

**TESIS**

**ANALISIS MOLEKULER VIRUS HEPATITIS B PADA  
CALON DAN TENAGA KERJA INDONESIA (TKI)  
ASAL PULAU LOMBOK NUSA TENGGARA BARAT  
DENGAN HBsAg POSITIF**



**EVA TRIANI**  
**NIM : 011142004**

**PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN TROPIS  
JENJANG MAGISTER FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA  
2013**

**ANALISIS MOLEKULER VIRUS HEPATITIS B PADA CALON DAN  
TENAGA KERJA INDONESIA (TKI) ASAL PULAU LOMBOK NUSA  
TENGGARA BARAT DENGAN HBsAg POSITIF**

**TESIS**

**Untuk memperoleh Gelar Magister  
dalam Program Studi Ilmu Kedokteran Tropis  
pada Jenjang Magister (S2) Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga**

**Oleh:**

**EVA TRIANI**

**NIM: 011142004**

**PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN TROPIS  
JENJANG MAGISTER FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA  
2013**

**LEMBAR PENGESAHAN**

Tesis dengan judul:

” Analisis Molekuler Virus Hepatitis B pada Calon dan Tenaga Kerja Indonesia  
(TKI) Asal Pulau Lombok Nusa Tenggara Barat  
dengan HBsAg Positif”

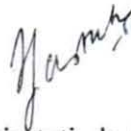
Telah disetujui untuk diujikan pada:  
11 September 2013

**Pembimbing Ketua**



Prof. Maria Lucia Inge Lusida, dr., M.Kes., Ph.D., SpMK  
NIP. 19580917 198603 2 001

**Pembimbing**



Dr. Juniastuti, dr., M.Kes  
NIP. 19710624 199802 2 001

**Mengetahui**

**Ketua Program Studi Ilmu Kedokteran Tropis (IKT)  
Jenjang Magister (S2) Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga**



Dr. Juniastuti, dr., M.Kes  
NIP. 197106241998022001

## **PENETAPAN PANITIA PENGUJI TESIS**

Tesis dengan judul:

“Analisis Molekuler Virus Hepatitis B pada Calon dan Tenaga Kerja Indonesia (TKI) Asal Pulau Lombok Nusa Tenggara Barat dengan HBsAg Positif”

Telah diujikan pada tanggal: 11 September 2013

### **Panitia penguji Tesis**

**Ketua** : Prof. Retno Handajani, dr.,MS.,Ph.D

**Anggota** : 1. Prof. Maria Lucia Inge Lusida, dr.,M.Kes.,Ph.D.,Sp.MK

2. Dr. Juniastuti, dr.,M.Kes

3. Abu Rohiman, dr.,MS.,Sp.MK

4. Budiono, dr., M.Kes

## UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga tesis ini dapat terselesaikan dengan baik sebagaimana mestinya. Keberhasilan yang dicapai oleh penulis dalam menyelesaikan tesis ini tidak lepas dari dukungan dan kerjasama banyak pihak ,oleh karena itu pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan terima kasih dan penghargaan yang tinggi kepada:

1. Prof. Dr. Maria Lucia Inge Lusida, dr., M.Kes., Ph.D., SpMK (K), selaku pembimbing utama yang dengan penuh perhatian dan kesabaran telah memberikan dorongan, bimbingan, saran dan motivasi yang sangat berharga, serta meluangkan waktunya selama penelitian dan penulisan tesis ini.
2. Dr. Juniastuti, dr.,M.Kes selaku pembimbing dan Ketua Program Studi Ilmu Kedokteran Tropis yang dengan penuh kesabaran telah memberikan bimbingan, arahan, nasehat, motivasi dan pengalaman berharga hingga terselesaikannya penulisan tesis ini.
3. Tim Penguji Tesis FKUA : Prof Retno Handajani, dr.,MS.,Ph.D selaku ketua penguji; Abu Rohiman, dr.,M.Kes.,Sp.MK; Budiono, dr.,Mkes yang dengan sabar telah memberikan bimbingan, saran, kritik dan banyak masukan guna perbaikan tulisan didalam tesis ini
4. Prof. Dr. Fasichul Lisan, Apt, selaku Rektor Universitas Airlangga Surabaya ; Prof. Dr. Agung Pranoto, dr., M.Kes., Sp.PD-KEMD.FINASIM selaku Dekan Fakultas Kedokteran atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan kepada saya untuk mengikuti dan menyelesaikan pendidikan Magister di Universitas Airlangga Surabaya

5. Rektor Universitas Mataram, dan Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Mataram atas kesempatan yang diberikan kepada saya untuk mengikuti dan menyelesaikan pendidikan Magister di Universitas Airlangga Surabaya.
6. Ketua Tim Koordinasi Program Studi Magister (TKPSM) Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga beserta stafnya atas segala fasilitas dan bantuan kepada saya selama mengikuti pendidikan program magister di Universitas Airlangga Surabaya.
7. Prof.Dr.Nasronudin,dr.,Sp.PD-KPTI FINASIM selaku Kepala *Institute of Tropical Disease* Universitas Airlangga Surabaya beserta staf atas ijin, bantuan serta segala fasilitas kepada saya selama penelitian dan penulisan tesis ini
8. Ketua kelompok minat studi hepatitis *Institute of Tropical Disease* Universitas Airlangga Surabaya Prof.Soetjipto, dr., MS., Ph.D. atas ijin, bantuan serta segala fasilitas kepada saya selama penelitian dan penulisan tesis ini
9. Prof.Dr.dr. Mulyanto atas izin dan segala fasilitas serta bantuan kepada saya selama penelitian di Laboratorium Hepatika Mataram dan para analis di Laboratorium Hepatika Mataram, Priyanti, H. Zulkifli, Wati atas segala bantuannya selama kegiatan penelitian
10. Para staf di labolatorium hepatitis *Institute of Tropical Disease* Universitas Airlangga Surabaya Mochamad Amin, S.Si.,M.Si; Rury Mega Wahyuni,drh; Anittaqwa Isti Maghfiroh,S.Si.,M.Si atas bantuan, arahan serta kerjasama yang baik selama penelitian dan penulisan tesis ini
11. Kedua orangtuaku tercinta, Drs. H.Kiyat dan Hj. Sri Katon serta kakak-kakakku Sugiharto, ST; Sri Indah Budiarti, ST; M.Zaenal Musthofa, ST

;Titian Praharani,SE atas segala doa, perhatian, kepercayaan dan kasih sayang yang telah menjadi motivasi dalam menempuh pendidikan hingga selesai.

12. Suamiku tercinta Dody Handito,STP.,MP dan kedua buah hatiku tercinta Nadhifa Aisyah Salsabila dan Muhammad Rafi Al Ghifari atas segala kasih sayang, pengorbanan dan doa kalian yang telah menjadi inspirasi dan sumber motivasi terbesar dalam hidupku
13. Bapak dan ibu mertua, Ir.H. Samiadi,SU dan Ir.Hj. Hanartani,SU yang telah memberikan motivasi dan doa hingga terselesaikannya tulisan ini.
14. Teman-teman seperjuangan terutama angkatan 2011, Hilkatul Ilmi Hendra Kurniawan; Nasar Radfan; Lisa Maftukha Rahmawati; M.Nuruddin Mahmud; Steven; Anik Luthfiah; Erika Maria Resi yang telah banyak membantu kelancaran studi dan menularkan semangat perjuangan untuk menyelesaikan amanah menempuh pendidikan di institusi ini
15. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang telah membantu dan mendukung baik selama menempuh pendidikan maupun penelitian sampai tesis ini selesai.

Penulis menyadari bahwa tesis ini masih jauh dari sempurna, sehingga penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun guna perbaikan dimasa mendatang. Semoga nantinya tesis ini dapat bermanfaat dan menjadi inspirasi untuk penelitian selanjutnya.

Surabaya, Agustus 2013

Penulis

## RINGKASAN

**ANALISIS MOLEKULER VIRUS HEPATITIS B PADA CALON DAN TENAGA KERJA INDONESIA (TKI) ASAL PULAU LOMBOK NUSA TENGGARA BARAT DENGAN HBsAg POSITIF**

Infeksi virus hepatitis B (VHB) merupakan masalah dunia dan juga di Indonesia. Indonesia memiliki tingkat endemisitas hepatitis B yang tinggi. Masing-masing genotipe maupun sub tipe VHB dapat memperlihatkan perbedaan dalam distribusi geografis, karakteristik klinik dan virologik serta dapat memberikan informasi historik tentang pola migrasi nenek moyang penduduk setempat.

Pulau Lombok merupakan daerah tujuan pariwisata dunia sehingga penyakit infeksi menular menjadi perhatian yang serius. Dari beberapa penelitian sebelumnya, persentase infeksi VHB di Lombok cukup tinggi. beberapa tahun belakangan, Pulau Lombok merupakan daerah berkembang sangat pesat dengan pertumbuhan demografi, sosial ekonomi maupun dinamika penduduknya. Rata-rata penduduk di Pulau Lombok banyak yang bekerja di luar negeri sebagai Tenaga Kerja Indonesia (TKI). Keadaan ini dapat memberikan kontribusi terhadap kemungkinan beragamnya genotipe dan sub tipe VHB di wilayah tersebut

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis genotipe dan sub tipe VHB pada calon dan Tenaga Kerja Indonesia yang berasal dari Pulau Lombok Nusa Tenggara Barat. Sangat diperlukan data-data dan analisis tentang genotipe dan sub tipe VHB pada calon dan TKI asal Pulau Lombok yang terbaru dan lebih representatif.

Subyek penelitian adalah 211 orang calon dan TKI yang datang untuk pemeriksaan kesehatan di Laboratorium Hepatika dan Klinik MDC Mataram selama periode pengambilan sampel yang bersedia ikut penelitian. Semua sampel serum diperiksa HBsAg dengan metode *Immunochromatography* kemudian dikonfirmasi dengan metode *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA). Pada sampel serum dengan HBsAg positif ditentukan genotipe, dan sub tipe VHB. DNA VHB diekstraksi dari sampel serum yang HBsAg positif. Amplifikasi bagian dari



gen regio S DNA VHB dari serum HBsAg positif dilakukan dengan polymerase chain reaction (PCR) *first-round* menggunakan *primer* P7 dan P8. Jika amplifikasi PCR *first-round* ini negatif, dilakukan PCR *second-round* menggunakan *primer* HBS1 dan HBS2. Kondisi siklus untuk kedua round PCR adalah 40 siklus pada 94°C selama 1 menit, 50°C selama 1 menit dan 72°C selama 2 menit Produk PCR divisualisasi pada gel agarose 2% dengan ethidium bromide dan diisolasi dengan *low melting agarose*, dipunfikasi, dilabel dan disekuen. Sekuen nukleotida VHB dari sampel dibandingkan dengan sekuen nukleotida VHB dari bank data DNA internasional (DDRJ/*GenBank*). Pohon filogenetik direkonstruksi menggunakan *Unweighted Pair Group Method using Arithmetic averages (UPGMA) clustering*. Sekuen nukleotida virus hepatitis B dikonversi menjadi sekuen asam amino dan dilakukan *multiple alignment*. Subtipe virus hepatitis B ditentukan dengan analisis substitusi asam amino pada posisi 122, 127, 134, 159, 160 dan 177 pada gen S dibantu dengan menggunakan program komputer *Genetyx for Windows Version 9.0*.

Penelitian ini telah memperoleh 211 sampel serum dari calon dan TKI. Berdasarkan hasil pemeriksaan kadar HBsAg didapatkan 15 orang calon TKI dengan HBsAg positif dari 87 sampel (17,2%), dan TKI dengan HBsAg positif sebanyak 15 orang dari 124 sampel (12,1%). Sampel yang positif HBsAg menunjukkan pasien telah terinfeksi virus hepatitis B. Dari hasil identifikasi genotipe VHB ditemukan hampir semua sampel yaitu 25 sampel (96,2%) merupakan genotipe B dan 1 sampel menunjukkan genotipe C (3,8%). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa VHB genotipe B dominan pada calon dan TKI. Hasil analisis subtipe VHB didapatkan hampir semua sampel yaitu 25 dari 26 sampel (96,2%) memiliki subtipe VHB *adv2*, sedangkan satu sampel (3,8%) memiliki subtipe VHB *adrq+*.

## SUMMARY

**THE MOLECULAR ANALYSIS OF HEPATITIS B VIRUS (HBV)  
AMONG PRE AND INDONESIAN WORKERS FROM LOMBOK  
ISLAND WEST NUSA TENGGARA WITH HBsAg POSITIVE**

Hepatitis B virus (HBV) infection is a major worldwide problem as well as in Indonesia. Indonesia has a high Endemic level of hepatitis B infection. The genotypes and subtypes HBV can show some differences in the aspects of geographical distribution and clinical and virological characteristics and provide historical information on the migration pattern of local's ancestor.

Lombok Island is a world tourism destination, so a contagious infectious disease has become a serious problem. It has been reported that the percentage of HBV infection was generally high in Lombok island. Since the last decade, Lombok has become a developed region with the rapid growth of social economic, demographic and dynamic inhabitants. The majority residence in Lombok have been worked at another country as a TKI. This condition can contribute the varieties of HBV genotype and subtype.

The purpose of this research was to analyze the HBV genotype and subtype among Pre and Indonesian workers (TKI) who came to Hepatika Laboratory and MDC Clinic in Mataram to take HBV test before go to another country. The new representative and data about HBV genotype and subtype on pre and TKI from Lombok Island were very required.

The research subject was taken from 211 patients who came to Hepatika Laboratory and MDC clinic Mataram. During collecting sample period All serum samples were detection for HBsAg by using *immunochromatography* method and confirm again with *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA) method. Serum of HBsAg positive samples were used to identify the HBV genotype and subtype. We carried out DNA extraction from *polymerase chain reaction* (PCR) *first-round* with *primers* P7 and P8. If the PCR Amplification gad been negative, a *second-round* PCR would have been carried out by using primers HBS1 and HBS2. Both rounds performed for 40 cycles, each consisting of 1 minute at 94°C,

1 minute at 50°C and 2 minutes at 72°C. Amplification products were visualized on 2% agarose gel, stained with ethidium bromide, and isolated by *low melting agarose*. Then, they were purified, labeled, and sequenced. The obtained nucleotide sequences were compared with HBV nucleotide sequences from international DNA data bank (DDBJ/*GenBank*) for HBV genotypes and subgenotypes determination. Phylogenetic trees were constructed by means of *unweighted-pair group method using arithmetic averages (UPGMA)*. The obtained nucleotide sequences were converted into amino-acid sequences and we conducted *multiple alignment* HBV subtype were determined by using the analysis of amino acid substitutions at positions 122, 127, 134, 159, 160, and 177 of S gene and done with computer program *Genetyx for windows version 9.0*.

This study used 211 serum samples taken from patients. HBsAg Positive was found in 30 from 211 serum samples (14,7%). Samples from pre and TKI was found HBsAg positive indicated that the patient was already infected by HBV.

HBV genotype B was found dominantly, 25 isolates (96,2%) belonged to genotype B and 1 isolates (3,8%) belonged to genotype C. Subtype *adw2* was found on 25 of 26 isolates (96,2%), followed by subtype *adrq+* was found only on one sample (3,8%).

**ABSTRACT**

**THE ANALYSIS MOLECULAR OF HEPATITIS B VIRUS (HBV)  
AMONG PRE AND INDONESIAN WORKERS (TKI) FROM LOMBOK  
ISLAND WEST NUSA TENGGARA WITH HBsAg POSITIVE**

Indonesia has a high Endemic level of hepatitis B infection. Since the last decade, Lombok Island has become a developed region with the rapid growth of social economic, demographic and dynamic inhabitants. This condition can contribute the varieties of HBV genotype and subtype. The purpose of this research was to analyze the HBV genotype, and subtype on pre and Indonesian workers (TKI) who came to *Hepatika* Laboratory and *Mataram Diagnostic Centre* clinic in Mataram West Nusa Tenggara. All serum samples were detected for HBsAg by using *immunochromatography* method and then confirmed by *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA) method. Serum of HBsAg Positive samples were used to identify the HBV genotype and subtype. We carried out DNA extraction from serum of HBsAg Positive samples. HBV subtypes were determined by using the analysis of amino acid substitutions at positions 122, 127, 134, 159,160, and 177 of S gene. This study used 211 serum samples obtained from pre and Indonesian workers. HBsAg Positive was found in 30 of 211 serum samples (14,7%). HBV genotype B was found predominant, 25 of 26 isolates (96,2%) belonged to genotype B and 1 sample (3,8%) belonged to genotype C. Subtype *adw2* was found on 25 of 26 isolates (96,2%), followed by subtype *adrq+* was found only on one sample (3,8%).

Keyword : Genotype, Subtype, HBV, Pre and Indonesian workers, Lombok Island, HBsAg

## DAFTAR ISI

SAMPUL DEPAN .....	i
SAMPUL DALAM .....	ii
PRASYARAT GELAR .....	iii
HALAMAN PENGESAHAN .....	iv
HALAMAN PENETAPAN PANITIA PENGUJI.....	v
UCAPAN TERIMA KASIH.....	vi
RINGKASAN .....	ix
SUMMARY .....	xi
ABSTRACT .....	xiii
DAFTAR ISI.....	xiv
DAFTAR TABEL.....	xvi
DAFTAR GAMBAR.....	xvii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xviii
DAFTAR SINGKATAN .....	xix
<b>BAB 1 PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	5
1.4 Manfaat Penelitian.....	5
<b>BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>7</b>
2.1 Epidemiologi Infeksi Virus Hepatitis B .....	7
2.2 Karakteristik Virus Hepatitis B.....	10
2.2.1 Struktur VHB .....	10
2.2.2 Hepatitis B Surface Antigen.....	11
2.2.3 Genom virus hepatitis B.....	12
2.2.4 Replikasi virus hepatitis B .....	13
2.2.5 Genotipe dan Subtipe VHB.....	15
2.3 Infeksi VHB Pada Manusia.....	20
2.3.1 Manifestasi klinis penyakit hepatitis B .....	21
2.3.2 Penularan virus hepatitis B.....	23
2.3.3 Faktor yang Mempengaruhi Terjadinya Hepatitis B.....	24
2.3.4 Respon imun terhadap VHB .....	26
2.3.5 Diagnosis laboratorium infeksi VHB.....	29
2.3.6 Penatalaksanaan infeksi virus hepatitis B .....	31
2.3.7 Pencegahan infeksi virus hepatitis B.....	33

<b>BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL PENELITIAN.....</b>	<b>36</b>
<b>BAB 4 METODE PENELITIAN.....</b>	<b>39</b>
4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian.....	39
4.2 Populasi dan Besar Sampel.....	39
4.2.1 Populasi.....	39
4.2.2 Subyek dan sampel.....	39
4.2.3 Besar sampel.....	40
4.2.4 Teknik Pengambilan Sampel.....	40
4.3 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional.....	40
4.3.1 Variabel penelitian.....	40
4.3.2 Definisi operasional.....	40
4.4 Bahan Penelitian.....	42
4.5 Instrumen Penelitian.....	43
4.6 Lokasi Penelitian dan Waktu Penelitian.....	44
4.6.1 Lokasi Penelitian.....	44
4.6.2 Waktu Penelitian.....	44
4.7 Prosedur Penelitian.....	44
4.8 Alur Penelitian.....	49
<b>BAB 5 DATA DAN ANALISIS HASIL PENELITIAN.....</b>	<b>50</b>
5.1 Distribusi sampel.....	50
5.2 Hasil pemeriksaan VHB.....	52
5.2.1 Hasil pemeriksaan HBsAg.....	52
5.2.2 Hasil pemeriksaan PCR VHB.....	55
5.2.3 Hasil sequencing dan analisis filogenetik VHB.....	58
5.2.4 Hasil analisis subtype VHB dari sampel.....	61
<b>BAB 6 PEMBAHASAN.....</b>	<b>65</b>
6.1 Pembahasan hasil pemeriksaan HBsAg.....	65
6.1 Pembahasan hasil pemeriksaan PCR VHB.....	67
6.2 Analisis genotipe VHB dari sampel penelitian.....	68
6.3 Analisis subtype VHB dari sampel penelitian.....	71
<b>BAB 7 PENUTUP.....</b>	<b>75</b>
7.1 Kesimpulan.....	75
7.2 Saran.....	75
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>77</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>83</b>

**DAFTAR TABEL**

	<b>Halaman</b>
Tabel 2.1 Distribusi Genotipe dan sub tipe VHB di Dunia	19
Tabel 5.1 Karakteristik responden secara umum	51
Tabel 5.2 Karakteristik responden berdasarkan umur dan Status pernikahan	51
Tabel 5.3 Distribusi jenis kelamin sampel berdasarkan pemeriksaan HBsAg	52
Tabel 5.4 Distribusi usia dan status pernikahan berdasarkan HBsAg Positif	53
Tabel 5.5 Karakteristik subyek penelitian dengan HBsAg positif berdasarkan suku bangsa	55
Tabel 5.6 Sampel yang menunjukkan hasil positif PCR	58
Tabel 5.7 Pola genotipe, subgenotipe dan sub tipe VHB dari isolat sampel penelitian	63

## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Genom Virus Hepatitis B	12
Gambar 2.2 Ilustrasi replikasi VHB di dalam sel hepar	15
Gambar 3.1 Bagan Kerangka Konseptual Penelitian	36
Gambar 4.1 Bagan Alur Penelitian	49
Gambar 5.1 Pengelompokan sampel secara umum	50
Gambar 5.2 Elektroforesis dari hasil PCR sampel TKI no 1 sampai 15 dengan <i>primer</i> P7 dan P8 regio S	55
Gambar 5.3 Elektroforesis dari hasil PCR ( <i>first round</i> ) sampel calon TKI dengan <i>primer</i> P7 dan P8 regio S	56
Gambar 5.4 Elektroforesis dari hasil PCR ( <i>second round</i> ) sampel calon dan TKI dengan <i>primer</i> HBS1 dan HBS2 regio S	57
Gambar 5.5 Pohon filogenetik (dendogram) genotipe dan subgenotipe VHB pada calon dan TKI ( <i>primer</i> p7)	59
Gambar 5.6 Pohon filogenetik (dendogram) genotipe dan subgenotipe VHB pada calon dan TKI ( <i>primer</i> HBS1)	60
Gambar 5.7 <i>Multiple alignment</i> pada sekuen asam amino urutan nomor 120-183 pada <i>gen</i> regio S berbagai subgenotipe dan subtipe VHB dari isolat sampel dan isolat dari bank data DNA internasional (DDBJ/ <i>GenBank</i> )	62



**DAFTAR LAMPIRAN**

	<b>Halaman</b>
Lampiran 1. Jadwal Kegiatan	83
Lampiran 2. Prosedur pemeriksaan HBsAg	84
Lampiran 3. Prosedur ekstraksi DNA	85
Lampiran 4. Inform consent dan persetujuan mengikuti penelitian	87
Lampiran 5. Identitas Responden	88
Lampiran 6. Kelaikan Etik	90
Lampiran 7. Surat izin penelitian di Hepatika	91
Lampiran 8 Surat keterangan penelitian di TDC	92
Lampiran 9 Tabel Kode Asam amino	93
Lampiran 10 Gambar grafik hasik sequencing	94

**DAFTAR SINGKATAN**

<b>ALT</b>	<b>: Alanine Amino Transferase</b>
<b>Anti-HBc</b>	<b>: Hepatitis B core Antibody</b>
<b>Anti-HBe</b>	<b>: Hepatitis B e Antibody</b>
<b>Anti HBs</b>	<b>: Anti Hepatitis B surface</b>
<b>BNA</b>	<b>: Batas Normal Atas</b>
<b>cccDNA</b>	<b>: covalently closed circular DNA</b>
<b>CDC</b>	<b>: Centers for Disease Control and Prevention</b>
<b>cDNA</b>	<b>: complementary DNA</b>
<b>dAMP</b>	<b>: deoxyadenosine monophosphate</b>
<b>DDBJ</b>	<b>: DNA Data Bank of Japan</b>
<b>DNA</b>	<b>: Deoxyribonucleic Acid</b>
<b>DW</b>	<b>: Distillate Water</b>
<b>ELISA</b>	<b>: Enzyme Linked Immunosorbent Assay</b>
<b>HBsAg</b>	<b>: Hepatitis B surface Antigen</b>
<b>ORF</b>	<b>: Open Reading Frame</b>
<b>PCR</b>	<b>: Polymerase Chain Reaction</b>
<b>RNA</b>	<b>: Ribonucleic Acid</b>
<b>VHB</b>	<b>: Virus Hepatitis B</b>
<b>WHO</b>	<b>: World Health Organization</b>

# BAB 1

## PENDAHULUAN



### 1.1 Latar Belakang

Infeksi virus hepatitis B masih menjadi masalah kesehatan serius yang menyebabkan angka kesakitan dan angka kematian yang tinggi di seluruh dunia (Zuckerman and Zuckerman, 2000). Sekitar 2 milyar orang di seluruh dunia pernah terinfeksi VHB dan sekitar 480 sampai 520 juta diantaranya menjadi pengidap virus hepatitis B kronik ( Lavanchy, 2008; WHO, 2009 ). Dari jumlah tersebut, sebagian besar terdapat di Asia dan Afrika (Lee, 1997) dan sekitar 15 juta diantaranya terdapat di Indonesia, terutama di daerah Indonesia bagian timur (Mulyanto *et al.*, 1994; Mulyanto *et al.*, 2008).

World Health Organization (WHO) membagi negara-negara di dunia berdasarkan tingkat endemisitas infeksi VHB menjadi 3 katagori, yaitu negara dengan tingkat endemisitas rendah, sedang, dan tinggi. Tingkat endemisitas rendah adalah negara dengan prevalensi virus (HBsAg) antara 0,1%-2%, seperti di negara maju. Tingkat endemisitas sedang dengan prevalensi virus antara 3%-7% terutama terdapat di negara-negara yang sedang berkembang. Tingkat endemisitas tinggi dengan prevalensi virus antara 8%-20% terutama terdapat di negara Afrika dan Asia Tenggara. Dalam hal ini, Indonesia termasuk negara dengan tingkat endemisitas VHB sedang-tinggi. Menurut berbagai laporan, prevalensi infeksi virus hepatitis B (HBsAg) pada populasi dewasa sehat di Indonesia berkisar antara 3%-16% (Mulyanto *et al.*, 2008; 2011; 2012).

Seorang penderita dapat dikatakan terinfeksi VHB ditandai dengan ditemukannya hepatitis B *surface* antigen (HBsAg) positif dalam serum,

terdeteksinya DNA VHB. Deteksi terhadap adanya infeksi VHB yang paling mudah adalah deteksi adanya antigen permukaan dari daerah genom S (*surface*) VHB yaitu HBsAg yang juga merupakan salah satu petanda serologis untuk infeksi VHB yang sedang aktif (Lok, 2001; Handajani *et al.*, 2006; Suharjo, 2006).

Klasifikasi genetik VHB berdasarkan komparasi sekuen-sekuen nukleotida genom lengkap telah dapat membagi VHB kedalam kelompok-kelompok genomik yang kemudian dikenal dengan genotipe (Magnius *et al.*, 1995). Penentuan genotipe VHB dari sekuen gen regio S secara umum konsisten dengan penentuan dari sekuen genom lengkap, karena itu genotipe VHB dapat ditentukan berdasarkan sekuen gen regio S (Utsumi *et al.*, 2009). Suatu genotipe VHB dapat ditentukan berdasarkan perbedaan >8% sekuen nukleotida intergenotipe, sedangkan suatu subgenotipe VHB berdasarkan perbedaan >4% sekuen nukleotida intragenotipe (Norder *et al.*, 2004).

Genotipe dan subtipe VHB dapat memperlihatkan perbedaan dalam distribusi geografis (Norder *et al.*, 1994; Huy *et al.*, 2004; Kramvis *et al.*, 2005), karakteristik klinik dan virologik (Kao, 2002). Genotipe dan subtipe VHB juga dapat memberikan informasi historik tentang pola migrasi nenek moyang penduduk setempat (Okamoto *et al.*, 1988; Kidd *et al.*, 2002).

Laporan beberapa penelitian menunjukkan bahwa prevalensi penderita HBsAg positif di Indonesia cukup tinggi. Terdapat variasi prevalensi yang cukup besar antar berbagai daerah di Indonesia dengan proporsi penderita diluar Jawa (9,2%) lebih tinggi daripada di Pulau Jawa (5%) (Mulyanto *et al.*, 2011). Sebuah penelitian terhadap 479 orang di pulau Lombok diperoleh proporsi 18,6% (Mulyanto *et al.*, 2008). Penelitian oleh Nurjanah dkk (2005) dari 3.000 pendonor

darah di Mataram diperoleh proporsi pengidap HBsAg positif 6,7%. Penelitian Gunawan dkk (2004) di RSUD Mataram dari 5.262 Tenaga Kerja Indonesia diperoleh proporsi pengidap HBsAg positif 12,5%.

Pulau Lombok merupakan daerah tujuan pariwisata dunia sehingga penyakit infeksi menular menjadi perhatian yang serius. Dari beberapa penelitian sebelumnya, persentase infeksi VHB di Lombok cukup tinggi. beberapa tahun belakangan, Pulau Lombok merupakan daerah berkembang sangat pesat dengan pertumbuhan demografi, sosial ekonomi maupun dinamika penduduknya. Jumlah penduduk berdasarkan survey tahun 2012 mencapai 3.667.000 jiwa. Rata-rata penduduk di Pulau Lombok banyak yang bekerja di luar negeri sebagai Tenaga Kerja Indonesia (TKI). Data dari Balai Pelayanan Penempatan dan Perlindungan Tenaga Kerja Indonesia (BP3TKI) di Mataram menunjukkan jumlah TKI asal Nusa Tenggara Barat pada tahun 2012 mencapai 56.150 orang dan TKI asal pulau Lombok yang diberangkatkan secara resmi rata-rata berjumlah 3500 orang per tahun. Adapun tujuan terbanyak yaitu Malaysia, selebihnya Arab Saudi, Mesir, Brunei Darussalam dan Korea. Keadaan ini dapat memberikan kontribusi terhadap kemungkinan terinfeksi VHB pada calon dan TKI yang berasal dari wilayah tersebut. Meskipun pola genotipe dan subtipe virus hepatitis B tampaknya dipertahankan pada masing-masing pulau (Sastrosoewignjo *et al.*, 1991), namun kemungkinan pergeseran pola genotipe dan subtipe virus hepatitis B akibat peningkatan mobilitas penduduk dan perubahan komposisi demografi seperti adanya mobilitas TKI seperti ini perlu dicermati. Dengan demikian, perlu diketahui gambaran terkini tentang pola genotipe dan subtipe virus hepatitis terutama pada calon dan TKI asal pulau Lombok.

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan maka penelitian ini diharapkan dapat mengumpulkan informasi terbaru dan representatif mengenai prevalensi infeksi virus hepatitis B beserta analisis genotipe, subgenotipe dan subtipe VHB pada calon dan TKI dari pulau Lombok Nusa Tenggara Barat tersebut.

## **1.2. Rumusan Masalah**

1. Berapakah prevalensi calon dan TKI asal pulau Lombok dengan HBsAg positif selama periode pengambilan sampel?
2. Bagaimanakah pola genotipe virus hepatitis B pada calon dan TKI yang berasal dari pulau Lombok dengan HBsAg positif?
3. Bagaimanakah pola subgenotipe virus hepatitis B pada calon dan TKI yang berasal dari pulau Lombok dengan HBsAg positif?
4. Bagaimanakah subtipe virus hepatitis B pada calon dan TKI yang berasal dari pulau Lombok dengan HBsAg positif?

## **1.3 Tujuan Penelitian**

### **1.3.1 Tujuan umum:**

Mengetahui prevalensi dan distribusi genotipe, subgenotipe dan subtipe virus hepatitis B pada calon dan TKI yang berasal dari pulau Lombok dengan HBsAg positif.

### **1.3.2 Tujuan khusus:**

1. Menentukan persentase HBsAg positif pada calon dan TKI yang berasal dari pulau Lombok.

2. Mengetahui pola genotipe virus hepatitis B pada calon dan TKI yang berasal dari pulau Lombok dengan HBsAg positif.
3. Mengetahui pola subgenotipe virus hepatitis B pada calon dan TKI yang berasal dari pulau Lombok dengan HBsAg positif
4. Mengetahui subtipe virus hepatitis B pada calon dan TKI yang berasal dari pulau Lombok dengan HBsAg positif.

#### **1.4. Manfaat Penelitian**

##### **1.4.1 Manfaat akademis**

1. Penelitian ini dapat memberikan pemahaman yang lebih mendalam tentang virus hepatitis B.
2. Penelitian ini dapat memberikan pemahaman yang lebih mendalam tentang genotipe, subgenotipe dan subtipe virus hepatitis B pada calon dan TKI yang berasal dari pulau Lombok serta aspek klinisnya
3. Penelitian ini dapat memberikan informasi tentang prevalensi infeksi VHB dan dampak pengiriman TKI ke Luar Negeri terkait infeksi virus hepatitis B

##### **1.4.2 Manfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan**

1. Memberikan informasi tentang persentase infeksi virus hepatitis B pada calon dan TKI yang berasal dari pulau Lombok.
2. Memberikan informasi tentang pola genotipe, subgenotipe dan subtipe virus hepatitis B yang menginfeksi calon dan TKI yang berasal dari pulau Lombok serta melacak kemungkinan sumber penularannya.

#### 1.4.3 Manfaat klinis bagi pasien, Dinas Kesehatan serta klinisi

1. Penelitian ini dapat memberikan informasi kepada para calon dan TKI yang menjalani pemeriksaan VHB apakah terinfeksi atau tidak dalam upaya pencegahan dan penanganan infeksi VHB.
2. Hasil penelitian ini akan memberikan informasi kepada Dinas Kesehatan dan Klinisi sebagai pemberi pelayanan kesehatan tentang persentase infeksi VHB pada calon dan TKI yang berasal dari pulau Lombok sebagai pedoman bagi para klinisi dalam penanganan infeksi VHB secara tepat dan sebagai data dasar serta perumusan kebijakan dalam upaya pengendalian infeksi VHB di masyarakat khususnya bagi calon TKI dan TKI.



**BAB 2****TINJAUAN PUSTAKA****2.1 Epidemiologi Infeksi Virus Hepatitis B**

Virus hepatitis B merupakan penyebab utama penyakit karena menyebabkan penyakit hati kronik dan hepatoma. Terdapat 10.000 infeksi hepatitis B baru tiap tahun yang didapat di Inggris, resiko seumur hidup untuk hepatitis B adalah 5%. Perkiraan angka *carrier* di Inggris adalah 0,1%. Pada area tertentu didunia, angka *carrier* dapat melampaui 25% (kepulauan pasifik, Thailand, Senegal), dan didaerah lain kira-kira 5-10% (area yang luas di sub benua India, Asia Tenggara, Afrika dan Eropa Timur). Diperkirakan bahwa hampir 200 juta orang diseluruh dunia adalah *carrier* (Mandal *et al.*, 2008).

Bayi baru lahir dari ibu terinfeksi dapat memperoleh infeksi saat lahir. Ibu dengan HBeAg positif resiko penularan kepada janin sebesar 90% dan bila HBeAg negatif resikonya sebesar 15%, hal ini merupakan cara penularan utama di daerah timur dimana penularan terjadi secara horizontal kepada anak-anak yang berperan penting dalam transmisi penyakit di Afrika dan merupakan penjelasan utama mengapa jumlah karier pada suatu populasi tinggi (Mandal *et al.*, 2008 ).

Pengidap *carrier* VHB pada populasi yang tampak sehat di Indonesia dilaporkan pada kisaran 4-20,3%, sehingga Indonesia termasuk negara dengan prevalensi infeksi VHB tinggi. Laporan lainnya, *Core Working Party for Asia Pasific consensus on Hepatitis B and C* juga menyatakan bahwa tingkat endemisitas hepatitis B di Indonesia mulai dari sedang sampai tinggi (Khan *et al.*, 2004; Achwan *et al.*, 2007).

Secara global, dewasa ini diperkirakan lebih dari 350 juta orang terinfeksi virus hepatitis B. Prevalensi Nasional di setiap negara di dunia lebih dari 10% di Asia dan di bawah 0,5% di Amerika Serikat dan Eropa Utara. Rute infeksi termasuk transmisi vertikal seperti melalui melahirkan, transmisi kehidupan awal horisontal (gigitan, lesi, dan kebiasaan sanitasi), dan transmisi horisontal dewasa seperti kontak seksual (Custer *et al.*, 2004). Metode utama transmisi mencerminkan prevalensi infeksi VHB kronis di daerah tertentu. Di daerah prevalensi rendah seperti benua Amerika Serikat dan Eropa Barat, injeksi penyalahgunaan narkoba dan hubungan seks tanpa kondom adalah metode utama, meskipun faktor-faktor lain juga mungkin penting (WHO, 2011).

Di daerah prevalensi yang moderat, yang meliputi Eropa Timur, Rusia, dan Jepang, di mana 2-7% dari populasi terinfeksi secara kronis, penyakit ini terutama tersebar di antara anak-anak. Di daerah prevalensi tinggi seperti China dan Asia Tenggara, transmisi selama melahirkan yang paling umum, walaupun di daerah lain endemisitas tinggi, seperti Afrika, transmisi selama masa kanak-kanak merupakan faktor yang signifikan. Prevalensi infeksi VHB kronis di daerah endemisitas tinggi minimal 8% (WHO, 2011).

Penderita hepatitis B dan C di Indonesia saat ini diperkirakan mencapai 30 juta orang. Sekitar 15 juta orang dari penderita Hepatitis B dan C berpotensi menjadi kronik. Berdasarkan data hasil Riskesdas tahun 2007 menunjukkan bahwa prevalensi HBsAg positif sebesar 9,4%, hal ini menunjukkan bahwa Indonesia termasuk dalam negara dengan tingkat endemisitas tinggi (>8%). Selain itu, proporsi penyebab kematian pada golongan semua umur dari kelompok penyakit menular, penyakit hati menduduki urutan ke 2. Data Riskesdas tersebut

juga menyebutkan pada golongan umur 15-14 tahun, di pedesaan penyakit hati menduduki urutan pertama sebagai penyebab kematian, sedangkan di daerah perkotaan menduduki urutan ke 3 ( Depkes RI, 2008 ).

Masalah lain yang lebih penting ialah pengidap HBsAg kronis dapat sebagai sumber penularan bagi orang di sekitarnya. Setiap tahun jumlah pengidap semakin bertambah, karena *reservoir* pengidap VHB yang cukup besar merupakan sumber penularan yang terus-menerus bagi orang di sekitarnya. Dalam populasi manusia banyak terdapat *carrier* hepatitis B, diperkirakan melebihi 200 juta di seluruh dunia. Angka *carrier* dan distribusi usia dari HBsAg berbeda di berbagai daerah. Hepatitis B terjadi endemik di tempat penampungan seperti asrama, rumah sakit jiwa dan sebagainya. Infeksi VHB lebih sering terjadi pada orang dewasa dalam masyarakat perkotaan dan sosio-ekonomi yang kurang. Semakin majunya komunikasi dan peningkatan migrasi penduduk, maka perpindahan penduduk meningkat dan kemungkinan terdapatnya fokus penularan infeksi di daerah-daerah dengan prevalensi rendah juga meningkat (Siregar FA, 2004)

Berdasarkan laporan Sistem Surveillance Terpadu (SST) sampai dengan tahun 1998, terlihat adanya penurunan jumlah kasus hepatitis di Puskesmas dan rumah sakit yaitu dari 48.963 kasus pada tahun 1992 menjadi 16.108 kasus pada tahun 1997. Sedangkan penderita rawat inap di rumah sakit pada kurun waktu 5 tahun berfluktuasi. CFR penyakit hepatitis dari kasus rawat inap di RS sejak tahun 1992 sampai dengan 1997 terlihat ada penurunan yaitu dari 2,2 menjadi 1,64. Menurut data per propinsi tahun 1997 bahwa kasus hepatitis paling banyak terjadi

di Jawa Timur (3002 kasus), Sumatera Utara (1564 kasus) dan Jawa Tengah (1454 kasus) dengan CFR masing-masing 2,8%; 1,71% dan 2,15%. ( Depkes RI, 1998 ).

Sebuah penelitian terhadap 479 orang di pulau Lombok diperoleh proporsi 18,6%. Penelitian oleh Nurjanah dkk (2005) dari 3.000 pendonor darah di Mataram diperoleh proporsi pengidap HBsAg positif 6,7%. Penelitian Gunawan dkk (2004) di RSUD Mataram dari 5.262 Tenaga Kerja Indonesia diperoleh proporsi pengidap HBsAg positif 12,5%

## **2.2 Karakteristik Virus Hepatitis B**

### **2.2.1 Struktur VHB**

Virus hepatitis B pada manusia merupakan famili virus *Hepadna* (*Hepatitis Associated DNA Viruses*). Virus ini termasuk DNA virus. Virus hepatitis B berupa partikel dua lapis berukuran 42 nm yang disebut Partikel *Dane*. Partikel *Dane* merupakan partikel bulat berukuran 42nm dengan selubung dengan ketebalan sekitar 7nm. 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) (Crawford, 2005).

*Envelope* VHB merupakan lapisan luar partikel *Dane* berupa selubung glikoprotein. *Envelope* VHB terdiri dari tiga macam protein yaitu:

1. *Major Protein* yang terdiri dari 226 asam amino dan terdapat dalam dua bentuk yaitu glikoprotein, berat molekul 27 KD ( Kilo Dalton) (P27) dan bentuk nonglikosilat, berat molekul 24KD (P24).
2. *Middle Protein* yang merupakan rangkaian dari 281 asam amino dan terdapat dalam dua bentuk yaitu glikoprotein dengan dua kompleks glikan, berat

molekul 36KD (P36) dan glikoprotein dengan satu kompleks glikan, berat molekul 33 KD (P33).

3. *Large Protein* merupakan rangkaian 389-400 asam amino yang terdiri dari dua bentuk yaitu bentuk glikoprotein, berat molekul 42 KD (P42) dan bentuk nonglikosilat, berat molekul 39 KD (P39) (Mandel *et al.*, 2000).

### 2.2.2 Hepatitis B *surface* Antigen (HBsAg)

Pada *envelope* VHB terdapat antigen permukaan yang disebut HBsAg yang membungkus partikel inti (*core*). HBsAg selain merupakan pembungkus partikel inti, juga terdapat dalam bentuk lepas berupa partikel bulat dan partikel tubular. Partikel bulat dan tubular terdiri dari HBsAg. HBsAg mempunyai beberapa sub tipe yang dapat digunakan sebagai petunjuk (*marker*) penyebaran VHB pada populasi dan individu tertentu. Hal ini dikarenakan determinan HBsAg ini bersifat spesifik dan tetap sama, walaupun VHB ditularkan kepada individu yang berbeda (Lok ASF, 2001; Handajani *et al.*, 2006; Suharjo, 2006).

