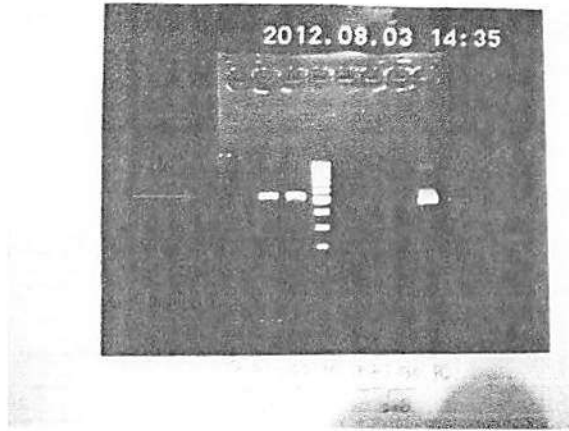
Keterangan :

Neg : pada ELP tidak tampak band

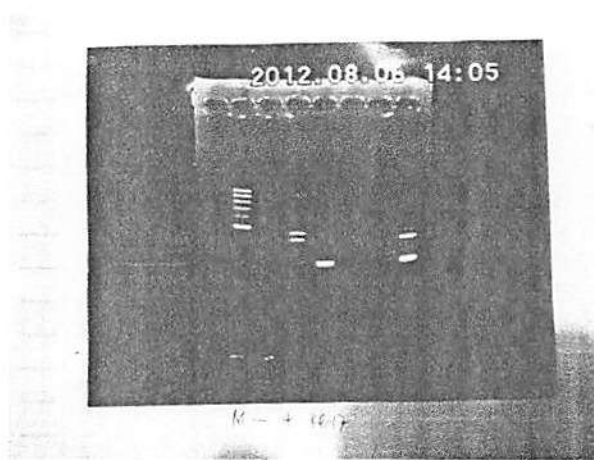
+

- : tidak dilanjutkan (karena sudah positif pada PCR 1st round)

Gambar 5.1 Hasil elektroforesis PCR 1st round 540bp (sebelah kiri marker)



Gambar 5.2 Hasil elektroforesis PCR 2nd round 258 bp



Hasil produk PCR dilakukan sekuensing nukleotida dan analisis molekuler untuk menentukan genotype dan subtype virus Hepatitis B serta ada tidaknya strain HBV vaccine escape mutant.

Pada tabel 5.8 ditunjukkan data karakteristik virus dari anak dengan DNA HBV positif yang diidentifikasi dari Kab Kotawaringin Barat Kalimantan Tengah.

Tabel 5.8. Data karakteristik demografis, serologis dan genotipe virus dari anak-anak dengan DNA HBV positif di Kab Kotawaringin Barat, Kalimantan Tengah

No ID	Usia (tahun)	Jenis Kelamin	Genotipe	Subtipe	HBsAg	anti HBs	anti HBc
KB17	3	Perempuan	B	<i>adw2</i>	+	-	-
KB23	1	laki-laki	B	<i>adw2</i>	+	-	+
KB26	4	laki-laki	B	<i>adw2</i>	-	+	+
KB48	3	laki-laki	B	<i>adw2</i>	-	+	+
KB130	2	laki-laki	B	<i>adw2</i>	+	-	+
KM60	10	laki-laki	B	<i>adw2</i>	-	+	+
KM61	12	laki-laki	B	<i>adw2</i>	-	-	+
KR18	11	Perempuan	B	<i>adw2</i>	-	-	+

V.2.2 Kota Kupang, Nusa Tenggara Timur

1. Karakteristik subjek penelitian

Lokasi pengambilan sampel dilaksanakan di wilayah Puskesmas Oepoi, Kota Kupang, NTT. Jumlah subjek yang mengikuti penelitian dan dilakukan analisa sebanyak 178 anak dengan usia 1-12 tahun.

2. Pemeriksaan Serologi

Dari total jumlah 177 subjek yang mengikuti penelitian, sejumlah sampel masih dilakukan pemeriksaan untuk konfirmasi hasil uji serologis. Berikut hasil sementara pemeriksaan serologis sampel di Kota Kupang, NTT.