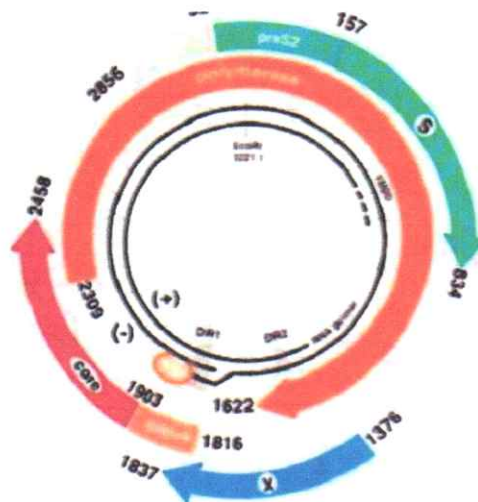
Stabilitas HBsAg tidak selalu sama dengan stabilitas penyebab infeksi, tetapi keduanya stabil pada suhu  $-20^{\circ}\text{C}$  selama lebih dari 20 tahun dan tahan terhadap pembekuan serta pencairan berulang-ulang. Virus juga tahan terhadap pemanasan  $37^{\circ}\text{C}$  selama 60 menit dan tetap hidup setelah dikeringkan dan disimpan pada suhu  $25^{\circ}\text{C}$  selama paling sedikit satu minggu. VHB (bukan HBsAg) peka terhadap suhu tinggi ( $100^{\circ}\text{C}$  selama satu menit) atau terhadap masa inkubasi yang lebih lama ( $60^{\circ}\text{C}$  selama 10 jam) bergantung pada jumlah virus. HBsAg stabil pada pH 2,4 selama 6 jam, tetapi infektivitas VHB akan menghilang. Natrium hipoklorit 0,5% dapat merusak antigenisitas dalam waktu 3 menit pada konsentrasi protein yang

rendah, tetapi bahan serum yang tidak diencerkan membutuhkan konsentrasi yang lebih tinggi (5%). HBsAg di dalam plasma atau produk darah lainnya tidak dapat dirusak oleh penyinaran ultra ungu, dan infektivitas virus juga tahan terhadap penyinaran tersebut (Brooks, 1996).



### 2.2.3 Genom virus hepatitis B

VHB termasuk virus DNA dimana DNA VHB terdiri dari *long circular strand* [L(-)] yang berhubungan dengan *short strand* [S(+)] secara berpasangan dengan panjang yang berbeda. Panjang L(-) inilah sekitar 3200 *basepair* (bp) sedangkan panjang S(+) sekitar 50-70% dari panjang L(-). Pada inti juga terdapat DNA VHB Polimerase. VHB dapat melakukan suatu reaksi *Reverse Transcription* dari suatu molekul RNA yang disebut dengan pregenom dalam hepatitis B (Brooks, 1996; Lee , 1997).



Gambar 2.1 Genom VHB dengan empat *open reading frame* (ORF) yaitu regio S (*surface*) yang mempunyai tiga kodon inisiasi gen S, preS1, dan preS2. Regio C (*core*) yang mempunyai dua kodon inisiasi gen C dan preC, regio P (*polymerase*), dan regio X yang saling *overlapping* dan semuanya mengkode protein VHB (Crawford, *et al.*, 2005).

Genom HBV merupakan *partially double-stranded DNA* yang tersusun dari sekitar 3.200 nukleotida dan memiliki 4 *open reading frames* (ORFs), yaitu *ORF C* yang menyandi sintesa protein *core* (HBcAg) dan antigen e (HBeAg); *ORF P* yang menyandi sintesa protein polymerase; *ORF S* yang menyandi sintesa protein permukaan virus, ada 3 gen yaitu gen S yang menyandi sintesa protein S (*small*), gen pre-S2 yang menyandi sintesa protein M (*middle*) dan gen pre-S1 yang menyandi sintesa protein L (*large*); dan *ORF X* yang menyandi sintesa protein X. Regio C mempunyai dua kodon inisiasi yang mengkode protein nukleokapsid. Regio ini dibagi menjadi gen C dan preC. Gen C mengkode pembentukan HBcAg, regio preC mengatur sintesis *peptide hidrofobic* yang berperan dalam penyatuan partikel virus, dan regio preC bersama dengan gen C mengatur program sintesis protein *core* yaitu HBeAg. Regio P mengkode DNA *polymerase* yang mempunyai aktivitas *reverse transcriptase* untuk kepentingan replikasi VHB (Tiollais *et al.*, 1985).

#### 2.2.4 Replikasi virus hepatitis B

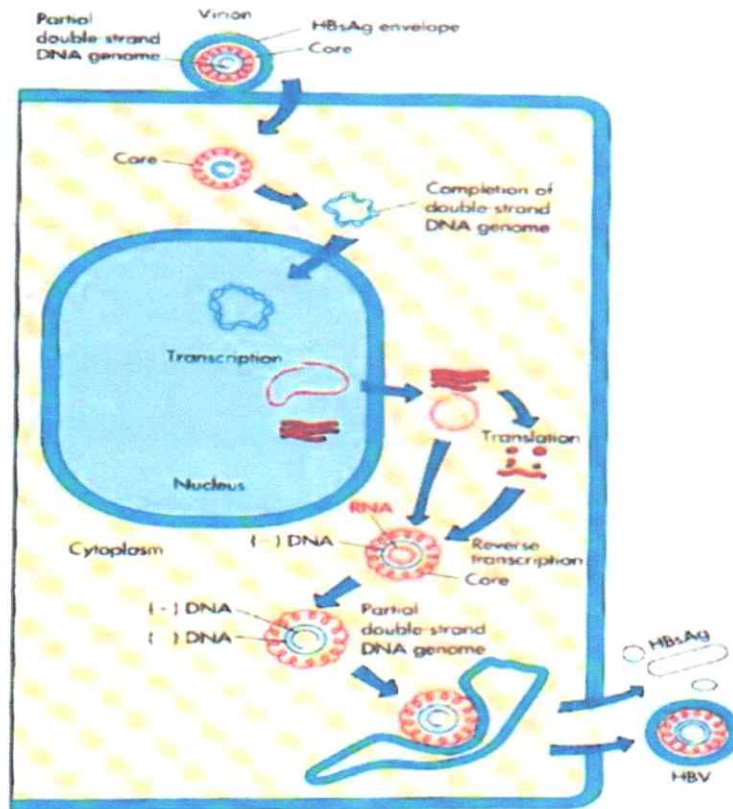
Langkah awal virus masuk ke dalam sel terbagi menjadi 3 tahap yaitu *attachment*, *fusion*, dan *entry*. *Attachment* yaitu terjadi penempelan VHB dengan sel inang yaitu terjadi interaksi antara protein permukaan virus yang terdapat pada envelope dengan reseptor yang ada pada sel inang. Reseptor tersebut adalah glikoprotein 180 (gp180). *Fusion* yaitu terjadi fusi antara protein virus dengan membran sel inang yang disertai proteolisis envelope sehingga terjadi pengeluaran genom virus masuk (*entry*) kedalam sitoplasma sel inang (Lu *et al.*, 2004)

Setelah virus memasuki sel pejamu, genom virus dibawa ke inti dan diubah menjadi DNA sirkuler tertutup yang terdiri dari 3200 pasang basa (cccDNA=

*Covalently Closed Circular Viral DNA*). Ccc DNA ini berfungsi sebagai cetakan untuk transkripsi dengan membentuk messenger RNA, menyandi untuk protein virus dan transkrip RNA pregenomik . Transkrip RNA pregenom, polimerase DNA virus baru, dan protein primer dibungkus dengan HbcAg dan membentuk partikel inti. RNA pregenomik kemudian di *reverse transcription* menjadi untai DNA minus. Setelah selesai dengan pembentukan untai DNA minus, DNA plus disintesis menggunakan DNA minus sebagai cetakan dan bagian dari RNA pregenomik sebagai primer. Akhirnya partikel ini dilapisi dengan HBsAg dan membran sel yang mengandung selubung lipid. Apabila DNA virus telah menemukan selubungnya akan keluar dari sel inang untuk menginfeksi sel lain (Hollinger, 1991; Brooks, 1996; Lu *et al.*, 2004).

Pada saat awal infeksi. terjadi resirkulasi DNA virus ke nukleus dan kejadian tersebut berulang pada satu sel sehingga menghasilkan akumulasi 10-30 molekul cccDNA dan meningkatkan konsentrasi mRNA virus. Apabila DNA virus telah mendapatkan selubungnya akan keluar dari sel inang untuk menginfeksi sel lain (Hollinger, 1991; Brooks, 1996; Lu *et al.*, 2004).





Gambar 2.2 Ilustrasi replikasi VHB di dalam sel hepar. Pada awalnya VHB melekat pada reseptor permukaan sel hepar melalui bagian regio *pre-S* HBsAg. Di dalam sitoplasma sel terjadi pelepasan *envelope* virus (*uncoating*). Setelah *uncoating*, DNA virus masuk ke dalam inti sel hepar. Di dalam inti sel, enzim seluler sebagian merubah DNA untai ganda menjadi cccDNA yg terdapat di dalam inti sel hepar. cccDNA bertindak sebagai *template* untuk pembentukan mRNAs VHB dan pregenom RNA *reverse transcriptase* VHB. Di dalam inti sel terjadi proses transkripsi. Translasi dan proses replikasi virus selanjutnya terjadi di sitoplasma. Setelah perakitan komponen virus, terjadi pembentukan virus berupa VHB partikel *Dane*, HBsAg bentuk sferis dan tubular, kemudian keluar dari sel inang untuk menginfeksi sel hepar lain (Hollinger, 1991).

### 2.2.5 Genotipe dan Subtipe Virus Hepatitis B

Klasifikasi genetik VHB berdasarkan komparasi sekuen-sekuen nukleotida genom lengkap telah dapat membagi VHB kedalam kelompok-kelompok genomik yang kemudian dikenal dengan genotipe (Magnius *et al.*, 1995). Pada saat ini

sepuluh genotipe VHB yang diberi tanda A hingga J telah teridentifikasi (Tatematsu *et al.*, 2009 ; Arankalle *et al.*, 2010).

Berdasarkan perbedaan rangkaian nukleotida maka HBV dapat dibagi ke dalam genotipe dan subgenotipe atau secara populer disebut sebagai strain dan substrain virus. Genotipe HBV disebut sebagai strain jika terdapat perbedaan rangkaian lebih dari 8% dalam seluruh genom antar suatu kelompok, atau lebih dari 4% dalam seluruh rangkaian gen S. Subgenotipe jika terdapat perbedaan rangkaian antara 4-8% dalam seluruh genom pada satu genotipe. Di dunia terdapat 8 genotipe HBV yaitu genotipe A-H (Okamoto *et al.*, 1988; Norder *et al.*, 1994; Stuyever *et al.*, 2000; Arauz *et al.*, 2002), dan 2 genotipe yang baru diusulkan, yaitu genotipe I dari Vietnam dan Laos serta genotipe J yang berasal dari Jepang (Olinger *et al.*, 2008; Tran *et al.*, 2008; Tatematsu *et al.*, 2009). Genotipe VHB telah dibagi-bagi lagi menjadi subgenotipe, yaitu subgenotipe A1-6 pada genotipe A, B1-9 pada genotipe B, C1-16 pada genotipe C, D1-7 pada genotipe D dan E1-4 pada genotipe E dengan pengelompokan geografis yang berbeda (Cavinta *et al.*, 2009; Kramvis *et al.*, 2008; Lusida *et al.*, 2008; Meldal *et al.*, 2009; Mulyanto *et al.*, 2009, 2010, 2011, 2012; Norder *et al.*, 2004; Nurainy *et al.*, 2008; Pourkarim *et al.*, 2010; Sakamoto *et al.*, 2006; Utsumi *et al.*, 2009; Wang *et al.*, 2007).

Penyebaran genotipe dan sub tipe HBV sangat beragam antar negara. Genotipe A, dengan sub tipe *adw* dan *ayw* terutama banyak terdapat di Eropa Utara-Barat, Amerika Utara dan Afrika Tengah. Genotipe B, dengan sub tipe *adw* dan *ayw* terutama banyak terdapat di China, Jepang dan Asia Tenggara. Genotipe C dengan sub tipe *adr* banyak terdapat di Korea, China, Jepang dan negara-negara Asia Tenggara. Genotipe D dengan sub tipe *ayw* banyak terdapat di Afrika (Barat,

Timur dan Tengah), India, dan Eropa Timur. Genotipe E dengan subtipe *ayw* banyak terdapat di Afrika Barat dan Afrika Tengah. Genotipe F dengan subtipe *adw* banyak terdapat di Amerika-Indian, Amerika Tengah, Perancis, Alaska. Genotipe G dengan subtipe *adw* banyak terdapat di Perancis dan Amerika dan genotipe H dengan subtipe *adw* banyak terdapat di Amerika Latin bagian utara dan Amerika Tengah (Kramvis *et al.*, 2005).

Kombinasi antara beberapa genotipe VHB adalah biasa terjadi pada suatu negara atau wilayah yang memiliki beberapa genotipe VHB yang berbeda. Kombinasi adanya VHB genotipe B dan genotipe C pada suatu wilayah di Asia Tenggara memang sering ditemukan. Kombinasi genotipe VHB secara genetik relatif sering terjadi pada evolusi VHB ( Utsumi *et al.*, 2009).

Lusida *et al* (2003) melaporkan bahwa semua dari 54 isolat VHB dari Surabaya, Provinsi Jawa Timur, termasuk dalam genotipe B. Pada penelitian Sastrosoewignjo *et al* (1991), tidak teridentifikasi adanya virus hepatitis B genotipe A atau E. Penelitian terbaru mengenai distribusi genotipe VHB di 28 kota di Indoensia juga melaporkan bahwa VHB genotipe B merupakan yang dominan (66%), diikuti genotipe C (24%), genotipe D (7%) dan genotipe A (0,4%) dan ditemukan juga infeksi campuran dari genotipe VHB. VHB genotipe D ditemukan dominan di Maluku selatan, sedangkan genotipe A ditemukan di Kalimantan Timur dan di Kupang (Mulyanto *et al.*, 2009).

Subtipe VHB merupakan identifikasi determinan *a* dan dua pasang variasi alela *d/y* dan *w/r*, yang dapat membagi HBsAg menurut sifat imunologik proteinnya ke dalam empat subtipe utama (mayor) yaitu : *adw*, *adr*, *ayw*, dan *ayr*. Sistem pengklasifikasian lainnya telah membagi VHB ke dalam sembilan subtipe,

yaitu *adw2*, *adw4*, *aywl*, *ayw2*, *ayw 3*, *ayw 4*, *adrq+*, *adrq-* dan *ayr* (Magnius *et al.*, 1995).

Sekuen-sekuen pada gen regio S yang mengkode asam amino dapat menunjukkan sub tipe VHB melalui variasi secara eksklusif determinan subtipe HBsAg. Pada produk gen regio S, variasi dan asam amino pada posisi tertentu berhubungan dengan determinan subtipe HBsAg yang berpasangan secara eksklusif. Dasar molekular dari variasi *d/y* dan *w/r* keduanya tergantung pada substitusi *Lys/Arg* pada kodon nomor 122 dan 160 urutan asam amino regio S (Kidd-Ljunggren *et al.*, 2002 ).

Dari sekuens kodon nomor 101 sampai 180 dan 44 gen kecil regio S VHB, kodon nomor 127 merupakan kodon yang berperan pada variasi *w1-w4*, dimana *w1/w2*, *w3* dan *w4* masing-masing dikode oleh *Pro*, *Thr* dan *Leu* pada posisi tersebut. Ekspresi *w1* juga tergantung dari *Arg* pada posisi 122. *Phe* pada 134 dan atau *Ala* pada 159. Determinan lainnya yang dikenal dengan *q* diekspresikan berasal dari sebagian besar strain *adw4* dan beberapa dari *adr*. Kodon yang berperan dalam ekspresi determinan *q* merupakan kodon no 177 dan 178 (Okamoto *et al.*, 1986; Kidd- Ljunggren *et al.*, 2002 ).

Sub tipe *adw* terdapat di daerah yang luas mulai dari Afrika Utara dan Afrika Barat serta Afrika Tengah, daerah Medherania Timur, Asia Barat sampai India Utara. Sub tipe *adw* terutama didapat di Afrika Timur, Eropa Barat, Amerika Utara dan Selatan. Di Asia dan Oceania sub tipe *adr* banyak didapatkan di Tiongkok Utara, Korea, pulau-pulau besar di Jepang, Malaysia, Birma dan Muangthai. Sedangkan sub tipe *adw* terutama terdapat di bagian selatan yaitu Tiongkok Selatan, Taiwan, Okinawa dan Amami, Filipina dan Indonesia. Sub tipe

*ayw* didapatkan di Malaysia, penduduk pribumi Australia, Vietnam dan Papua Nugini. Subtipe *ayr* sangat jarang ditemui dan dilaporkan dalam persentase rendah di Muangthai Utara, Kepulauan Solomon, Kepulauan New Hebrides dan Papua Nugini (Rasmilah, 2001).

Genotype	Serological Subtype	Geographic distribution
A	<i>adw2</i>	Northwestern Europe, USA, sub-Saharan Africa, East Africa [94], Japan, the Philippines [54,67]
	<i>ayw1<sup>b</sup></i>	Central Africa, Kenya [86]
	<i>ayw2</i>	Malawi [51], South Africa [50]
	<i>adw4<sup>b</sup></i>	Venezuela
B	<i>adw2</i>	Indonesia, China, Japan
	<i>ayw1</i>	South East Asia [94], Vietnam, Indonesia, Brazil, Indonesia, the Philippines [86]
	<i>adr<sup>b</sup></i>	Venezuela [103]
C	<i>adrg+</i>	Korea, China, Japan
	<i>adrg-</i>	Polynesia
	<i>ayr</i>	Vietnam
	<i>adw</i>	Tibet
	<i>adw2</i>	East Asia, Japan, the Philippines [86]
	<i>ayw2</i>	Tibet
	<i>ayw3</i>	Australia [Aborigines] [65]
<i>adwr</i>	Japan	
D	<i>ayw2</i>	West and Central Africa, East Africa [94], Mediterranean area, India [91], Tunisia [134], Soviet Union and eastern Europe [94]
	<i>ayw3</i>	Mediterranean, Soviet Union and eastern Europe [94], India (associated with drug addiction) [73], USA (injection drug users) [94] The Netherlands (IDUs) [130], South East European Russia [135]
	<i>ayw4<sup>b</sup></i>	West and Central Africa, USA [48]
	<i>adw3<sup>b</sup></i>	Central America [28]
E	<i>ayw4</i>	West Africa, Nigeria [69], Western and Central Africa [71]
F	<i>adw4</i>	Amerindians of the Americas, Central American Hispanics, France, Alaska, Colombia, Brazil, Venezuela [24-26,48,136]
	<i>adw4g-</i>	American natives, Polynesia
	<i>adw2<sup>b</sup></i>	Venezuela [103]
	<i>ayw4<sup>b</sup></i>	Venezuela [75,103], Central America [73]
G	<i>adw2</i>	France, USA [27]
H	<i>adw4</i>	Northern part of Latin America, Central America and Mexico [28]

( Kramvis *et al.*, 2005 )

Indonesia adalah negara dengan multietnis dengan yang wilayah teritori yang sangat luas, sehingga diperkirakan prevalensi masing-masing subtipe VHB

sangat bervariasi di daerah yang berbeda. Semua sub tipe utama VHB ditemukan di Indonesia. Sub tipe *adw*, *avw* dan *adr* dominan di kawasan barat Indonesia, Maluku dan Papua. Sub tipe *adr* sangat dominan di daerah Papua dan sebagian Sumatera sedangkan sub tipe *avw* (*avw 1* sampai *avw 4*) paling sering ditemukan di Sulawesi bagian selatan, Lombok, Nusa Tenggara Timur (Flores, Sumba, Sumbawa, Timor), dan Maluku. Sub tipe *avr* sangat jarang ditemukan di Indonesia (Mulyanto *et al.*, 2009). Penelitian lain melaporkan bahwa sub tipe *adw* (*adw 2* dan *adw 4*) paling sering dijumpai di Sumatera, Jawa, Kalimantan bagian selatan, Bali, Lombok, Ternate dan Morotai (Lusida *et al.*, 2003).

Baik genotipe maupun sub tipe VHB dapat memperlihatkan perbedaan dalam distribusi geografis, karakteristik klinik dan virologik (Magnius *et al.*, 1995; Kramvis *et al.*, 2005; Kao, 2002). Ketiganya juga dapat memberikan informasi historik tentang pola migrasi nenek moyang penduduk setempat (Okamoto *et al.*, 1988.; Kidd-Ljunggren *et al.*, 2002).

### 2.3 Infeksi VHB Pada Manusia

Hepatitis B pertama kali dikenal dengan istilah Penyakit kuning dan sudah dikenal sejak ribuan tahun yang lalu yaitu sejak abad 5 SM di Babilonia. Kemudian Hipocrates seorang tabib Yunani Kuno (460-375 SM), menemukan bahwa penyakit kuning ini menular sehingga penyakit tersebut dinamakan *icterus infectiosa*. Penyakit kuning yaitu hepatitis virus yang dikenal sebagai *Water Viral Hepatitis* tercatat sebagai wabah untuk pertama kali pada tahun 1895 di Inggris, kemudian timbul di Skandinavia pada tahun 1916 dan tahun 1944, lalu di New Delhi tahun 1955. Pada tahun 1963 jenis hepatitis ini dikenal dengan Hepatitis

serum yaitu hepatitis yang penularannya melalui darah dengan masa tunas 2-6 bulan (Achwan *et al.*, 2007).

Pengidap VHB adalah individu yang terkena infeksi VHB, tetapi belum tentu menderita penyakit hati akibat infeksi tersebut, walaupun itu dapat menjadi sumber penularan. Pengertian ini sulit diterapkan untuk infeksi VHB, karena sulit untuk memastikan ada atau tidaknya kelainan hati pada seorang pengidap tanpa melakukan suatu pemeriksaan invasif ( biopsi hati ). Oleh karena itu dibuat suatu definisi operasional yang praktis pengidap VHB, yaitu dengan adanya HBsAg positif tanpa melihat ada atau tidaknya kelainan hati (Sulaiman, 1990).

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 HBV akan keluar dari nukleokapsid dan akan menempel pada DNA hospes dan berintegrasi pada DNA tersebut. Selanjutnya DNA HBV 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 (Suharjo, 2006).

### **2.3.1 Manifestasi klinis penyakit hepatitis B**

Berdasarkan gejala klinis dan petunjuk serologis, manifestasi klinis hepatitis B dibagi 2 yaitu:

1. Hepatitis B akut, yaitu manifestasi infeksi virus hepatitis B terhadap individu yang sistem imunologinya matur sehingga berakhir dengan hilangnya virus hepatitis B dari tubuh. Hepatitis B akut terdiri atas 3 yaitu:

a. Hepatitis B akut yang khas

Bentuk hepatitis ini meliputi 95% penderita dengan gambaran ikterus yang jelas. Gejala klinis terdiri atas 3 fase yaitu :

1. Fase Praikterik (prodromal). Gejala non spesifik, permulaan penyakit tidak jelas, demam tinggi, anoreksia, mual, nyeri didaerah hati disertai perubahan warna air kemih menjadi gelap. Pemeriksaan laboratorium mulai tampak kelainan hati (kadar bilirubin serum, SGOT dan SGPT, Fosfatase alkali meningkat).

2. Fase Ikterik. Gejala demam dan gastrointestinal tambah hebat disertai hepatomegali dan splenomegali. timbulnya ikterus makin hebat dengan puncak pada minggu kedua. setelah timbul ikterus, gejala menurun dan pemeriksaan laboratorium tes fungsi hati abnormal.

3. Fase Penyembuhan. Fase ini ditandai dengan menurunnya kadar enzim aminotransferase. pembesaran hati masih ada tetapi tidak terasa nyeri.

b. Hepatitis Fulminan

Bentuk ini sekitar 1% dengan gambaran sakit berat dan sebagian besar mempunyai prognosa buruk dalam 7-10 hari, lima puluh persen akan berakhir dengan kematian. Adakalanya penderita belum menunjukkan gejala ikterus yang berat, tetapi pemeriksaan SGOT memberikan hasil yang tinggi pada pemeriksaan fisik hati menjadi lebih kecil, kesadaran cepat



menurun hingga koma, mual dan muntah yang hebat disertai gelisah, dapat terjadi gagal ginjal akut dengan anuria dan uremia.

c. Hepatitis B Kronik

Hepatitis B Kronis yaitu manifestasi infeksi virus hepatitis B terhadap individu dengan sistem imunologi kurang sempurna sehingga mekanisme, untuk menghilangkan HBV tidak efektif dan terjadi koeksistensi dengan HBV. Kira-kira 5-10% penderita hepatitis B akut akan mengalami Hepatitis B kronik. Hepatitis ini terjadi jika setelah 6 bulan tidak menunjukkan perbaikan yang mantap (Brooks, 1996; Siregar, 2004; Suharjo, 2006).

### 2.3.2 Penularan virus hepatitis B

Individu yang terinfeksi VHB dapat menderita penyakit hati (hepatitis) akut atau menjadi pengidap kronik. Sekitar 30% pengidap VHB kronik merupakan pengidap tanpa gejala dan mempunyai harapan hidup yang normal, tetapi berpotensi menjadi sumber penularan untuk orang lain. Sebaliknya, sebagian besar (70%) pengidap HBV kronik akan berkembang menjadi penderita penyakit hati kronik dengan berbagai tingkat kerusakan hati; dari kerusakan hati minimal (hepatitis kronik persisten) sampai hepatitis kronik aktif, sirosis hati dan menjadi kanker hati. Menurut para ahli, pengidap kronik HBV mempunyai risiko mendapat kanker hati 220 kali lebih besar jika dibandingkan populasi normal (Beasley *et al.*, 1981).

Virus hepatitis B ditularkan dari satu individu ke individu lain melalui darah yang tercemar, masuk ke dalam tubuh melalui luka, baik luka di kulit maupun selaput lendir. Secara umum penularan tersebut dikelompokkan ke dalam 2

macam pola penularan yaitu penularan horizontal dan penularan vertikal. Penularan horizontal adalah penularan dari individu pengidap kepada individu lain, sedang penularan vertikal adalah penularan dari ibu pengidap virus kepada bayi yang dilahirkannya, segera setelah lahir. Bila penularan horizontal terjadi pada individu dewasa, maka hanya sebagian kecil (10%) yang akan berkembang menjadi pengidap kronik. Penularan horizontal antara lain terjadi melalui transfusi darah, jarum suntik yang tercemar, pisau cukur, tato dan lain-lain. Penularan vertikal sebagian besar (95%) terjadi saat persalinan dan hanya sebagian kecil saja (5%) yang terjadi selama bayi dalam kandungan (intrauterin). Dan sebagian besar (90%) bayi yang tertular akan menjadi pengidap virus hepatitis B kronik. Namun demikian, tidak semua bayi yang dilahirkannya akan tertular, hanya sekitar 50% yang akan tertular melalui cara penularan vertikal tersebut. Selanjutnya anak perempuan yang tertular akan menularkan lagi kepada anak yang dilahirkannya, demikian seterusnya. Jadi virus hepatitis B ditularkan dari generasi ke generasi terutama melalui penularan dari ibu kepada anaknya (Suharjo, 2006).

### **2.3.3 Faktor-faktor yang mempengaruhi terjadinya penyakit Hepatitis B**

Faktor-faktor yang dapat mempengaruhi terjadinya penyakit Hepatitis B sebagai berikut:

#### **1. Faktor host (penjamu)**

Semua faktor yang terdapat pada diri manusia yang dapat mempengaruhi timbul serta perjalanan penyakit hepatitis B. Faktor penjamu meliputi:

- a. Umur. Hepatitis B dapat menyerang semua golongan umur. Paling sering pada bayi dan anak (25 -45,9 %) resiko untuk menjadi kronis, menurun dengan bertambahnya umur, dimana pada anak bayi 90 % akan menjadi

kronis, pada anak usia sekolah 23 -46 % dan pada orang dewasa 3-10% (Markum, 1997). Hal ini berkaitan dengan terbentuk antibodi dalam jumlah cukup untuk menjamin terhindar dari hepatitis kronis.

- b. Mekanisme pertahanan tubuh. Bayi baru lahir atau bayi 2 bulan pertama setelah lahir lebih sering terinfeksi hepatitis B, terutama pada bayi yang sering terinfeksi hepatitis B dan bayi yang belum mendapat imunisasi hepatitis B, hal ini karena sistem imun belum berkembang sempurna.
- c. Kebiasaan hidup. Sebagian besar penularan pada masa remaja disebabkan karena aktivitas seksual dan gaya hidup seperti homoseksual, pecandu obat narkotika suntikan, pemakaian tatto, pemakaian akupuntur.
- d. Pekerjaan. Kelompok resiko tinggi untuk mendapat infeksi hepatitis B adalah dokter, dokter bedah, dokter gigi, perawat, bidan, petugas kamar operasi, petugas laboratorium dimana mereka dalam pekerjaan sehari-hari kontak dengan penderita dan material manusia (darah, tinja, air kemih).

## 2. Faktor Agent

Penyebab Hepatitis B adalah virus hepatitis B. Virus Hepatitis B terdiri atas 3 jenis antigen yakni HBsAg, HBcAg, dan HBeAg. Berdasarkan sifat imunologik protein pada HBsAg, virus dibagi atas 4 subtipe yaitu *adw*, *adr*, *ayw*, dan *ayr* yang menyebabkan perbedaan geografi dalam penyebarannya. Subtipe *adw* terjadi di Eropa, Amerika dan Australia. Subtipe *ayw* terjadi di Afrika Utara dan Selatan. Subtipe *adw* dan *adr* terjadi di Malaysia, Thailand, dan Indonesia, sedangkan subtipe *adr* terjadi di Jepang dan China.

### 3. Faktor Lingkungan

Merupakan keseluruhan kondisi dan pengaruh luar yang mempengaruhi perkembangan hepatitis B. Faktor lingkungan terdiri dari lingkungan dengan sanitasi jelek, daerah dengan angka prevalensi VHB tinggi, daerah unit pembedahan Ginekologi, gigi, mata, daerah unit laboratorium, daerah unit bank darah, daerah tempat pembersihan, daerah dialisa dan transplantasi daerah unit perawatan penyakit dalam dan tempat lain yang beresiko (Rasmilah, 2001; Siregar, 2004).

#### 2.3.4 Respon Imun terhadap VHB

Seseorang yang terinfeksi VHB akut maka tubuh akan memberikan tanggapan kekebalan (*immune response*). Ada tiga kemungkinan tanggapan kekebalan yang diberikan oleh tubuh tertiadap VHB pasca periode akut. Kemungkinan pertama, jika tanggapan kekebalan tubuh adekuat maka akan terjadi pembersihan virus, pasien sembuh. Kedua, jika tanggapan kekebalan tubuh lemah maka pasien tersebut akan menjadi *carrier* inaktif. Ketiga, jika tanggapan tubuh bersifat *intermediate* (antara dua hal di atas) maka penyakit terus berkembang menjadi hepatitis B kronis. Pada kemungkinan pertama, tubuh mampu memberikan tanggapan adekuat terhadap virus hepatitis B, akan terjadi empat stadium siklus VHB, yaitu fase replikasi (stadium 1 dan 2) dan fase integratif (stadium 3 dan 4) (Lee, 1997; Soewignjo, 1999).

Pada infeksi VHB akut, setelah virus masuk ke dalam tubuh maka akan segera muncul alfa interferon yang mengaktifkan peran sel natural killer (NK). Kenaikan kadar interferon ini menyebabkan keluhan panas badan serta malaise.

Reaksi sel radang yang muncul limfosit T helper CD4 yang telah mengalami sensitisasi terhadap peptida nukleokapsid (Abbas *et al.*, 2000).

Respon imun yang pertama terjadi adalah terhadap antigen pre-S yang terjadi sekitar 30 hari sebelum terjadinya kerusakan sel hepar. Pada fase replikasi kadar HBsAg, DNA VHB, HBeAg, AST dan ALT serum akan meningkat, sedangkan kadar anti-HBs dan anti-HBe masih negatif. Respon imun yang muncul kemudian adalah HBcAg yang muncul 10 hari kemudian. Respon imun yang paling kuat yaitu respon imun terhadap antigen S yang terjadi 10 hari sebelum kerusakan sel hepar. Dalam hal ini jelas adanya perbedaan antara antigen viral yang diekspresikan pada sel hepar yang terinfeksi yang terdiri dari baik antigen selubung (pre-S dan S) maupun antigen nukleokapsid (HBcAg) (Lee, 1997;; Soewignjo, 1999).

Pada fase integratif (khususnya stadium 4) keadaan sebaliknya terjadi, HBsAg, DNA VHB, HBeAg ALT dan AST menjadi negatif (normal), sedangkan antibodi terhadap antigen yaitu; anti-HBs dan anti-HBe menjadi positif (serokonversi). Keadaan demikian banyak ditemukan pada penderita hepatitis B yang terinfeksi pada usia dewasa di mana sekitar 95-97% infeksi hepatitis B akut akan sembuh karena imunitas tubuh dapat memberikan tanggapan yang adekuat (Lee, 1997).

Pada sebagian penderita respon imun tersebut tidak berhasil menghancurkan sel-sel hepar yang terinfeksi sehingga VHB tersebut tetap mengalami replikasi seperti pada neonatus sehingga terjadi infeksi hepatitis B persisten, dapat bersifat *carrier* inaktif atau menjadi hepatitis B kronis dan masuk ke kemungkinan ke dua dan ke tiga. Pada kasus-kasus dengan hepatitis B kronis

respon imun tersebut ada tetapi tidak sempurna sehingga hanya terjadi nekrosis pada sebagian sel hepar yang mengandung VHB dan masih tetap ada sel hepar yang terinfeksi tidak mengalami nekrosis, sehingga dengan demikian infeksi VHB dapat menjalar ke sel lainnya. Pada *carrier* HBsAg sehat respon imun tersebut sama sekali tidak efektif sehingga tidak ada nekrosis sel hepar yang terinfeksi dan virus tetap mengadakan replikasi tanpa adanya gejala klinik (Brooks, 1996; Crawford *et al.*, 2005).

Sel yang terinfeksi tidak berhasil dihilangkan seluruhnya bila proses yang terjadi pada hepatitis akut tidak efektif. Pada infeksi VHB kronik viral antigen yang diekspresikan pada membran sel hepar adalah HBcAg dan HBeAg. Antara HbcAg dan HBeAg terdapat reaksi imunologis silang pada tingkat sel T. Bila pada seorang individu didapatkan HBsAg positif selama enam bulan maka individu tersebut menderita infeksi VHB kronik, ini berdasarkan fakta bahwa pada infeksi VHB akut HBsAg paling lama positif selama enam bulan (Brooks, 1996; Lee, 1997). Tanggapan imun yang tidak atau kurang adekuat mengakibatkan terjadinya proses inflamasi jejas (*injury*), fibrosis akibat peningkatan *turn over* sel dan stres oksidatif. Efek virus secara langsung, seperti mutagenesis dan insert suatu protein X dari VHB menyebabkan hilangnya kendali pertumbuhan sel hepar dan memicu transformasi malignitas, sehingga berakhir sebagai karsinoma hepatoseluler (Lee, 1997).

Kegagalan respon imun yang terjadi pada infeksi VHB akut untuk membersihkan semua sel-sel hepar yang terinfeksi VHB akan menyebabkan persistensi infeksi. Kegagalan respon imun tersebut dapat disebabkan oleh:

1. Gagalnya sensitisasi atau kegagalan fungsi sel T sitotoksik
2. Kegagalan sel NK
3. Kegagalan produksi interferon
4. Kegagalan sel hepar untuk memberikan respon terhadap interferon alfa
5. Kegagalan pembentukan antibodi oleh sel limfosit B sehingga sel VHB tidak dapat dinetralisir (Hollinger,1991).

### 2.3.5 Diagnosis laboratorium infeksi virus hepatitis B

Pemeriksaan Laboratorium untuk mendeteksi virus hepatitis digolongkan dengan tiga cara yaitu: cara *Radioimmunoassay* (RIA), *Enzim Linked Immunosorbent Assay* (ELISA). Imunofluorensi mempunyai sensitifitas yang tinggi, untuk meningkatkan spesifisitas digunakan antibodi monoklonal dan untuk mendeteksi DNA dalam serum digunakan probe DNA dengan teknik hibridasi (Suharjo, 2006).

Pemeriksaan laboratorium yang paling sering digunakan adalah metode ELISA. Metode ELISA digunakan untuk mengetahui adanya kerusakan pada hati melalui pemeriksaan enzimatik. Enzim adalah protein dan senyawa organik yang dihasilkan oleh sel hidup umumnya terdapat dalam sel, dalam keadaan normal terdapat keseimbangan antara pembentukan enzim dengan penghancurannya. Apabila terjadi kerusakan sel dan peninggian permeabilitas membran sel, enzim akan banyak keluar ke ruangan ekstra sel, keadaan inilah yang membantu diagnosa dalam mengetahui kadar enzim tersebut dalam darah (Suharjo, 2006).

Penderita hepatitis B juga mengalami peningkatan kadar bilirubin dan kadar alkaline fosfat. Pemeriksaan enzim yang sering dilakukan untuk mengetahui

kelainan hati adalah pemeriksaan SGPT (*Serum Glutamic Pirivuc Transaminase*) dan SGOT (*Serum Glutamic Oksalat Transaminase*). Pemeriksaan SGPT lebih spesifik untuk mengetahui kelainan hati karena jumlah SGPT dalam hati lebih banyak daripada SGOT (Suharjo, 2006). Kejadian hepatitis akut ditandai dengan peningkatan SGPT dan SGOT 10-20 kali dari normal dengan SGPT lebih tinggi dari SGOT. Pada hepatitis kronis kadar SGPT meningkat 5-10 kali dari normal (Lok, 2001; Keeffe *et al.*, 2004). Pertanda serologik infeksi HBV yaitu:

1. HBsAg (*Hepatitis B surface Antigen*), yaitu suatu protein yang merupakan selubung luar partikel VHB. HBsAg yang positif menunjukkan bahwa pada saat itu yang bersangkutan mengidap infeksi VHB.
2. Anti-HBs, yaitu antibodi terhadap HBsAg. Antibodi ini baru muncul setelah HBsAg menghilang. Anti HBsAg yang positif menunjukkan bahwa individu yang bersangkutan telah kebal terhadap infeksi VHB baik yang terjadi setelah suatu infeksi VHB alami atau setelah dilakukan imunisasi hepatitis B.
3. Anti HBc, yaitu antibodi terhadap protein core. Antibodi ini pertama kali muncul pada semua kasus dengan infeksi VHB pada saat ini (*current infection*) atau infeksi pada masa yang lalu (*past infection*). Anti HBc dapat muncul dalam bentuk IgM anti HBc yang sering muncul pada hepatitis B akut, karena itu positif IgM anti HBc pada kasus hepatitis akut dapat memperkuat diagnosis hepatitis B akut. Namun karena IgM anti HBc bisa kembali menjadi positif pada hepatitis kronik dengan reaktivasi, IgM anti HBc tidak dapat dipakai untuk membedakan hepatitis akut dengan hepatitis kronik secara mutlak.
4. HbeAg, yaitu semua protein non-struktural dari VHB (bukan merupakan bagian dari VHB) yang disekresikan ke dalam darah dan merupakan produk gen



*precore* dan gen *core*. Positifnya HBeAg merupakan petunjuk adanya aktivasi replikasi HBV yang tinggi dari seorang individu HBsAg positif.

5. Anti HBe, yaitu antibodi yang timbul terhadap HBeAg pada infeksi HBV. Positifnya anti HBe menunjukkan bahwa HBV ada dalam fase non-replikatif. (Lok, 2001; Suharjo, 2006 ).

### 2.3.6. Penatalaksanaan infeksi virus hepatitis B

Tujuan pengobatan VHB adalah untuk mencegah atau menghentikan radang hati (*liver injury*) dengan cara menekan replikasi virus atau menghilangkan injeksi. Dalam pengobatan hepatitis B, titik akhir yang sering dipakai adalah hilangnya pertanda replikasi virus yang aktif secara menetap. Obat-obat yang digunakan untuk mengobati hepatitis adalah obat antivirus (interferon) dan imunomulator yang menekan atau merangsang sistem imun misalnya transfer faktor, immune RNA, dan imunosupresi (Lok, 2001; Suharjo, 2006).

Terapi terhadap hepatitis B kronis juga untuk mengeliminasi secara bermakna replikasi VHB dan mencegah progresi penyakit hati menjadi sirosis yang berpotensi menuju gagal hati, dan mencegah karsinoma hepatoselular. Sasaran pengobatan adalah menurunkan kadar DNA VHB serendah mungkin, serokonversi HBeAg dan normalisasi kadar ALT. Sasaran sebenarnya adalah menghilangnya HBsAg, tetapi sampai saat ini keberhasilan hanya berkisar 1-5% sehingga sasaran tersebut tidak digunakan. Sesuai dengan rekomendasi *The American Association for the Study of Liver Disease* terapi diberikan pada penderita hepatitis B kronis, dengan syarat:

1. HBeAg positif dan DNA VHB  $>10^5$  copies/ml dan kadar ALI  $>2$  batas

atas angka normal.

2. HBeAg positif dan DNA VHB  $>10^5$  copies/ml dan kadar ALT  $< 2$  batas atas angka normal tidak perlu terapi, hanya perlu dievaluasi setiap 6-12 bulan, kecuali bila pemeriksaan histologi menunjukkan adanya nekroinflamasi tingkat sedang sampai berat.
3. HBeAg negatif dan DNA VHB  $>10^5$  copies/ml dan kadar ALT  $> 2$  batas atas angka normal.
4. Penderita sirosis hepatis dengan DNA VHB  $>10^5$  copies/ml

Saat ini ada lima jenis obat yang direkomendasikan untuk terapi hepatitis B kronis di Amerika Serikat, yaitu : interferon alfa-2b, lamivudin, adefovir dipivoxil, entecavir dan peginterferon alfa-2a.

#### **a. Interferon**

Interferon tidak memiliki efikasi antivirus langsung tetapi merangsang terbentuknya berbagai macam protein efektor yang mempunyai efek antivirus. Berdasarkan suatu studi yang melibatkan 875 pasien hepatitis B kronis dengan HBeAg positif: serokonversi HBeAg terjadi pada 18%, penurunan DNA VHB terjadi pada 37% dan normalisasi ALT terjadi pada 23%. Salah satu kekurangan interferon adalah efek samping dan pemberian yang secara injeksi. Dosis pemberian 5-10 juta MU 3 kali /minggu selama 16 minggu.

#### **b. Lamivudin**

Lamivudin merupakan antivirus melalui efek penghambatan transkripsi selama siklus replikasi virus hepatitis B. Pemberian lamivudin 100 mg/hari selama satu tahun dapat menekan DNA VHB, normalisasi ALT, serokonversi HBeAg dan mengurangi progresi fibrosis secara bermakna dibandingkan plasebo. akan tetapi

lamivudin dapat memicu resistensi. Dilaporkan bahwa resistensi terhadap lamivudin sebesar lebih dari 32% setelah terapi selama satu tahun dan menjadi 57% setelah terapi selama tiga tahun. Risiko resistensi terhadap lamivudin meningkat dengan makin lamanya pemberian.