Status HBsAg positif : 6/177 (3.4%)

Status anti HBs positif : 90/177 (50.8%)

Status anti HBc positif : 9/177 (5.1%)

Selanjutnya untuk interpretasi data serologis, kami mengelompokkan subjek menjadi 5 kelompok (lihat tabel 5.9). Kelompok grup I merupakan grup yang masih dapat terinfeksi HBV sehingga membutuhkan imunisasi Hepatitis B. Prosentase grup I di Kota Kupang NTT adalah 45.8%.

Pada grup II merupakan kelompok yang memiliki antibodi terhadap hepatitis B core (anti-HBc) karena terpapar infeksi HBV secara alami. Prosentase di Kota Kupang NTT sebesar 1.7%.

Sedangkan kelompok yang menunjukkan adanya penanda serologis anti-HBs saja yang positif ditunjukkan pada grup III. Pada kelompok ini prosentase anak yang memiliki imunitas terhadap hepatitis B pada wilayah Kota Kupang NTT 85 anak (48.0%). Rendahnya jumlah anak yang memiliki imunitas terhadap infeksi HB dibandingkan cakupan imunisasi HB yang relatif baik (Kota Kupang 73.9%) dapat dikarenakan beberapa faktor antara lain anak memang belum pernah diimunisasi HB, atau pernah diimunisasi HB namun titer anti HBs nya telah menurun sehingga tidak terdeteksi, atau kemungkinan adanya kegagalan imunisasi HB.

Grup IV merupakan kelompok yang masih terinfeksi hepatitis B akut maupun kronik (dapat dibedakan dengan pemeriksaan IgM anti HBc), dimana prosentase pada ana-anak di wilayah Kota Kupang sebesar 2.3 %. Selanjutnya kelompok V dengan anti HBc saja yang positif secara umum dikarenakan kasus infeksi hepatitis B lalu (*resolved infection*)¹³ atau dapat merupakan infeksi kronis dengan level rendah.

Tabel 5.9 Status serologis Hepatitis B anak di Kota Kupang, Nusa Tenggara Timur

Grup	Status serologis			Nusa Tenggara Timur (N:177)
	HBsAg	Anti HBc	Anti HBs	
I	-	-	-	81 (45.8%)
II	-	+	+	3 (1.7%)
III	-	-	+	85 (48.0%)
IV	+	+	-	4 (2.3%)
V	-	+	-	2 (1.1%)

Pada pemeriksaan molekuler berhasil diidentifikasi 9 sampel dari Kota Kupang NTT dengan DNA HBV positif pada sampel dengan HBsAg dan atau anti HBc positif. Selanjutnya dilakukan sekuensing nukleotida dan analisis molekuler genotipe, subtype HBV dan keberadaan vaccine escape mutant. Data karakteristik sampel dengan DNA HBV positif dapat dilihat dari tabel 5.10 berikut.

Tabel 5.10. Data karakteristik demografis, serologis dan genotipe virus dari anak-anak dengan DNA HBV positif di Kota Kupang, Nusa Tenggara Timur

No ID	Usia (tahun)	Jenis Kelamin	Genotipe	Subtipe	HBsAg	anti HBs	anti HBc
NA31	8	perempuan	C	adw2	+	+	-
NA35	8	perempuan	B	adw2	-	+	+
NA95	11	laki-laki	C	adr	-	-	+
NT43	4	perempuan	B	adw2	-	+	+
NT51	4	perempuan	B	ayw1	+	+	-
NA08	6	perempuan	C	adw3	+	-	+
NA25	8	perempuan	C	adr	+	-	+
NT28	6	perempuan	B	ayw1	+	-	+
NT50	5	laki-laki	B	ayw1	+	-	+

Selengkapnya susunan asam amino gen S pada sampel dengan DNA HBV positif baik dari Kab Kotawaringin Barat Kalimantan Tengah, maupun Kota Kupang NTT dapat diamati pada gambar 5.3.