#### **c. Adefovir dipivoxil**

Adefovir dipivoxil adalah nukleosida analog dari adenosine monofosfat, setelah menjadi bentuk aktifnya akan bekerja langsung menghambat DNA Polymerase dengan tempat ikatan yang berbeda dengan lamivudine. Adefovir difosfat bekerja menghambat VHB polymerase dengan berkompetisi langsung dengan substrat endogen deoksiadenosin trifosfat dan setelah berintegrasi dengan VHB DNA sehingga pembentukan rantai DNA virus hepatitis B terhenti.

Efektifitas adefovir dipivoxil sudah diteliti pada pasien baru hepatitis B dengan replikasi virus yang aktif, pada pasien yang gagal dengan lamivudine, pasien pasca transplantasi hati hingga pasien dengan dekompensasi hati maupun dengan koinfeksi HIV.

#### **d. Entecafir**

Entecafir adalah analog nukleosida guanosin yang menghambat replikasi virus melalui tiga jalur yaitu : *priming*, *negative strand synthesis*, dan *positive strand synthesis*, dengan demikian produksi *double stranded viral DNA* akan sangat menurun.

### **2.3.7. Pencegahan infeksi virus hepatitis B**

Lima pokok dalam pencegahan infeksi virus hepatitis B yaitu *Health Promotion* (usaha peningkatan mutu kesehatan), *specific Protection* (perlindungan secara khusus), *early Diagnosis* dan *Prompt Treatment*

(pengenalan dini terhadap penyakit, serta pemberian pengobatan yang tepat), usaha membatasi cacat, dan usaha rehabilitasi.

Upaya pencegahan infeksi virus hepatitis B dilakukan dengan cara menggabungkan pencegahan penularan dan pencegahan penyakit. Pencegahan penyakit dapat dilakukan melalui immunisasi baik aktif maupun pasif

#### 1. Immunisasi aktif

Negara dengan prevalensi tinggi, immunisasi diberikan pada bayi yang lahir dari ibu HBsAg positif, sedang pada negara yang prevalensi rendah immunisasi diberikan pada orang yang mempunyai resiko besar tertular. Vaksin hepatitis diberikan secara intra muskular sebanyak 3 kali dan memberikan perlindungan selama 2 tahun.

Program pemberian sebagai berikut:

Dewasa: setiap kali diberikan 20  $\mu$ g IM yang diberikan sebagai dosis awal, kemudian diulangi setelah 1 bulan dan berikutnya setelah 6 bulan.

Anak :Diberikan dengan dosis 10  $\mu$ g IM sebagai dosis awal, kemudian diulangi setelah 1 bulan dan berikutnya setelah 6 bulan.

#### 2. Immunisasi Pasif

Pemberian Hepatitis B Imunoglobulin (HBIG) merupakan immunisasi pasif dimana daya lindung HBIG diperkirakan dapat menetralkan virus yang infeksius dengan menggumpalkannya. HBIG dapat memberikan perlindungan terhadap *Post Exposure* maupun *Pre Exposure*. Pada bayi yang lahir dari ibu, yang HbsAg positif diberikan HBIG 0,5 ml intra muscular segera setelah lahir (jangan lebih dari 24 jam). Pemberian ulangan pada bulan ke 3 dan ke 5. Pada orang yang terkontaminasi dengan HBsAg positif diberikan HBIG 0,06 ml/Kg

BB diberikan dalam 24 jam post exposure dan diulang setelah 1 bulan (Brooks, 1996; Siregar, 2004).

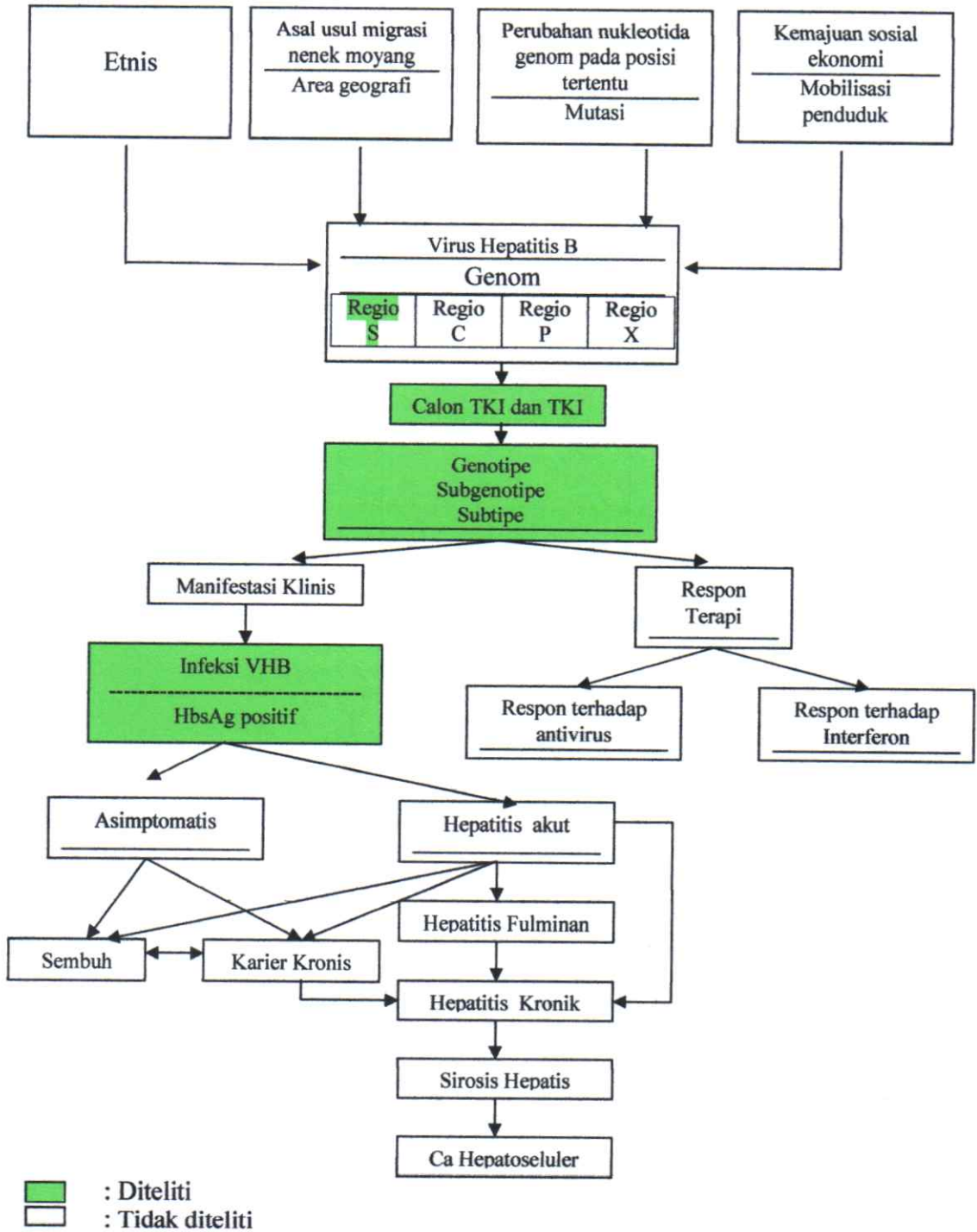
Pencegahan juga dapat dilakukan melalui tindakan *Health Promotion* baik pada hospes maupun lingkungan dan perlindungan khusus terhadap penularan. *Health Promotion* terhadap *host* berupa pendidikan kesehatan, peningkatan *higiene* perorangan, perbaikan gizi, perbaikan sistem transfusi darah dan mengurangi kontak erat dengan bahan yang berpotensi menularkan virus HBV.

Perlindungan khusus pada penularan dapat dilakukan melalui sterilisasi benda-benda yang tercemar dengan pemanasan dan tindakan khusus seperti penggunaan sarung tangan bagi petugas kesehatan, petugas laboratorium yang langsung bersinggungan dengan darah, serum, cairan tubuh dari penderita hepatitis, juga pada petugas kebersihan (Siregar, 2004).

**BAB 3**

**KERANGKA KONSEPTUAL PENELITIAN**

**3.1 Kerangka Konseptual Penelitian**



Gambar 3.1 Kerangka konseptual penelitian

### 3.2 Penjelasan Kerangka Konseptual Penelitian

Virus hepatitis B secara geografis mempunyai distribusi genotipe dan subtipe yang berbeda. Genotipe, subgenotipe dan subtipe VHB mencerminkan asal usul migrasi nenek moyang penduduk setempat (Magnius *et al.*, 1995; Kidd *et al.*, 2002). Genotipe maupun subtipe VHB dapat menunjukkan perbedaan dalam distribusi geografis (Kramvis *et al.*, 2005). Perubahan subtipe disuatu area geografi tertentu dapat terjadi sebagai suatu akibat adanya mutasi pada sekuen nukleotida tertentu pada genom VHB. Faktor mobilisasi penduduk dan etnis tertentu dapat mempengaruhi perubahan subtipe dan atau genotipe VHB pada area geografi tertentu (Inoue *et al.*, 2000; Lusida *et al.*, 2001).

Genom VHB mempunyai empat *open reading frame* (ORF) yaitu regio S (*surface*), regio C (*Core*), regio P (*Polymerase*), regio X yang saling *overlapping* dan semua mengkode semua protein VHB. Klasifikasi genetik VHB berdasarkan komparasi sekuen-sekuen nukleotida genom lengkap telah dapat membagi VHB kedalam kelompok-kelompok genomik yang kemudian dikenal dengan genotipe (Magnius *et al.*, 1995). Genotipe VHB dibedakan berdasarkan homologi pada gen regio S atau pre S. Suatu genotipe VHB dapat ditentukan berdasarkan adanya perbedaan >8% sekuen nukleotida intergenotipe sedangkan suatu subgenotipe VHB berdasarkan perbedaan >4% sekuen nukleotida intragenotipe (Norder *et al.*, 2004). Gen VHB pada regio S (*surface*) mengkode envelope VHB yang mengandung HBsAg. Berdasarkan urutan sekuen nukleotida pada gen regio S yang mengkode asam amino dapat menunjukkan subtipe VHB melalui variasi determinan subtipik HBsAg yang berpasangan secara eksklusif (Okamoto *et al.*, 1986; Norder *et al.*, 1992).

Kemungkinan pergeseran pola genotipe dan sub tipe virus hepatitis B akibat peningkatan mobilitas penduduk dan perubahan komposisi demografi dapat terjadi. Adanya Tenaga Kerja Indonesia (TKI) baik yang baru akan berangkat keluar negeri maupun yang sudah berulang kali ke luar negeri menunjukkan suatu aktifitas mobilisasi penduduk serta menyebabkan perubahan komposisi demografi tersebut sehingga dapat menyebabkan pergeseran pola genotipe dan sub tipe VHB

Genotipe dan sub tipe VHB dapat memperlihatkan beberapa karakteristik virologik tertentu termasuk frekuensi terjadinya mutasi dan juga memperlihatkan karakteristik klinik tertentu, termasuk outcome klinis dan respon terhadap terapi. Kedua karakteristik tersebut mempengaruhi perjalanan klinis dan prognosis penyakit, hal ini menjadi penting karena ada indikasi bahwa genotipe, subgenotipe dan sub tipe VHB ini berpengaruh terhadap berbagai bentuk hepatitis B kronis dan respon VHB terhadap terapi interferon (Lindh *et al.*, 1997, Kao *et al.*, 2002).

Penderita yang terinfeksi VHB dapat menunjukkan gejala-gejala hepatitis dan sebagian lagi dapat tidak menunjukkan gejala atau asimtomatis. Penderita dengan gejala hepatitis akut dapat berkembang kearah hepatitis kronis, karier kronis, hepatitis fulminan maupun penderita menjadi sembuh. Penderita dengan infeksi VHB kronis dan karier kronis dapat berkembang kearah sirosis hepatis maupun karsinoma hepatoseluler (Guan *et al.*, 2001).

Data-data mengenai genotipe, subgenotipe dan sub tipe VHB pada calon TKI dan TKI yang berasal dari pulau Lombok Nusa Tenggara Barat sampai saat ini belum ada sehingga diperlukan penelitian ini untuk mendapatkan data tersebut.



**BAB 4****METODE PENELITIAN****4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian**

Jenis penelitian ini adalah penelitian observasional deskriptif dengan rancangan penelitian studi eksploratif

**4.2 Populasi dan Sampel Penelitian****4.2.1 Populasi penelitian**

Target populasi penelitian adalah Calon TKI dan TKI yang akan kembali bekerja di negara tujuan yang menjalani pemeriksaan kesehatan

**4.2.2 Subyek penelitian**

Subyek Penelitian adalah calon TKI dan TKI yang datang ke pusat pelayanan kesehatan untuk pemeriksaan kesehatan, HBsAg positif, berdomisili di wilayah Kepulauan Lombok Nusa Tenggara Barat serta bersedia ikut penelitian dengan menandatangani lembar persetujuan (*inform consent*) dan lembar persetujuan tindakan medik. Kriteria Eksklusi subyek penelitian adalah calon TKI dan TKI yang datang ke pusat pelayanan kesehatan untuk pemeriksaan kesehatan, namun menolak ikut penelitian dan menolak untuk menandatangani lembar persetujuan penelitian serta berdomisili di luar wilayah pulau Lombok.

Sampel penelitian adalah serum yang diperoleh dari subyek penelitian.

### 4.3 Besar Sampel

Besar sampel dalam penelitian ini dihitung dengan rumus *Central Limit Theorem*, karena penelitian bersifat eksploratif. Sehingga sampel dalam penelitian ini ditentukan menjadi 30 sampel dari serum calon dan TKI dengan HBsAg positif

### 4.4 Teknik pengambilan sampel

Pemilihan sampel penelitian ini dilakukan dengan cara *consecutive sampling*, yaitu semua subyek yang datang dan memenuhi kriteria pemilihan dimasukkan dalam penelitian sehingga jumlah sampel yang diperlukan terpenuhi (Sastroasmoro dan Ismael, 2002).

### 4.5 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

#### 4.5.1 Variabel penelitian

Variabel pada penelitian ini adalah: Calon dan Tenaga Kerja Indonesia yang berasal dari pulau Lombok yang memenuhi kriteria inklusi, prosedur penelitian meliputi pemeriksaan titer HBsAg, hasil PCR positif VHB DNA, serta karakteristik virologik VHB yaitu genotipe, subgenotipe dan sub tipe VHB

#### 4.5.2 Definisi operasional variabel

1. Calon Tenaga Kerja Indonesia adalah seseorang yang baru pertama kali akan bekerja diluar negara Indonesia atau keluar negeri yang sebelumnya menjalani pemeriksaan kesehatan yang meliputi pemeriksaan Hepatitis B dengan hasil pemeriksaan HBsAg positif
2. Tenaga Kerja Indonesia adalah seseorang yang sebelumnya telah bekerja diluar negeri dan telah kembali ke Indonesia yang selanjutnya

akan kembali ke negara tempatnya bekerja dan sebelumnya harus menjalani pemeriksaan kesehatan yang meliputi pemeriksaan Hepatitis B dengan hasil pemeriksaan HBsAg positif

3. HBsAg Positif adalah hasil pemeriksaan *surface* antigen VHB pada serum dengan menggunakan metode *immunochromatography* yang selanjutnya dikonfirmasi dengan metode *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) secara kuantitatif dengan pembacaan dan perhitungan *cut off* sesuai dengan prosedur dalam kit, dimana sampel positif jika hasil bacaan lebih besar daripada nilai *cut off*.
4. Genotipe VHB adalah pengklasifikasian VHB berdasarkan hasil analisis nukleotida VHB dengan standar VHB yang telah diketahui genotipenya yang diperoleh dari DNA Data Bank of Japan (DDBJ) dan NCBI GenBank Database berdasarkan gen S VHB, menggunakan program komputer *Genetyx for Windows version 9.0*.
5. Subgenotipe adalah pengklasifikasian VHB berdasarkan hasil analisis nukleotida VHB dengan standar VHB yang telah diketahui subgenotipenya yang diperoleh dari DNA Data Bank of Japan (DDBJ) dan NCBI GenBank Database berdasarkan gen S VHB, menggunakan program komputer *Genetyx for Windows version 9.0*.
6. Subtipe VHB adalah pengklasifikasian VHB berdasarkan hasil analisis asam amino pada posisi 122,127,134,159,160,dan 177 pada gen S VHB, menggunakan program komputer
7. Suku Bangsa adalah suatu pengelompokan etnisitas berdasarkan penelusuran asal usul nenek moyang sampai dengan tiga generasi

## 4.6 Bahan Penelitian

### 4.6.1 Bahan yang akan diuji

Bahan yang akan diuji dalam penelitian ini adalah spesimen serum yang diperoleh dari subyek penelitian.

### 4.6.2 Bahan untuk Amplifikasi DNA dengan PCR

Bahan yang akan digunakan untuk Amplifikasi DNA dengan PCR adalah:

1. Master mix reagen sebanyak 12,5µl dan sampel DNA sebanyak 9,5 µl
2. Primer (*first-round*) mengamplifikasi 541 *basepairs (bp)* pada gen S (Lindh *et al.*, 1997).

a. P7 (5'-GTG GTG GAC TTC TCT CAA TTT TC-3')

25 pmol/ µl 1 µl dari gen S pada posisi 256-278

b. P8 (5'-CGG TAW<sup>(A/T)</sup> AAA GGG ACT CAM<sup>(A/C)</sup> GAT-3')

25 pmol/ µl 1 µl dari gen S pada posisi 796-776

3. Primer (*second round*), bila first round negatif. Mengamplifikasi 259 *basepairs (bp)* pada gen S (Lindh *et al.*, 1997).

a. HBS1 (5'-CAA GGT ATG TTG CCC GTT TG-3')

25 pmol/ µl 1 µl dari gen S pada posisi 455-474

b. HBS2 (5'-AAA GCC CTG CGA ACC ACTG A-3')

25 pmol/ µl 1 µl dari gen S pada posisi 713-694

### 4.6.3 Bahan untuk deteksi produk PCR dengan elektroforesis

Bahan yang digunakan adalah produk PCR sebanyak 7 µl, gel agarose 2% (agarose S), *etidium bromide (EB)*, *buffer*, dan *marker 100bp DNA Leader (Fermentas)* sebanyak 10 µl.

### 4.6.4 Bahan untuk isolasi DNA dengan low melting agarose

Bahan yang akan digunakan untuk isolasi DNA adalah produk PCR sebanyak 18  $\mu$ l, *Low melting agarose* (agarose L), etidium bromide (EB), buffer, dan *marker* 100bp DNA Leader (Fermentas) sebanyak 10  $\mu$ l.

#### 4.6.5 Bahan untuk *labelling sequencing* DNA

Bahan yang akan digunakan untuk *labelling sequencing* DNA adalah DNA 5  $\mu$ l, *primer sense* atau *antisense* 4 pmol/  $\mu$ l 1,5  $\mu$ l dengan 1 *primer* yang telah memberikan hasil PCR positif, *ready reaction mixture* sebanyak 2  $\mu$ l, buffer, dan *distilled water* sebanyak 4,5  $\mu$ l.

#### 4.6.6 Bahan untuk presipitasi *sequencing* DNA

Bahan yang akan digunakan untuk presipitasi *sequencing* DNA adalah etanol absolut sebanyak 50  $\mu$ l, etanol 70% 100  $\mu$ l, sodium asetat 2,5  $\mu$ l, dan HiDi Formaldehyde 25  $\mu$ l.

#### 4.6.7 Bahan untuk *sequencing* DNA

Bahan yang akan digunakan untuk *sequencing* DNA adalah pelet DNA dengan *Template Supression Reagent* (TSR) 25  $\mu$ l

### 4.7 Instrumen Penelitian

Instrumen yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah disposable syringe 5 ml steril, alkohol swab, latex handscoen, masker, lembar informasi penelitian, pernyataan persetujuan dari pasien, lembar identitas pasien, tabung *centrifuge* 15 ml steril, mesin setrifus *High Speed Micro Refrigerator Centrifuge* MRX 150 (Tomy), *yellow tips* steril, tabung *eppendorf* 1,5ml steril, kit komersial HBsAg metode ELISA, kit komersial QIAamp DNA *Mini kit*, kit komersial QIAGEN *Gel extraction* (Qiagen,Inc.Cat.no.28704), *micropipet*, rak tabung *eppendorf*, kulkas, *ice box*, autoclave, hot air oven, *block incubator*, Freezer :

Ultraflow (-80<sup>0</sup>C dan -20<sup>0</sup>C), vortex, biosafety cabinet, thermal cycler, mesin electrophoresis, transiluminator UVP Mariya RB67 Pro SD dengan kamera polaroid, pinset, vacuum pump, timer, ABI Prism 310 Genetic Analyzer dan komputer dengan perangkat lunak Genetix for windows versi 9.0 dan dilengkapi fasilitas internet.

#### **4.8 Lokasi Penelitian dan Waktu Penelitian**

##### **4.8.1 Lokasi penelitian**

Pengambilan dan pemeriksaan HBsAg dari serum calon dan TKI dilaksanakan di Klinik dan Laboratorium *Hepatika* kota Mataram serta klinik *Mataram Diagnostic Center* (MDC) Mataram. Analisis molekuler dilakukan di *Institute of Tropical Disease* (ITD) Universitas Airlangga Surabaya.