Gambar 5.3 Susunan asam amino gen S sampel dengan DNA HBV positif di Kab Kotawaringin Barat Kalimantan Tengah dan Kota Kupang NTT

	122	127	134	137	141	145	160	177
	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓
X75656 C adw	P	C	K	T	C	H	P	R
KB17 B adw2	P	C	K	T	C	H	P	R
KB23 B adw2	P	C	K	T	C	H	P	R
KB26 B adw2	P	C	K	T	C	H	P	R
KB48 B adw2	P	C	K	T	C	H	P	R
KE130 B adw2	P	C	K	T	C	H	P	R
KM60 B adw2	P	C	K	T	C	H	P	R
KM61 B adw2	P	C	K	T	C	H	P	R
KRI18 B adw2	P	C	K	T	C	H	P	R
NA08 C adw3	P	C	K	T	C	H	P	R
NA25 C adr	P	C	K	T	C	H	P	R
NA31 C adw2	P	C	K	T	C	H	P	R
NA35 B adw2	P	C	K	T	C	H	P	R
NA95 C adr	P	C	K	T	C	H	P	R
NT28 B ayw1	P	C	K	T	C	H	P	R
NT43 B adw2	P	C	K	T	C	H	P	R
NT50 B ayw1	P	C	K	T	C	H	P	R
NT51 B ayw1	P	C	K	T	C	H	P	R

Keterangan:

- ↓ : letak asam amino penentu subtype HBV
- ↓ : letak asam amino penentu keberadaan HBV vaccine escape mutant

V.3. Pembahasan

V.3.1. Wilayah Kalimantan Tengah

Sampel yang diambil berupa sampel darah anak-anak dan balita usia 1-13 tahun, masing-masing 3-5 ml, lalu disentrifus dan dikoleksi berupa serum darah. Jumlah total sampel serum yang berhasil dikumpulkan sebanyak 261 sampel. Sebanyak 3 sampel tidak dilakukan analisa lebih lanjut dikarenakan data individu yang kurang lengkap, sehingga total sampel yang dilakukan pemeriksaan serta analisa hasil dari Kab Kotawaringin Barat, Kalimantan Tengah menjadi 258 anak.

Dari data sekunder Dinas Kesehatan setempat, cakupan imunisasi Hepatitis B di Kab Kotawaringin Barat, Kalimantan Tengah tahun 2011, cakupan imunisasi HB0 sebesar 40.9%, imunisasi DPT/HB1, DPT/HB2, DPT/HB3 masing masing sebesar 102.1%, 97.8%, dan 94.1%.

Prevalensi HBsAg positif sebanyak 3 anak (1.2%) yang didapatkan pada kelompok usia balita, sedangkan pada anak SD tidak ditemukan status HBsAg positif (tabel 5.2). Secara keseluruhan angka keberhasilan imunisasi HB pada anak di Kab Kotawaringin Barat dapat dilihat berdasarkan status anti HBs pada tabel 5.5, dimana grup III jumlah anak yang memiliki imunitas terhadap Hepatitis B sebesar 108 anak (41.9%).

Pada pemeriksaan molekuler, diketahui terdapat 8 sampel dengan DNA HBV positif yang dilanjutkan analisis molekuler. Seluruh sampel di Kab Kotawaringin Barat merupakan HBV genotipe B dan subtype adw2. HBV genotipe B merupakan strain HBV yang banyak ditemukan di wilayah Indonesia, sedangkan subtype adw merupakan subtype HBV yang secara geografis banyak ditemukan di wilayah Sumatra, Jawa dan Kalimantan bagian selatan.

Pada sampel KM 61 ditemukan adanya mutasi pada gen S sehingga menimbulkan perubahan asam amino yakni Methionine menjadi Leusine. Mutasi M133L ini diduga

merupakan salah satu mutasi yang dapat mengakibatkan strain HBV vaccine escape mutant.

V.3.2. Kota Kupang, NTT

Sampel yang diambil berupa sampel darah anak-anak dan balita usia 1-13 tahun, masing-masing 3-5 ml, lalu disentrifus dan dikoleksi berupa serum darah. Jumlah total sampel serum yang berhasil dikumpulkan dari Kota Kupang NTT sebanyak 178 anak.

Dari data sekunder puskesmas Oepoi, Kota Kupang tempat pelaksanaan pengambilan sampel, diketahui bahwa pada tahun 2011 cakupan imunisasi HB0 sebesar 46.8%, lalu cakupan imunisasi DPT/HB1, DPT/HB2, DPT/HB3 berturut-turut sejumlah 84%, 75.6%, dan 73.9%.