##### **4.8.2 Waktu penelitian**

Penelitian ini akan dilaksanakan sejak proposal penelitian dinyatakan diterima dan direncanakan berakhir 4 bulan setelahnya.

#### **4.9 Prosedur Penelitian**

##### **4.9.1 Pengukuran titer HBsAg dengan ELISA**

Pengukuran titer HBsAg menggunakan kit komersial HBsAg metode ELISA *Axiom Dignostic*, Cat.no.88 03 18 dengan prosedur kerja sesuai dengan petunjuk yang ada pada kit (Lamp.2)

##### **4.9.2 Ekstraksi DNA**

DNA dari serum sampel diekstraksi menggunakan kit komersial QIAamp *DNA mini kit* dengan prosedur kerja sesuai petunjuk pada kit (Lamp.3)

#### 4.9.3 Amplifikasi DNA dengan PCR (*First round*)

*Reaction mixture* disiapkan dengan volume total 25  $\mu\text{l}$  dibuat dalam sebuah tabung *microcentrifuge* steril dengan komposisi: *Master mix* 12,5  $\mu\text{l}$ , *Primer P7* 25 pmol/  $\mu\text{l}$  1  $\mu\text{l}$ , *Primer P8* 25 pmol/  $\mu\text{l}$  1  $\mu\text{l}$ , DW 1  $\mu\text{l}$  dan DNA 9,5  $\mu\text{l}$ . Campuran tadi dimasukkan kedalam mesin *Thermal cycler* dan program file pada mesin dijalankan. PCR *first round* ini dilakukan sebanyak 40 siklus dimana setiap siklus terdiri dari tahapan: *denaturation* selama 1 menit pada temperatur 94<sup>0</sup>C, *Annealing* selama 1 menit pada temperatur 55<sup>0</sup>C dan *extension* selama 2 menit pada temperatur 72<sup>0</sup>C

#### 4.9.4 Amplifikasi DNA dengan PCR (*Second round*)

Apabila amplifikasi DNA *first round* menunjukkan hasil negatif, maka dilakukan PCR *second round* dengan menggunakan *primer* HBS1 dan HBS2 dengan kondisi yang sama dengan PCR *first round*

#### 4.9.5 Deteksi Produk PCR dengan elektroforesis

Gel agarose 2% dibuat sebelumnya yang telah mengandung *ethidium bromide* dan kemudian diletakkan dalam elektroforesis gel *apparatus* dan ditambahkan TBE *buffer* 1x hingga gel terendam seluruhnya. *Marker* sebanyak 10  $\mu\text{l}$  dicampur dengan 10x loading *buffer* sebanyak 2  $\mu\text{l}$  yang telah ditetaskan diatas parafilm. Produk PCR *first round* sebanyak 7  $\mu\text{l}$  diambil dan dicampur dengan 10x loading *buffer* sebanyak 2  $\mu\text{l}$  yang telah ditetaskan diatas parafilm, kemudian dimasukkan slot gel. Elektroforesis gel *apparatus* ditutup dan dijalankan dengan 100 volt selama kurang lebih 30 menit, selanjutnya dilihat dibawah sinar ultra violet *short wave*. Kemudian hasil yang tampak didokumentasikan dengan kamera polaroid.

#### 4.9.6 Isolasi DNA dengan *low melting agarose*

DNA yang tampak pada elektroforesis dengan gel agarose biasa kemudian diulang lagi dengan menggunakan gel agarose *low melting*. Gel agarose menggunakan agarose L (*Low melting agarose*) 2% disiapkan kemudian dibuat campuran DNA 18 $\mu$ l dan 10x loading *buffer* 2  $\mu$ l. Campuran ini diaplikasikan pada *slot* dengan interval tanpa menggunakan marker dan selanjutnya mesin elektroforesis dijalankan. Hasil elektroforesis dilihat dibawah sinar ultra violet *long wave*. Gel yang mengandung DNA dipotong dengan *cutter* yang dicuci setiap kali pemotongan. Potongan gel dimasukkan dengan pinset kedalam sebuah tabung eppendorf 1,5  $\mu$ l steril. Kemudian dikerjakan isolasi DNA hasil PCR dengan *low melting agarose* menggunakan kit komersial *QIAampDNA mini kit (Qiagen,Inc)* dengan prosedur kerja sesuai yang terdapat pada kit.

#### 4.9.7 *Labelling* dengan PCR untuk *sequencing*

*Labelling* dengan PCR untuk *sequencing* menggunakan *Ready Reaction Cycle Sequencing Kit (ABI Prism Big Dye Terminator v1.1 Ready reaction Cycle sequencing Kit, Applied Biosystems,USA)*. *Sequencing reaction* dengan volume total 20  $\mu$ l dibuat dalam sebuah tabung microsentrifuge steril dengan komposisi: DNA hasil PCR 5  $\mu$ l, *primer sense* atau *antisense* 4pmol/ $\mu$ l untuk VHB 1,5 $\mu$ l (*Primer P7*), *Ready Reaction Mixture Big Dye Terminator* 2  $\mu$ l, *Big Buffer Dye* 7  $\mu$ l, DW 4,5  $\mu$ l yang dicampur dengan gentle pipetting. Selanjutnya dimasukkan dalam mesin *thermal cycler* dengan suhu 94<sup>0</sup>C selama 3 menit. PCR dilakukan sebanyak 25 siklus. Setiap siklus terdiri dari tahapan: *denaturation*



selama 10 detik dengan temperatur  $96^{\circ}\text{C}$ , *annealing* selama 5 detik dengan temperatur  $50^{\circ}\text{C}$ , *extension* selama 4 menit dengan temperatur  $60^{\circ}\text{C}$ . Setelah siklus selesai, didinginkan hingga temperatur  $4^{\circ}\text{C}$ .

#### 4.9.8 Purifikasi hasil *labelling* DNA dengan presipitasi etanol

Tabung berisi  $20\mu\text{l}$  *sequencing reaction* dikeluarkan dari *thermal cycler* dan diputar sebentar, selanjutnya diaspirasi dan dipindahkan kedalam sebuah tabung *ependorf*  $1,5\ \mu\text{l}$  steril. Kemudian sodium asetat sebanyak  $2,5\ \mu\text{l}$  dan etanol absolut sebanyak  $50\ \mu\text{l}$  ditambahkan kedalam tabung, dicampur dengan cara tabung disentil-sentil. Cairan diinkubasi pada temperatur ruangan selama 5 menit, kemudin disentrifuse dengan kecepatan  $15.000\ \text{rpm}$  selama 15 menit pada temperatur  $6^{\circ}\text{C}$ . Supernatan yang ada diaspirasi dengan hati-hati dan dibuang kedalam kontainer. Kemudian etanol 70% sebanyak  $100\ \mu\text{l}$  ditambahkan kedalam tabung. Disentrifus kembali dengan kecepatan  $15.000\ \text{rpm}$  selama 7 menit pada temperatur  $6^{\circ}\text{C}$ . Supernatan yang ada diaspirasi dengan hati-hati dan dibuang didalam kontainer tabung telah berisi pelet DNA dalam keadaan terbuka dibungkus dengan *wrap plastik* dan dikeringkan dengan menggunakan *vacuum pump* selama 15 menit. Setelah itu pelet DNA kering dapat disimpan pada temperatur  $4^{\circ}\text{C}$ .

#### 4.9.9 *Sequencing* DNA

*Sequencing* DNA menggunakan mesin *ABI Prism 310 Genetic Analyzer*, sebelumnya disiapkan campuran DNA sebelum *disequencing*. *HiDi formaldehyde* sebanyak  $2\ \mu\text{l}$  ditambahkan kedalam tabung yang berisi pelet DNA kering, *divortex* dan selanjutnya diinkubasi dengan temperatur  $95^{\circ}\text{C}$

selama 2 menit kemudian diinkubasi dalam es selama kurang lebih selama 3 menit kemudian di *spin down*. Tabung tetap disimpan dalam es sampai siap dianalisis, selanjutnya diaspirasi dan dipindahkan ke dalam tabung sentrifus steril untuk *sequencing*. Tabung dimasukkan dan mesin dijalankan dengan mesin *ABI Prism 310 Genetic Analyzer (Perkin Elmer)*.

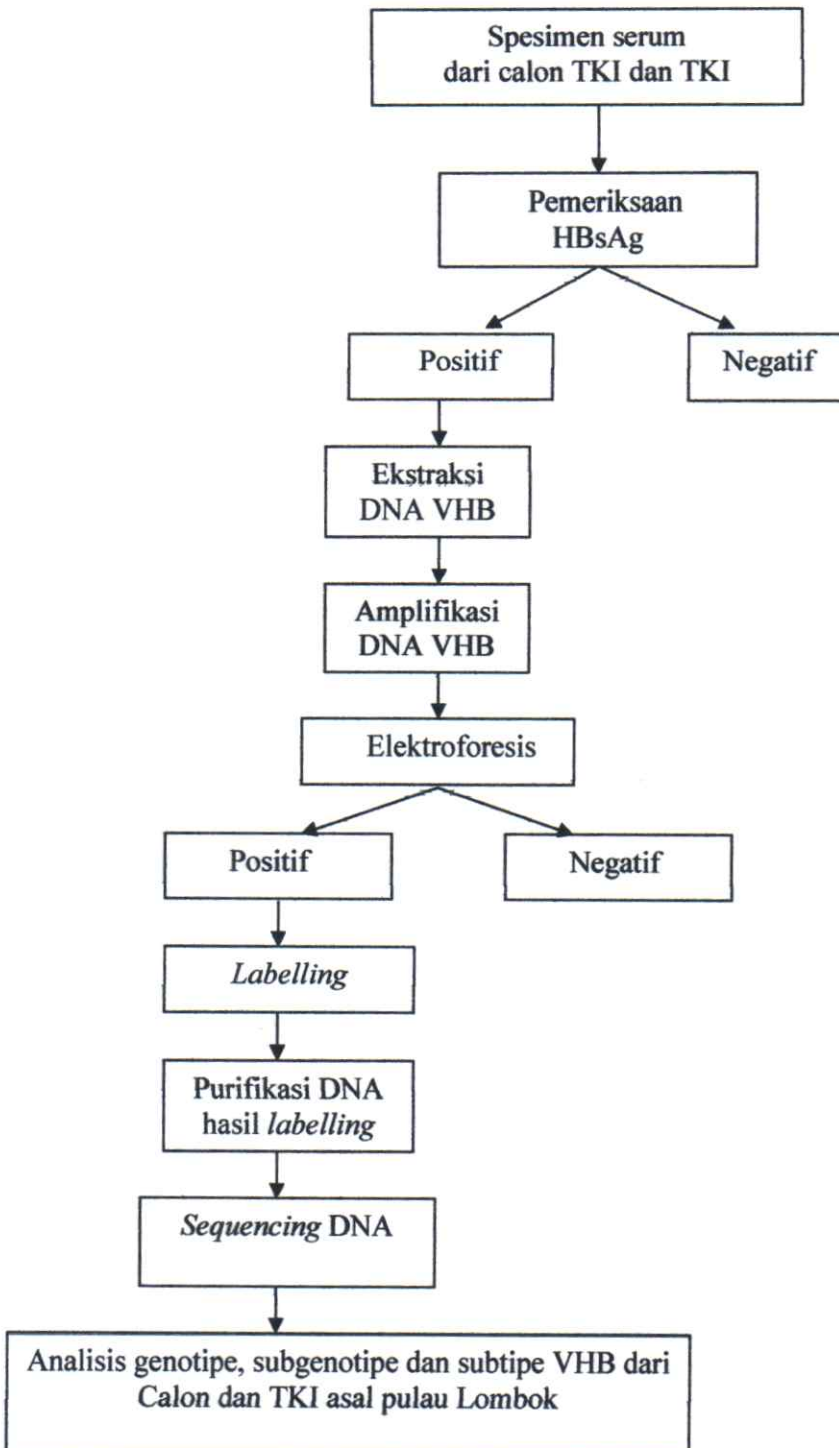
#### 4.9.10 Analisis Genotipe VHB

Hasil *sekuens* nukleotida spesimen dibandingkan dengan *sekuens* nukleotida yang diperoleh dari bank data DNA internasional (DDBJ NCBI *GenBank*) yang telah diunduh dari internet. Genotipe VHB ditentukan berdasarkan persentase homologi lebih dari 96% pada level gen regio S. Pohon filogenetik direkonstruksikan dengan *Unweighted Pair Group Method using Arithmetic Average (UPGMA) clustering* menggunakan program komputer *Genetyx for windows versi 9.0*. Penentuan subgenotipe virus hepatitis B diperoleh dari analisis filogenetik di atas.

#### 4.9.11 Analisis subtipe VHB

Hasil sekuen nukleotida spesimen diterjemahkan dalam urutan asam aminonya kemudian dilakukan multiple alignment dan dianalisis urutan kodon tertentu. Subtipe VHB spesimen ditentukan berdasarkan hasil analisis asam amino spesimen pada posisi 122, 127, 134, 159, 160 dan 177 pada gen S VHB menggunakan program komputer

#### 4.10 Alur Penelitian



Gambar 4.1 Bagan Alur Penelitian

**BAB 5****DATA DAN ANALISIS HASIL PENELITIAN****5.1 Distribusi Sampel**

Dalam penelitian ini telah dikumpulkan sebanyak 211 responden dari calon dan TKI yang datang untuk menjalani pemeriksaan HBsAg sebelum berangkat ke luar negeri dan semuanya berdomisili di wilayah Pulau Lombok Nusa Tenggara Barat. Responden yang merupakan calon dan TKI ini untuk selanjutnya dibedakan antara kelompok calon TKI dan kelompok TKI . Pengelompokan responden dapat dilihat pada gambar dibawah ini :



Gambar 5.1 Pengelompokan responden secara umum

Pada gambar 5.1 dapat kita lihat bahwa responden yang berasal dari calon dan TKI yang berhasil dikumpulkan dalam satu periode adalah sebanyak 211 sampel yang terdiri dari 87 orang calon TKI dan 124 orang TKI. Karakteristik masing-masing akan dijabarkan pada beberapa tabel selanjutnya. Karakteristik responden berdasarkan status pekerjaan dan jenis kelamin dalam penelitian ini dapat dilihat pada tabel berikut :

Tabel 5.1 Karakteristik responden secara umum berdasarkan status responden dan jenis kelamin

Status Responden	Jenis Kelamin		Jumlah
	Laki-laki	Perempuan	
Calon TKI	35 ( 16,6%)	52 (24,6%)	87 (41,2%)
TKI	58 (27,5%)	66 (31,3%)	124 (58,8%)
<b>Jumlah</b>	93/211 (44%)	118/211 (56%)	211/211 (100%)

Pada tabel 5.1 dapat kita lihat bahwa responden pada penelitian ini terdiri dari 87 orang (41,2%) yang merupakan calon TKI dan sebanyak 124 orang (58,8%) merupakan TKI yang sudah pernah bekerja diluar negeri dan akan kembali bekerja. Pada kelompok calon dan TKI ini lebih banyak dengan jenis kelamin perempuan yaitu sebanyak 118 ( 56%) dari 211 calon dan TKI yang terdiri dari 52 orang (24,6%) calon TKI dan 66 orang (31,3%) adalah TKI. Jumlah ini lebih banyak dibandingkan dengan calon dan TKI yang berjenis kelamin laki-laki yaitu berjumlah 93 ( 44%) dari 211 orang yang terdiri dari 35 (16,6%) orang calon TKI dan 58 orang (27,5%)TKI. Secara umum baik calon maupun TKI lebih didominasi dari kaum perempuan.

Tabel 5.2 Karakteristik responden berdasarkan Usia dan status pernikahan

Usia	Status Pernikahan			Jumlah
	Belum menikah	Menikah	Janda/ Duda	
11-20 tahun	19	26	8	53 (25,1%)

21-30 tahun	7	37	6	50 (23,7%)
31-40 tahun	3	38	13	54 (25,6%)
41-50 tahun	2	18	14	34 (16,1%)
51-60 tahun	0	13	7	20 (9,4%)
<b>Jumlah</b>	31 (14,7%)	132 (62,5%)	48 (22,7%)	211 (100%)

Berdasarkan tabel 5.2 dapat kita lihat karakteristik umur pada semua responden paling banyak berada pada kisaran umur 31-40 tahun yaitu sebanyak 54 orang (25,6%) yang terdiri dari 3 orang dengan status belum menikah, 38 orang yang sudah menikah dan janda maupun duda sebanyak 13 orang.

## 5.2 Hasil Pemeriksaan Virus Hepatitis B (VHB)

### 5.2.1 Hasil Pemeriksaan HBsAg

Uji saring HBsAg dengan metode *immunochromatography* kemudian dilanjutkan konfirmasi dengan metode ELISA dilakukan terhadap 211 spesimen serum yang berasal dari calon dan TKI yang datang untuk menjalani pemeriksaan kesehatan sebelum berangkat ke luar negeri. Spesimen serum dari responden yang memenuhi kriteria inklusi sampel untuk selanjutnya dijadikan sebagai sampel penelitian.

Tabel 5.3 Tabel Distribusi Jenis Kelamin sampel berdasarkan pemeriksaan HBsAg

Status Responden	HBsAg			Jumlah
	Positif (+)		Negatif (-)	
	Laki-laki	Perempuan		
Calon TKI	6	9	72	87 (41,2%)
TKI	4	11	109	124 (58,8%)

<b>Jumlah</b>	10 (4,7%)	20 (9,5%)	181 (85,8%)	211 (100%)
---------------	-----------	-----------	-------------	------------

Dari tabel 5.3 diatas memperlihatkan bahwa jumlah calon TKI dan TKI dengan HBsAg positif adalah sebanyak 30 orang (14,2%) dari 211 orang calon dan TKI yang melakukan pemeriksaan kesehatan. Dari jumlah ini dapat dilihat bahwa calon TKI dengan hasil pemeriksaan HBsAg positif adalah sebanyak 15 orang dari 87 orang calon TKI yang menjalani pemeriksaan dan untuk TKI dengan HBsAg positif sebanyak 15 orang dari 124 orang TKI yang menjalani pemeriksaan kesehatan. Dari 15 calon TKI dengan HBsAg positif didapatkan laki-laki sebanyak 6 orang dan 9 orang perempuan. Sedangkan pada TKI dengan HBsAg positif didapatkan 4 orang laki-laki dan 11 orang berjenis kelamin perempuan. Untuk selanjutnya 30 calon dan TKI inilah yang memenuhi kriteria inklusi dan dijadikan sebagai sampel dalam penelitian ini, yang untuk selanjutnya diikutkan dalam tahap analisis berikutnya.

Tabel 5.4 Distribusi usia dan status pernikahan sampel berdasarkan HBsAg positif

Usia	Sampel dengan HBsAg Positif						Jumlah
	Calon TKI			TKI			
	BM	M	J/D	BM	M	J/D	
11-20 tahun	1	-	-	-	1	-	2 (6,67%)
21-30 tahun	-	2	1	-	2	2	7 (23,3%)
31-40 tahun	-	4	2	-	2	6	14 (46,67%)
41-50 tahun	-	1	4	-	-	2	7 (23,3%)
Sub Total	1	7	7	0	5	10	
Total	15 (50%)			15 (50%)			30 (100%)

Pada tabel 5.4 diatas dapat kita lihat sampel dengan HBsAg positif yang paling banyak adalah pada usia produktif yaitu usia 31-40 tahun yaitu sebanyak 14 orang (6,67%) yang terdiri dari 6 orang calon TKI dan 8 orang TKI. Usia yang paling sedikit jumlah sampel dengan HBsAg positifnya adalah usia 11-20 tahun yaitu hanya terdapat 2 orang saja (6,67%) yang masing-masing adalah 1 orang calon TKI dan 1 orang TKI. Jika dilihat dari status pernikahan, baik pada calon TKI maupun TKI didominasi dari status janda atau duda.

Tabel 5.5 Karakteristik sampel berdasarkan suku bangsa

Status Responden	Suku Bangsa		Jumlah
	Sasak	Non Sasak	
Calon TKI	13	2	15 (50%)
TKI	14	1	15 (50%)
Jumlah	27/30 (90%)	3/30 (10%)	30 (100%)

Pada tabel 5.5 menunjukkan bahwa dari 15 orang calon TKI dengan HBsAg positif 13 orang (43,3%) diantaranya adalah penduduk asli suku sasak dan 2 orang (6,7%) diantaranya adalah non sasak. Sebagian besar sampel TKI juga merupakan suku sasak yaitu sebanyak 14 orang (46,7%) dari 30 orang dan hanya 1 orang (3,3%) yang merupakan suku non sasak. Pulau Lombok beberapa tahun terakhir berkembang cukup pesat termasuk dinamika dan mobilisasi penduduknya sehingga berbagai suku bangsa dapat tinggal dan menjalani kehidupan di Pulau Lombok termasuk calon TKI dan TKI. Penduduk suku lain yang termasuk dalam subyek penelitian ini diantaranya adalah suku Samawa (Sumbawa) dan pendatang dari Bali dan Flores.



### 5.2.2 Hasil Pemeriksaan PCR VHB

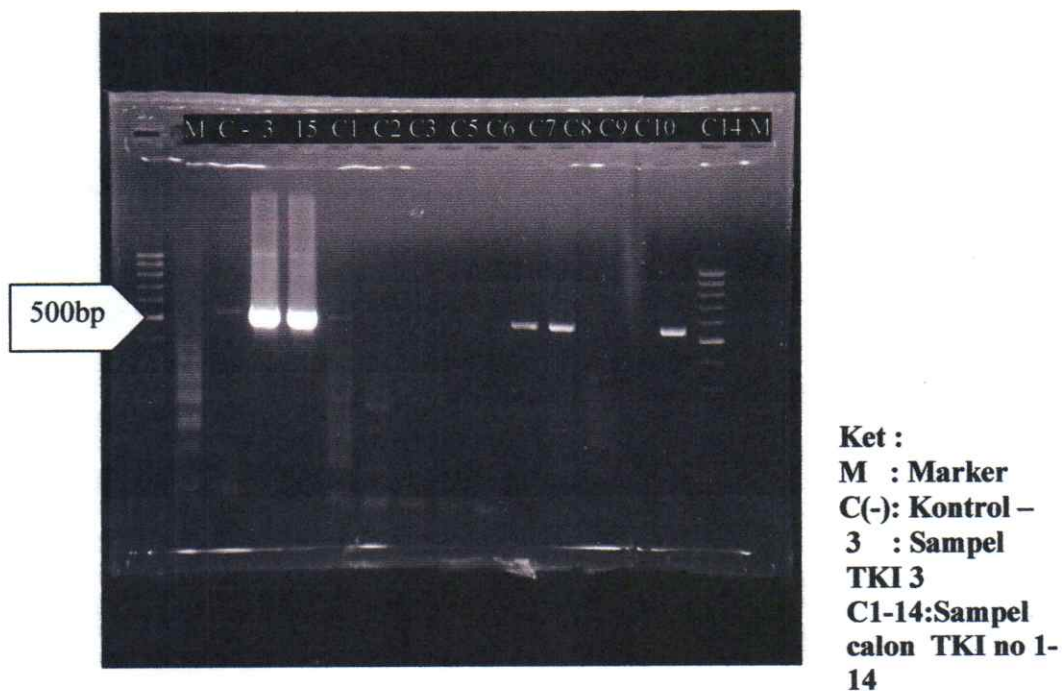
Sampel dari calon dan TKI dengan HBsAg positif sebanyak 30 sampel kemudian dilakukan tahapan-tahapan identifikasi genotipe virus hepatitis B, dimulai dari tahap ekstraksi DNA, amplifikasi dengan PCR, deteksi DNA hasil PCR dengan elektroforesis, purifikasi DNA, *labelling*, presipitasi ethanol, *sequencing* sampai dengan analisis genotipe, dan sub tipe VHB dengan menggunakan program *Genetyx for Windows versi 9.0* dan membandingkannya dengan *database* di *Genbank* NCBI dan DDBJ.

Pada tahapan identifikasi DNA VHB dengan PCR menggunakan *primer-primer* spesifik dan dilakukan elektroforesis dengan gel agarose 2% memberikan hasil gambaran dibawah sinar UV *short wave* dengan hasil sebagai berikut :



Gambar 5.2 Elektroforesis dari hasil PCR sampel TKI no 1 sampai 15 dengan *primer* P7 dan P8 regio S tampak pita diatas 500bp

Pada gambar 5.2 menunjukkan hasil elektroforesis produk PCR sampel TKI nomor 1 sampai dengan nomor 15 dengan pasangan *primer* spesifik P7 dan P8 regio S tampak pita putih pada posisi yang diharapkan yaitu pada kisaran 541 bp yang artinya menunjukkan hasil yang positif. Hasil elektroforesis sampel TKI hampr semua menunjukkan hasil yang positif kecuali sampel nomor 3, sehingga perlu dilakukan PCR ulang dengan *primer* yang berbeda yaitu sepasang *primer* spesifik HBS1 dan HBS 2 pada regio S (*second round*).



Gambar 5.3 Elektroforesis dari hasil PCR (*first round*) sampel calon TKI dengan *primer* P7 dan P8 regio S

Pada gambar 5.3 menunjukkan hasil elektroforesis produk PCR sampel calonTKI nomor 1 sampai dengan nomor 14 dengan pasangan *primer* spesifik P7 dan P8 regio S tampak pita putih pada posisi yang diharapkan yaitu pada kisaran 541 bp yang artinya menunjukkan hasil yang positif. Hasil elektroforesis sampel calon TKI yang menunjukkan hasil yang positif hanya sampel nomor C1, C8,C9 dan C14,

sehingga perlu dilakukan PCR ulang dengan *primer* yang berbeda yaitu sepasang *primer* spesifik HBS1 dan HBS 2 pada regio S (*second round*) pada sampel yang masih negatif pada PCR *first round*.



Gambar 5.4 Elektroforesis dari hasil PCR (*second round*) sampel calon TKI dengan *primer* HBS1 dan HBS2 regio S

Pada gambar 5.4 menunjukkan hasil elektroforesis produk PCR sampel calon TKI nomor C2,C3,C5,C6,C7,C10 dan sampel TKI no 3 sampai dengan pasangan *primer* spesifik HBS1 dan HBS2 regio S tampak pita putih pada posisi yang diharapkan yaitu pada kisaran 259 bp yang menunjukkan hasil yang positif. Hasil elektroforesis sampel calon TKI no C2,C3,C5,C6,C7 DAN C10 mulanya diamplifikasi dengan PCR menggunakan sepasang *primer* spesifik P7 dan P8 regio S (*first round*), pada hasil elektroforesis tidak tampak pita yang diharapkan pada kisaran 541bp. Kemudian dilakukan amplifikasi DNA ulang dari PCR *first round* dengan PCR menggunakan *primer* yang berbeda yaitu sepasang *primer* spesifik HBS 1 sehingga perlu dilakukan PCR ulang dengan *primer* yang berbeda yaitu sepasang *primer* spesifik HBS1 dan HBS2 pada regio S (*second round*).

Tabel 5.6 Sampel yang menunjukkan hasil positif PCR sesuai dengan *primer* yang digunakan pada regio S

Status Responden	<i>Primer</i> P7-P8	<i>Primer</i> HBS1-HBS2	Jumlah
Calon TKI	8	7	15
TKI	14	1	15
Jumlah	22/30 (73,3%)	8/30 (26,7%)	30 (100%)

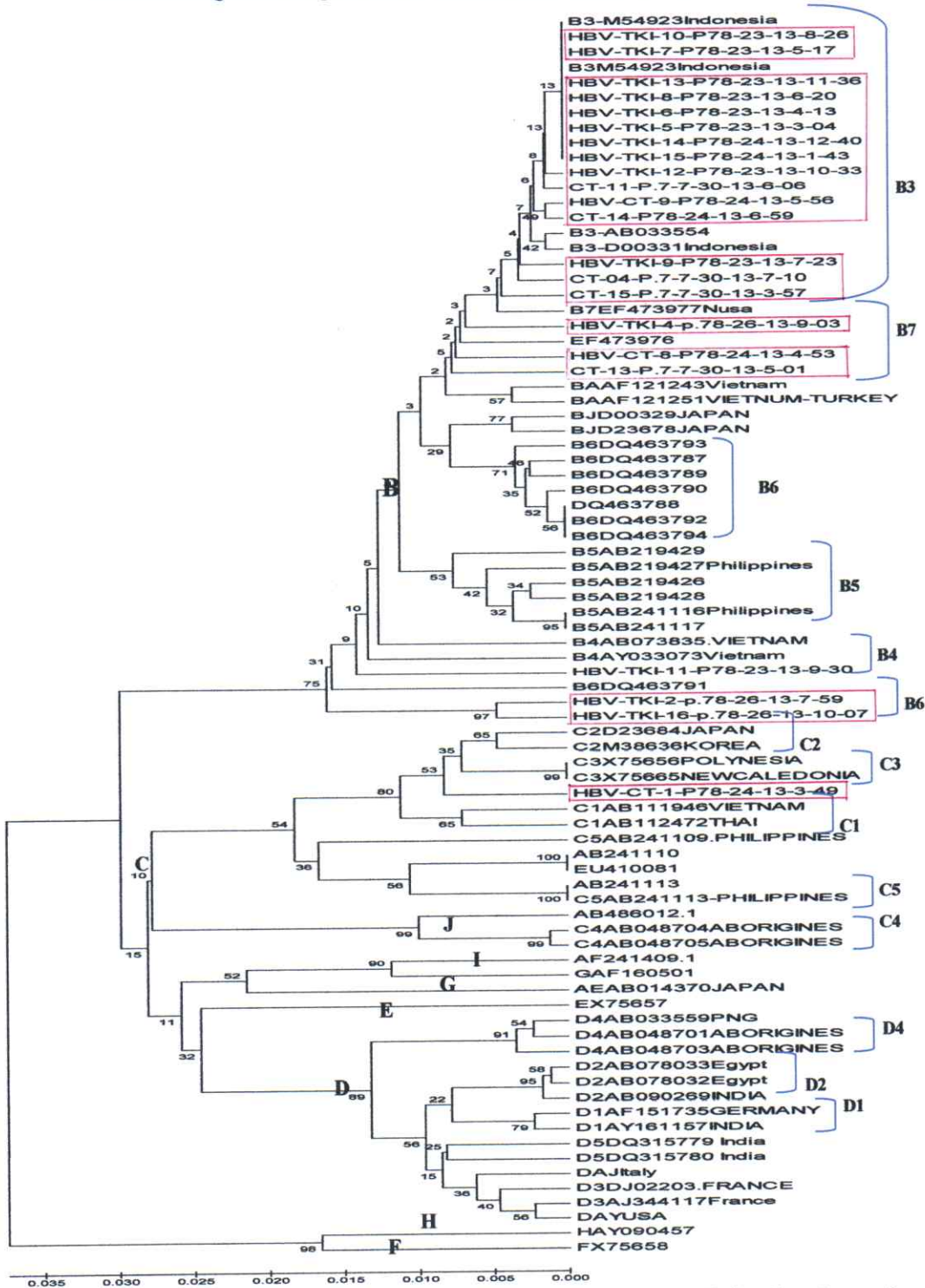
Semua sampel dengan HBsAg positif dilakukan amplifikasi dengan PCR baik *first round* maupun *second round* dan dapat dilihat pada tabel 5.6 hasilnya 30 sampel tersebut (100%) semuanya dapat diidentifikasi dengan PCR, yang terdiri dari 22 sampel (73,3%) yang positif dengan PCR menggunakan *primer* P7-P8 dengan amplifikasi 541bp dan 8 sampel (26,7%) yang positif dengan PCR menggunakan *primer* HBS1 dan HBS2.

### 5.2.3 Hasil *sequencing* dan analisis filogenetik VHB

Proses *sequencing* dilakukan setelah PCR memberikan hasil positif. DNA sampel hasil PCR kemudian dilakukan persiapan untuk *sequencing* yaitu mulai dari isolasi DNA dengan *low melting agarose*, *labeling*, purifikasi etanol dan sodium asetat, kemudian di-*sequencing*. Dari 30 sampel yang *disequencing* terdapat 4 sampel yang memberikan gambaran *elektrophenogram* yang *noise* yaitu sampel nomor CT3, CT7, CT10, CT12 sehingga tidak diikuti dalam tahap analisis selanjutnya. Hasil *sequencing* masing-masing sampel kemudian diolah dan dianalisis dengan menggunakan program komputer *Genetyx for Windows versi 9.0* dengan membandingkan terhadap sekuens VHB yang sudah dipublikasikan, yang diambil dari *database* NCBI *Genbank* dan DDBJ yang diunduh dari internet. Pohon filogenetik dapat dibuat dengan program komputer *Genetyx for Windows versi 9.0*. Isolat VHB dari 30 sampel dan beberapa isolat VHB dari bank data DNA internasional dianalisis secara filogenetik

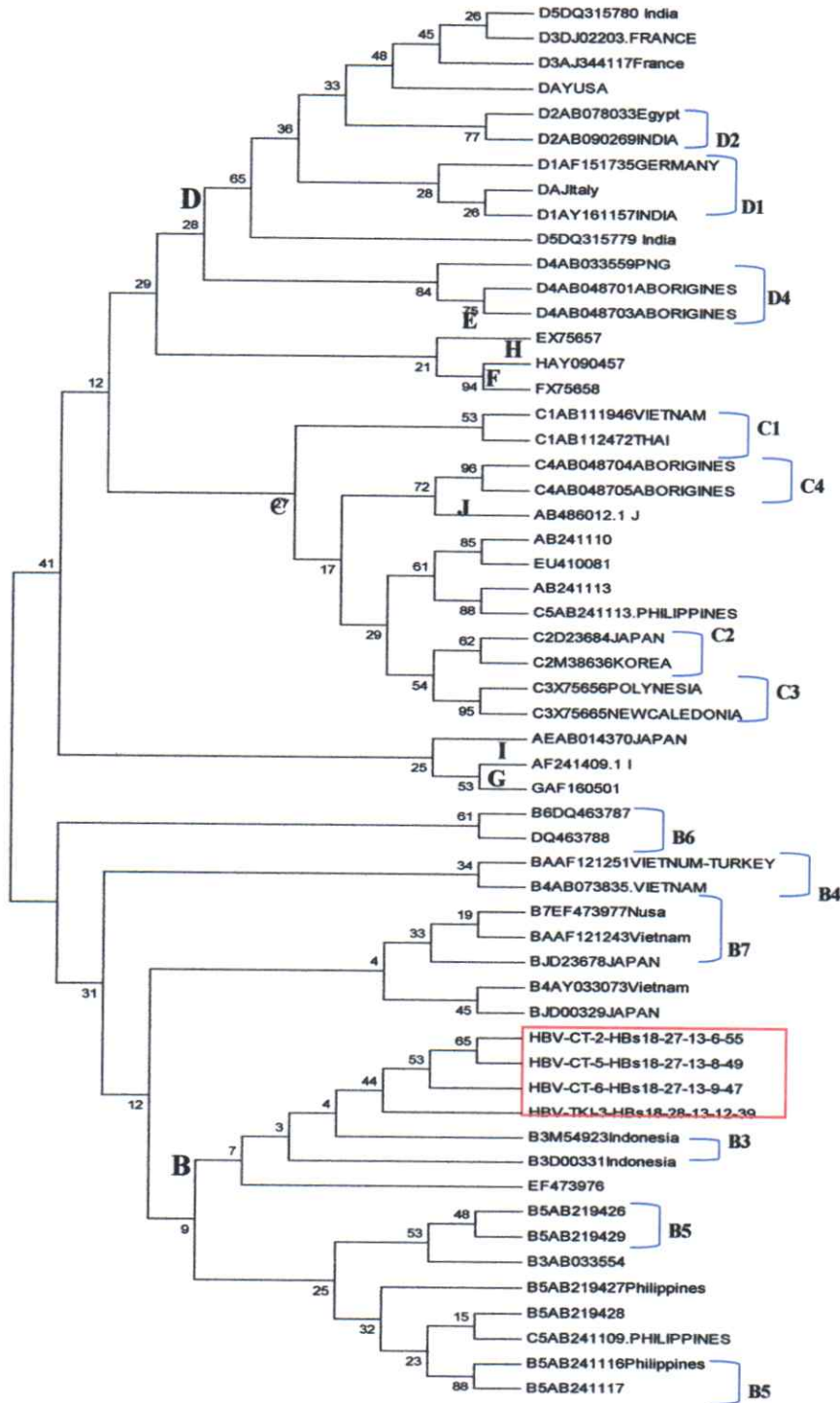
menggunakan *unweighted pair-group method using arithmetic averages* (UPGMA).

Analisis filogenetik dapat dilihat pada gambar dibawah ini:



Gambar 5.5 Pohon filogenetik (dendrogram) genotipe VHB berdasarkan sekuens 413 nukleotida pada posisi 347-760 sebagian gen regio S

Ket: Kode pada kotak merah menunjukkan isolat VHB dari sampel calon dan TKI  
TKI: Sampel isolat TKI; CT: Sampel Calon TKI



Gambar 5.6 Pohon filogenetik (dendrogram) genotipe VHB berdasarkan sekuens 177 nukleotida posisi 527-704 pada sebagian gen regio S

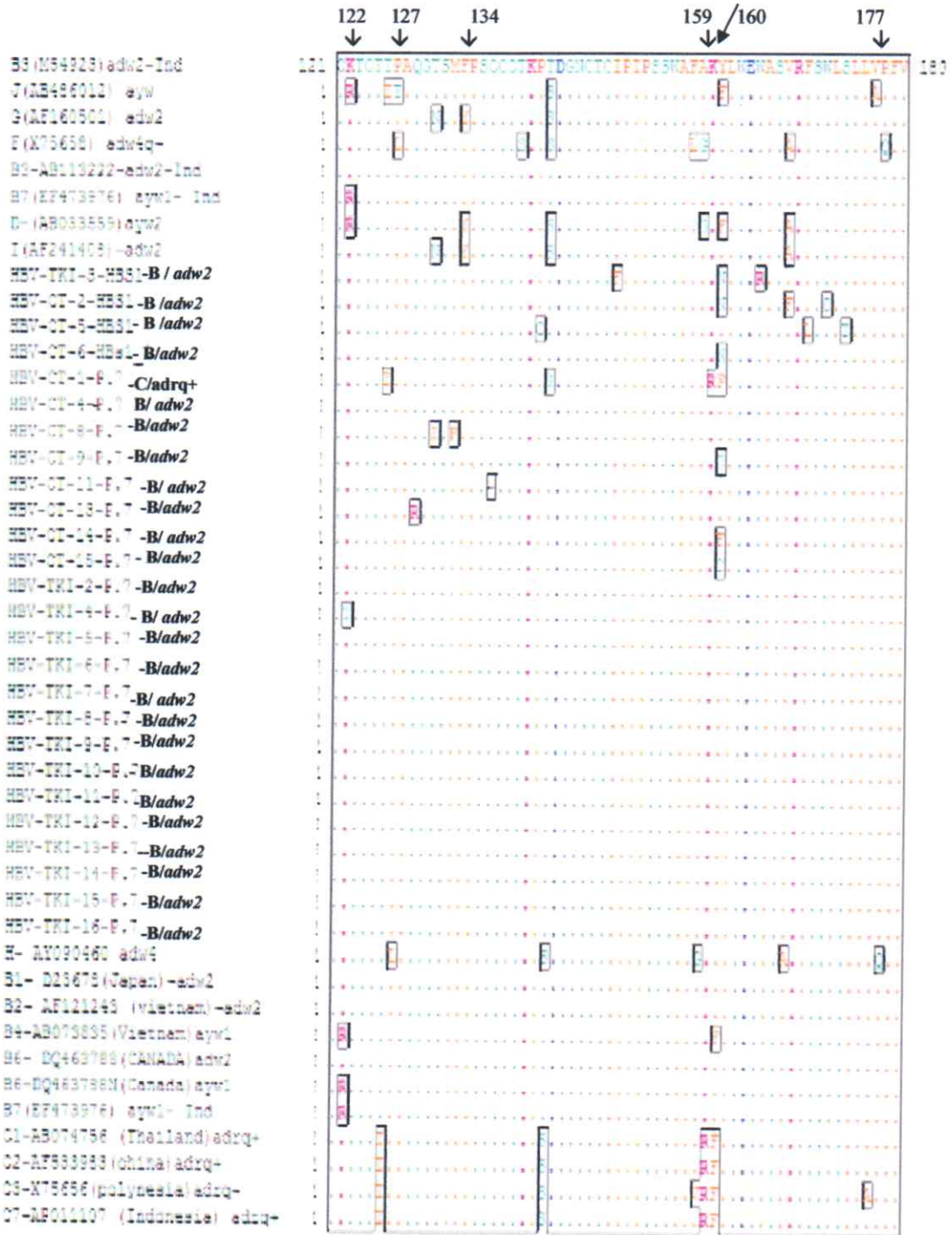
Ket: Kode TKI dan CT pada kotak merah menunjukkan isolat VHB dari sampel calon dan TKI

TKI: Sampel isolat TKI; CT: Sampel Calon TKI

Analisis filogenetik dari sampel dan database internasional berdasarkan sekuen sebagian genom VHB regio gen S yang dapat dilihat dari dendogram pada gambar 5.5 dan 5.6. Hasil identifikasi genotipe VHB semua sampel dengan hasil PCR positif, ditemukan hampir semua sampel 25 dari 26 (96,1%) merupakan genotipe B dan 1 sampel dengan genotipe C (3,9%). Hasil penelitian ini memperlihatkan bahwa VHB genotipe B dominan pada calon dan TKI asal Pulau Lombok dengan HBsAg positif

#### **5.2.4 Hasil analisis subtype VHB dari sampel penelitian**

Penentuan subtype VHB ditentukan dengan cara hasil sekuen nukleotida spesimen yang telah diketahui diterjemahkan ke dalam urutan asam aminonya, kemudian dilakukan *multiple alignment*, dan dianalisis urutan kodon-kodon tertentu. Subtype VHB spesimen ditentukan berdasarkan hasil analisis asam amino spesimen pada posisi 122,127, 134, 159, 160 dan 177 pada gen S VHB, menggunakan program komputer *Genetyx for Windows versi 9.0* dengan membandingkan terhadap sekuen VHB yang sudah dipublikasikan, yang diambil dari *database NCBI Genbank* dan *DDBJ* yang diunduh dari internet. *Multiple alignment* sekuen-sekuen asam amino pada urutan 120-180 gen regio S VHB yang mengacu pada isolat VHB dengan *accession number* M54923, yaitu 26 sekuen dari sampel calon dan TKI dan sekuen lainnya dari bank data DNA Internasional (*DDBJ/GenBank*) diperlihatkan pada gambar berikut:



Gambar 5.7 Multiple alignment pada sekuen asam amino urutan nomor 120-180 pada gen regio S berbagai genotipe dan subtype VHB dari isolat sampel dan isolat dari bank data DNA internasional (DDBJ/GenBank)

Ket: Isolat dengan kode HBV TKI dan HBV CT menunjukkan isolat sampel



Pada gambar *multiple alignment* diatas (Gamb 5.7) dapat ditunjukkan analisis substitusi asam amino pada urutan nomor 122, 127, 134 dan 160 sehingga dapat diketahui sub tipe VHB dari isolat sampel . Analisis sub tipe VHB dari semua isolat sampel didapatkan hampir semua sampel memiliki sub tipe *adw2* kecuali sampel dengan kode CT1 yang menunjukkan sub tipe *adrq+*, sehingga dapat dikatakan bahwa sub tipe *adw2* adalah dominan pada semua isolat sampel. Sampel dengan sub tipe *adrq+* ini merupakan calon TKI yang bukan termasuk suku sasak, melainkan berasal dari Flores Nusa Tenggara Timur yang telah lama berdomisili di Pulau Lombok.