Hasil sementara pemeriksaan uji serologis hepatitis B diketahui bahwa prevalensi HBsAg positif pada anak usia 1-12 tahun adalah sejumlah 6 anak (3.4 %), dan prevalensi anti HBs positif sejumlah 50.8%. Dan jumlah prevalensi status anti HBc positif sebesar 9 anak (5.1%).

Pada pemeriksaan molekuler, diketahui terdapat 9 sampel dengan DNA HBV positif yang dilanjutkan analisis molekuler. Sebanyak 5 sampel merupakan HBV genotipe B dan 5 sampel lain HBV genotipe C. Sedangkan distribusi subtype HBV di Kota Kupang bervariasi, dengan jumlah HBV subtype adw, ayw dan adr masing masing sebanyak 4, 3 dan 2 sampel. Sedangkan keberadaan HBV Vaccine Escape mutant di Kota Kupang NTT tidak teridentifikasi.

VI. KESIMPULAN DAN SARAN

VI.1. Kesimpulan

Berdasarkan proses penelitian yang telah dilakukan, diperoleh beberapa informasi :

1. Angka prevalensi Hepatitis B (HBV DNA positif) pada anak-anak di wilayah Kabupaten Kotawaringin Barat Kalimantan Tengah dan Kota Kupang NTT masing masing sebesar 8/258 anak (3.1%) dan 9/177 anak (5.1%), masih lebih tinggi dari target nasional yakni prevalensi Hepatitis B carier dibawah 2%.
2. Distribusi genotipe dan subtype HBV pada anak-anak di wilayah Kab Kotawaringin Barat-Kalimantan Tengah, seluruhnya adalah HBV genotipe B dan subtype adw2
3. Distribusi genotipe dan subtype HBV pada anak-anak di wilayah Kota Kupang NTT bervariasi yakni HBV genotipe B 5 sampel, HBV genotipe C 4 sampel. Sedangkan subtype yang ada yakni adw, ayw dan adr,
4. Mutasi M133L merupakan mutasi HBV yang ditemukan pada anak di Kalimantan Tengah sehingga diduga sebagai jenis HBV vaccine escapa mutant

VI.2. Saran

1. Pada penelitian berikutnya (tahun 2013), direncanakan penelitian studi molekuler Hepatitis B yang lebih mendalam pada populasi anak dan ibu hamil yang berada di Kalimantan Tengah.

DAFTAR PUSTAKA

- 1) Arauz Ruiz P, Norder H, Visona KA, Magnius LO. 1997. Molecular epidemiology of Hepatitis B Virus in Central America reflected in genetic variability of the small S gene. *J Infect Dis* 176:851-858.
- 2) Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Departemen Kesehatan RI. 2008. *Laporan Hasil Riset Kesehatan Dasar Nasional 2007*.
- 3) Creati M , Saleh A , Ruff TA . Stewart T , Otto B , Sutanto A , Clements CJ , 2007 . Implementing the birth dose of hepatitis B vaccine in rural Indonesia . *Vaccine* 25: 5985 – 5993.
- 4) Hou J , Liu Z , Gu F , 2005. Epidemiology and prevention of hepatitis B virus infection . *Int J Med Sci* 2: 50 – 57.
- 5) Juniastuti, Maria I. Lusida, Victor Eka Nugrahaputra, Mochamad Amin, Takako Utsumi, Yoshitake Hayashi, Hak Hotta. Another Novel Subgenotype of Hepatitis B Virus Genotype C from Papuans of Highland Origin. *Journal of Medical Virology* (2011). 83:225-234.
- 6) Khan M, J.J. Dong, S.K. Acharya, Y. Dhagwardorj, Z. Abbas, W. Jafri, D.H. Mulyono, N. Tozun, and S.K. Sarin. 2004. Hepatology issues in Asia : perspective from regional leaders. *J. Gastroentrol. Hepatol.* 19:S419-S430.
- 7) Kramvis A, Kew M, Francois G. 2005. Hepatitis B genotypes. *Vaccine* 23:2409-2423.
- 8) Kreutz, C. Molecular, immunological and clinical properties of mutated hepatitis B viruses. *J. Cell Mol. Med*, 2002, 6 (1), 113-143
- 9) Lee WM , 1997 . Hepatitis B virus infection . *N Engl J Med* 337:1733 – 1745.
- 10) Lemeshow S, Hosmer DW Jr, Lwanga SK. 1997. *Besar Sampel Dalam Penelitian Kesehatan*. Gajah Mada University Press.
- 11) Lusida M.I., V.E. Nugrahaputra, Soetjipto, R. Handayani, M. Naganofujii, M. Sasayama, T. Utsumi, and H. Hotta. 2008. Novel subgenotypes of hepatitis B virus genotype C and D in Papua, Indonesia. *J. Clin. Microbiol.* 46:2160:2166.
- 12) Lusida M.I., et al. 2010. Hepatitis B Serologic And Genetic Profile Among School Children In South-East Sulawesi, Indonesia, In The Universal Vaccination Program For Infants Era In Indonesia. Presentasi ilmiah pada Asian – African Research Forum On Emerging And Reemerging Infections 2010. Hanoi, 11-12 November 2010.
- 13) Magnius LO, Norder H. 1995. Subtype, genotype and molecular epidemiology of the hepatitis B virus as reflected by sequence variability of the S gene. *Intervirology* 38:24-34.
- 14) Merican, I., R. Guan., Amarpuka, M.J. Alexander, A.Chutaputi, R.N. Chien, S.S. Hasnian, N. Leung, L. Lesmana, P.H. Phiet, H.M.Sjaifullah Noer, J.Sollano, H.S. Sun, and D.Z.Xu. 2000. Chronic hepatitis B virus infection in Asian countries. *J. Gastroenterol Hepatol.* 15:1356-1361.
- 15) Mulyanto, Tsuda F, Karossi AT, Soewignjo S, Roestamsjah, Sumarsidi Wikanta, Kanai K, Mishiro S. 1997. Distribution of the hepatitis B virus in Indonesia : Implication for ethnic heterogeneity and infection control measures. *Arch Virol* 142:2121-2129.
- 16) Mu SC , Lin YM , Jow GM , Chen BF , 2009. Occult hepatitis B virus infection in hepatitis B vaccinated children in Taiwan. *J Hepatol* 50: 264 – 272 .

- 17) Norder H, Courouce AM, Coursaget P, Echevaria JM, Lee SD, Mushahwar IK, Robertson BH, Locarnini S, Magnius LO. 2004. Genetic diversity of hepatitis B virus strains derived worldwide: Genotype, subgenotypes, HBsAg subtypes. *Intervirology* 47:289-309
- 18) Ogura, Y; Kurosaki, M; Asahina, Y; Enomoto, N; Maruno, F; Sato, C. Prevalence and significance of naturally occurring mutations in the surface and polymerase genes of hepatitis B virus. *J. Infect. Dis*, 1999, 180 (5),1444-51.
- 19) Okamoto, H., F. Tsuda, H. Sakugawa, R.I.Satrosoewignjo, 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.
- 20) Utsumi T., Yano Y., Lusida M.I, Amin M., Soetjipto, H. Hotta, and Hayashi Y. 2010. Serologic and Molecular Characteristics of Hepatitis B Virus among School Children in East Java, Indonesia.
- 21) Weber, B. Genetic variability of the S gene of hepatitis B virus: clinical and diagnostic impact. *J. Clin. Virol*, 2005, 32 (2), 102-12.
- 22) World Health Organization , 2009 . *Review of National Immunization Coverage 1980–2008*. Available at: http://www.who.int/immunization_monitoring/data/idn.pdf . Accessed August 6, 2009.
- 23) Yamamoto, K., Horikita, M., Tsuda, F., Itoh, K., Akahane, Y., Yotsumoto, S., Okamoto, H., Mikakawa, Y. & Mayumi, M. (1994). Naturally occurring escape mutants of hepatitis B virus with various mutations in the S gene in carriers seropositive for antibody to hepatitis B surface antigen. *Journal of Virology* 68 (4), 2671-2676.