Tabel 5.7 Distribusi genotipe, subgenotipe dan sub tipe VHB dari sampel calon dan TKI

Nomor sampel	Genotipe VHB	Subgenotipe VHB	Sub tipe VHB
HBV-TKI-2	B	B6	<i>Adw 2</i>
HBV-TKI-3	B	B3	<i>Adw 2</i>
HBV-TKI-4	B	B7	<i>Adw 2</i>
HBV-TKI-5	B	B3	<i>Adw 2</i>
HBV-TKI-6	B	B3	<i>Adw 2</i>
HBV-TKI-7	B	B3	<i>Adw 2</i>
HBV-TKI-8	B	B3	<i>Adw 2</i>
HBV-TKI-9	B	B3	<i>Adw 2</i>
HBV-TKI-10	B	B3	<i>Adw 2</i>
HBV-TKI-11	B	B3	<i>Adw 2</i>
HBV-TKI-12	B	B3	<i>Adw 2</i>
HBV-TKI-13	B	B3	<i>Adw 2</i>
HBV-TKI-14	B	B3	<i>Adw 2</i>

HBV-TKI-15	B	B3	<i>Adw 2</i>
HBV-TKI-16	B	B6	<i>Adw 2</i>
CT-1	C	C3	<i>Adrq+</i>
CT-2	B	B3	<i>Adw 2</i>
CT-4	B	B3	<i>Adw 2</i>
CT-5	B	B3	<i>Adw 2</i>
CT-6	B	B3	<i>Adw 2</i>
CT-8	B	B7	<i>Adw 2</i>
CT-9	B	B3	<i>Adw 2</i>
CT-11	B	B3	<i>Adw 2</i>
CT-13	B	B7	<i>Adw 2</i>
CT-14	B	B3	<i>Adw 2</i>
CT-15	B	B3	<i>Adw 2</i>

Berdasarkan tabel 5.7 dapat kita lihat secara ringkas distribusi sampel dengan genotipe VHB B sebanyak 25 sampel dan 1 sampel dengan genotipe C. Subgenotipe B3 terdapat pada 19 sampel, subgenotipe B4 terdapat pada 1 sampel, subgenotipe B6 sebanyak 2 sampel dan subgenotipe B7 sebanyak 3 sampel dan subgenotipe C3 hanya 1 sampel. Dari 26 sampel yang mempunyai sub tipe VHB *Adw 2* adalah sebanyak 25 sampel dan hanya 1 yang merupakan sub tipe *Adrq+* yaitu sampel dengan genotipe C

## BAB 6

### PEMBAHASAN

Pemilihan calon dan Tenaga Kerja Indonesia (TKI) sebagai populasi dalam penelitian ini didasarkan pada pertimbangan limitasi waktu, tenaga dan dana penelitian serta kondisi di Pulau Lombok Nusa Tenggara Barat yang merupakan salah satu daerah tujuan wisata asing dan mayoritas penduduknya bekerja di luar negeri sebagai TKI. Data dari Balai Pelayanan Penempatan dan Perlindungan Tenaga Kerja Indonesia (BP3TKI) di Mataram menunjukkan jumlah TKI asal Nusa Tenggara Barat pada tahun 2012 mencapai 56.150 orang. Daerah asal mereka diantaranya dari Lombok Timur, Lombok Tengah, Lombok Barat dan Lombok Utara serta beberapa daerah diantaranya Bima, Sumbawa, Dompu, serta Kota Mataram. Dengan demikian, pengambilan sampel penelitian pada calon dan TKI memberikan peluang untuk menjaring pengidap asimtomatik virus hepatitis B dalam jumlah yang dianggap cukup, yaitu 30 sampel yang terdiri dari 15 calon TKI dan 15 orang TKI dalam waktu relatif terbatas, yaitu sekitar 1-2 bulan.

#### 6.1 Pembahasan hasil pemeriksaan HBsAg

Deteksi terhadap adanya infeksi VHB yang paling mudah adalah deteksi adanya antigen permukaan VHB yaitu HBsAg. Salah satu petanda serologis untuk infeksi VHB yang sedang aktif adalah adanya antigen dari gen regio S (*surface*) VHB yaitu HBsAg. Pasien yang ditemukan HBsAg dalam darahnya menunjukkan bahwa terdapat infeksi VHB dalam darah pasien yang dibuktikan dengan ditemukannya antigen *surface* VHB pada darah pasien (Handajani R *et al.*, 2006).

HBsAg mulai terdeteksi dalam darah penderita sebelum tampak gejala klinis, saat puncak infeksi dan kemudian tidak terdeteksi 3-6 bulan kemudian. HBsAg yang menetap lebih dari 6 bulan dikatakan infeksi kronis. HBeAg, VHB DNA, dan DNA *polymerase* terdeteksi di serum segera setelah HBsAg, pemeriksaan ini signifikan dengan kejadian replikasi virus aktif (Crawford *et al.*, 2005).

Hasil pemeriksaan HBsAg pada 211 orang calon dan TKI dengan menggunakan metode *immunochromatography* yang dikonfirmasi kembali dengan metode ELISA didapatkan 30 orang calon dan TKI dengan HBsAg positif (14,2%) yang terdiri dari 15 orang dari 87 calon TKI (17,2%) dan 15 orang (12,1%) dari 124 TKI (Tabel 5.3). Hasil penelitian lain yang telah dipublikasikan mengenai petanda VHB pada TKI di RSU Mataram oleh Gunawan dkk (2004), didapatkan HBsAg positif pada 12,5% sampel yang merupakan hasil kumulatif antara calon TKI dan TKI sehingga secara signifikan prevalensi ini lebih rendah daripada prevalensi yang didapatkan dari hasil penelitian ini. Semakin meningkatnya prevalensi HBsAg positif pada calon dan TKI ini kemungkinan dapat diakibatkan dari sumber penularan yang semakin banyak termasuk juga pola pergaulan TKI selama bekerja di luar negeri diantaranya adalah perilaku seks bebas dengan sesama TKI maupun pernikahan dengan sesama TKI, yang mana status keberangkatan sebelumnya adalah ilegal sehingga tidak melalui pemeriksaan HBsAg serta masih banyak TKI yang lolos dari pemeriksaan kelengkapan persyaratan untuk menjadi TKI yaitu vaksinasi hepatitis B. Pada kasus calon dan TKI dengan HBsAg positif yang asimtomatik seperti ini dapat dikatakan sebagai *Carrier* VHB. Pada area dengan tingkat endemisitas hepatitis B yang tinggi bisa didapatkan persentase *carrier* dengan HBsAg positif pada populasi dari 8% sampai 20% (Guan R *et al.*, 2001). Laporan

dari *Core Working Party for Asia Pasific Consensus on Hepatitis B and C* menyatakan bahwa Indonesia memiliki tingkat endemisitas hepatitis B sedang sampai tinggi (Khan *et al.*, 2004) dimana salah satunya adalah Pulau Lombok. Hal ini juga dibuktikan pada sebuah penelitian terhadap 479 orang di pulau Lombok diperoleh proporsi HBsAg positif pada populasi dewasa sebanyak 18,6% (Mulyanto *et al.*, 2008). Salah satu hal yang mungkin terkait dengan endemisitas VHB di Pulau Lombok ini adalah pola kehidupan sosial budaya dari masyarakat di Pulau Lombok, khususnya suku Sasak yang merupakan suku asli di Pulau Lombok. Masyarakat suku sasak mempunyai kebiasaan melakukan perkawinan lebih dari satu kali bagi laki-laki dan hal itu merupakan suatu kebanggaan bagi kaum laki-laki, sehingga dimungkinkan dengan adanya perkawinan dengan banyak orang ini merupakan salah satu bentuk rantai penularan untuk virus hepatitis B di Pulau Lombok.

## 6.2 Pembahasan hasil pemeriksaan PCR

Semua sampel yang dapat diidentifikasi dengan PCR pada penelitian ini sebagian besar dapat dideteksi dengan PCR menggunakan *primer P7-P8 (first round)* yaitu sebanyak 23 sampel, sedangkan 7 sampel lainnya dapat dideteksi dengan pasangan *primer HBS1-HBS2 (second round)*. Hal ini dapat disebabkan karena adanya ketidaksesuaian (non-komplementer) antara urutan nukleotida pada tempat menempelnya (*annealing*) primer dengan urutan nukleotida primer yang digunakan, sehingga *primer* pada *first round* tidak dapat menempel, sehingga perlu dilakukan PCR *second round* dengan menggunakan set-set primer lain yang spesifik dan sudah sering digunakan dalam

pemeriksaan PCR VHB. Hasil pemeriksaan PCR positif menunjukkan adanya DNA VHB dalam tubuh penderita.

Pemeriksaan VHB dengan PCR pada suatu sampel dengan kadar HBsAg positif dapat saja memberikan hasil PCR yang negatif baik dengan PCR menggunakan primer P7-P8 (*first round*) maupun dengan primer HBS1-HBS2 (*second round*). Hal ini dapat terjadi oleh beberapa hal contohnya telah terjadi ketidaksesuaian urutan nukleotida pada tempat menempelnya (*annealing*) primer karena terjadinya mutasi sehingga primer tidak dapat menempel. Dapat pula disebabkan oleh karena virus dalam bentuk utuh sudah tidak ada lagi yang beredar dalam darah penderita (Mandel *et al.*, 2000). Dalam darah seorang penderita dengan HBsAg positif bisa saja yang terdeteksi pada pemeriksaan HBsAg dengan ELISA adalah partikel-partikel bebas yang hanya mengandung protein HBsAg.. Dalam sirkulasi darah, partikel *Dane* merupakan virus utuh yang lengkap dengan DNA VHB, tetapi disamping itu didapatkan partikel-partikel bebas yang hanya mengandung protein HBsAg dalam bentuk sferis maupun filamen (Kann *et al.*, 1997). HBsAg sebagai pembawa (*carrier*) dapat beredar dalam darah penderita hanya dalam bentuk partikel HBsAg yang tidak komplit dan bukan merupakan virus utuh (*virion*) yang infeksius (Mandel *et al.*, 2000)

### 6.3 Analisis genotipe VHB dari sampel penelitian

Hasil identifikasi genotipe VHB semua sampel dengan hasil PCR positif, ditemukan hampir semua sampel merupakan genotipe B dan 1 sampel dengan genotipe C. Hasil penelitian ini memperlihatkan bahwa VHB genotipe B dominan pada pasien dari kalangan calon dan TKI asal pulau Lombok dengan HBsAg positif. Genotipe VHB

berdasarkan sekuen nukleotida gen pada regio S (*surface*) dan regio *Pre-Core/Core* adalah genotipe B dan C yang merupakan dominan di Asia (Kramvis *et al.*,2005). Kombinasi genotipe B dan genotipe C VHB pada suatu wilayah di Asia Tenggara memang sering ditemukan. Kombinasi antara beberapa genotipe VHB adalah biasa terjadi pada suatu negara atau wilayah yang memiliki beberapa genotipe VHB yang berbeda (Utsumi *et al.*, 2009).

Dilaporkan juga bahwa VHB genotipe B, C dan D telah diisolasi dari berbagai kota lainnya di Indonesia, yaitu Jakarta, Padang, Manado, Bajawa dan Balikpapan (Sastrosoewignjo *et al.*, 1991). Lusida *et al.* (2003) melaporkan bahwa semua dari 54 isolat VHB dari Surabaya, Provinsi Jawa Timur, termasuk dalam genotipe B. Pada penelitian Sastrosoewignjo *et al.* (1991), tidak teridentifikasi adanya virus hepatitis B genotipe A atau E. Penelitian terbaru mengenai distribusi genotipe VHB di 28 kota di Indonesia juga melaporkan bahwa VHB genotipe B merupakan yang dominan (66%) diikuti genotipe C (24%), genotipe D (7%) dan genotipe A (0,4%) dan juga ditemukan juga infeksi campuran dari genotipe VHB. VHB genotipe D ditemukan dominan di Maluku Selatan, sedangkan genotipe A ditemukan di Kalimantan Timur dan di Kupang (Mulyanto *et al.*,2009). Dalam penelitian ini tidak teridentifikasi adanya VHB genotipe A,D,E,F,G atau H pada isolat yang berasal dari pulau Lombok.

Jenis genotipe pada suatu area geografi dapat menunjukkan perbedaan dalam distribusi geografis (Kramvis *et al.*,2005), karakteristik klinik dan virologik (Kao,2002). Distribusi genotipe ini juga dapat dikaitkan dengan informasi historik tentang pola migrasi nenek moyang penduduk setempat (Kidd-Ljunggren *et al.*,2002).

VHB genotipe B dan C telah diperbandingkan untuk berbagai karakteristik klinik dan virologik. VHB genotipe C dikaitkan dengan positifitas HBeAg yang lebih tinggi, frekuensi mutasi *precore stop codon* yang lebih jarang (Kao, 2002) dan perjalanan klinis yang lebih agresif daripada genotipe B (Chan *et al.*, 2003). Outcome klinis dan respon terapi antivirus lebih buruk pada penderita terinfeksi VHB genotipe C daripada genotipe B (Kao, 2002)

Genotipe VHB saat ini menjadi penting karena ada indikasi bahwa genotipe ini juga berpengaruh terhadap berbagai bentuk hepatitis B kronis dan respon VHB terhadap terapi interferon (Lindh *et al.*, 1997). Dari beberapa penelitian terlihat adanya hubungan penyakit hati dengan VHB genotipe B dan C. Penelitian yang dilakukan oleh Kao (2003) di Taiwan menunjukkan VHB genotipe B dan C merupakan dominan di Taiwan. Genotipe C terkait dengan penyakit hati yang berat termasuk sirosis hati dan karsinoma hepatoseluler, sedangkan genotipe B terkait dengan perkembangan karsinoma hepatoseluler pada pasien muda penderita penyakit hati *non-cirrhotic*. Manifestasi klinis, baik sirosis hepatis maupun karsinoma hepatoseluler, lebih buruk pada penderita yang terinfeksi dengan VHB genotipe C daripada genotipe B (Kao, 2002).

Cabang-cabang pohon filogenetik menunjukkan 19 sampel berada satu cabang dengan subgenotipe B3, tiga sampel berada pada cabang dengan subgenotipe B7, dua sampel berada satu cabang dengan subgenotipe B6, satu sampel berada pada satu cabang dengan subgenotipe B4, dan satu sampel lainnya masuk ke dalam subgenotipe C3. Penentuan genotipe VHB dari sekuen gen regio S secara umum konsisten dengan penentuan dari sekuen genom lengkap, karena itu genotipe VHB dapat ditentukan berdasarkan sekuen gen regio S (Utsumi *et al.*, 2009). Klasifikasi subgenotipe pada



beberapa strain VHB tidak dapat digunakan hanya berdasarkan pada gen regio S saja. Sekuen genom lengkap merupakan yang paling tepat digunakan untuk analisis klasifikasi genotipe dan subgenotipe VHB (Lusida *et al.*, 2008; Nagasaki *et al.*, 2006).

Penelitian yang dilakukan oleh Mulyanto *et al.*, (2009) di Denpasar, Bali ditemukan infeksi VHB dominan oleh VHB genotipe B diikuti oleh genotipe C dan ditemukan juga infeksi VHB dengan genotipe campuran. Infeksi VHB oleh genotipe B dominan ditemukan VHB subgenotipe B3 diikuti oleh subgenotipe baru yaitu VHB/B8, sedangkan dari VHB genotipe C dominan ditemukan VHB subgenotipe baru C7 diikuti oleh subgenotipe VHB/C1.

Penelitian yang pernah dilakukan oleh Utama *et al.*, (2009) menunjukkan VHB subgenotipe B3 dan subgenotipe C1 merupakan subgenotipe VHB yang dominan ditemukan di Indonesia, hal yang sama juga ditemukan oleh Mulyanto *et al.*, (2009). VHB subgenotipe B3 nampaknya tidak ditemukan di negara lain selain di Indonesia, dan sepertinya VHB subgenotipe B3 merupakan subgenotipe khusus dari Indonesia. VHB subgenotipe C1 tersebar di beberapa negara Asia termasuk China dimana subgenotipe B2, C1 dan C2 merupakan subgenotipe yang dominan. Diperkirakan ketiga subgenotipe tersebut di Indonesia telah diimpor dari wilayah negara-negara tetangga dimasa lampau (Mulyanto *et al.*, 2009)

#### **6.5. Analisis subtipe VHB dari sampel penelitian**

Dari hasil analisis subtipe VHB dari semua isolat sampel didapatkan hampir semua sampel ( 96,2,%) memiliki subtipe VHB *adw2*, sedangkan satu sampel (3,8%)

memiliki subtipe VHB *adrq+*. Subtipe *adw2* merupakan subtipe yang dominan dari semua isolat sampel penelitian.

Subtipe *adw* terdapat di daerah yang luas mulai dari Afrika, daerah Mediterania Timur, Asia Barat sampai India Utara, Eropa Barat, Amerika Utara dan Selatan. Subtipe *adw* terutama terdapat di bagian selatan yaitu Tiongkok Selatan, Taiwan, Okinawa dan Amami, Filipina dan Indonesia (Rasmilah, 2001). Utama *et al.*, (2009) mendapatkan VHB subtipe *adw2* dan subtipe *adrq+* ditemukan dominan pada infeksi oleh VHB genotipe B dan C di Indonesia.

Subtipe VHB ini secara epidemiologis dapat menunjukkan perbedaan geografi dan etnis dalam penyebarannya. Pola penyebaran subtipe dapat menggambarkan pola migrasi penduduk dimasa yang lalu, sebab infeksi VHB dari suatu subtipe yang menular kepada individu yang lain akan menunjukkan subtipe yang sama. Subtipe ternyata ada hubungan dengan faktor etnik serta genetik, hal ini terutama berlaku untuk pengidap kronis (Mulyanto *et al.*, 2009).

Semua subtipe utama VHB ditemukan di Indonesia. Subtipe *adw*, *ayw* dan *adr* dominan di kawasan barat Indonesia, Maluku dan Papua. Subtipe *adr* sangat dominan di daerah Papua dan sebagian Sumatera (Mulyanto *et al.*, 2009). Dilaporkan juga di Yogyakarta, *adw* merupakan subtipe VHB yang paling sering ditemukan, diikuti subtipe *adr* dan subtipe-subtipe lainnya (Hadiwandowo *et al.*, 1994). Penelitian lain melaporkan bahwa subtipe *adw* (*adw2* dan *adw4*) paling sering dijumpai di Sumatera, Jawa, Kalimantan bagian selatan, Bali, Lombok, Ternate dan Morotai (Lusida *et al.*, 2003). Hasil penelitian yang dilakukan oleh Mulyanto *et al.*, (2009) di Bali yaitu di kota Denpasar, didapatkan subtipe VHB yang dominan menginfeksi penderita adalah subtipe

*adw*, kemudian diikuti oleh sub tipe *adr*, *ayw* dan *ayr*.

Terdapat beberapa teori tentang populasi asli dari penduduk Indonesia, namun teori yang paling dapat diterima adalah teori oleh Brandes. Teori oleh Brandes menyatakan bahwa penduduk asli Indonesia berasal dari keturunan Austronesia. Keturunan Austronesia dapat dibagi menjadi dua yaitu Austronesia barat dan Austronesia Timur. Populasi keturunan Austronesia barat meliputi Kalimantan, Sumatera, Bali dan kepulauan di Nusa Tenggara Barat dimana pada zona wilayah ini dominan terdapat VHB subgenotipe B3 dan sub tipe *adw2*. Austronesia timur meliputi Sulawesi, Nusa Tenggara dan Maluku Selatan dimana VHB subgenotipe B7 dan B8 dengan sub tipe *ayw* merupakan yang dominan (Mulyanto *et al.*, 2009).

Dari peningkatan mobilitas penduduk dan perubahan komposisi demografi di Pulau Lombok dengan adanya calon maupun TKI yang datang maupun akan berangkat ke luar negeri dalam beberapa tahun terakhir belum dapat diketahui apakah sudah terjadi pergeseran pola genotipe, subgenotipe maupun sub tipe VHB di Lombok Nusa Tenggara Barat dikarenakan belum pernah ada data ataupun penelitian yang menggambarkan pola genotipe VHB di kalangan calon dan TKI di pulau Lombok sebelumnya. Apabila dilihat dari pola genotipe, subgenotipe dan subtipe VHB kemungkinan besar para calon TKI pada sampel ini terinfeksi VHB selama berada di Pulau Lombok dan bagi TKI kemungkinan pada saat sebelum berangkat sudah membawa virus atau dapat juga tertular oleh rekan sesama TKI asal pulau Lombok selama berada diluar negeri, sehingga dapat dikatakan bahwa sumber penularan berasal dari Pulau Lombok dan bukan berasal dari luar negeri.

Pada analisis genotipe, subgenotipe dan sub tipe VHB pada calon TKI dan TKI ini tidak terdapat perbedaan yang cukup signifikan, baik calon maupun TKI memberikan

gambaran pola genotipe, subgenotipe dan subtipe yang hampir sama. Karakteristik klinik dari VHB yang dominan pada calon dan TKI ini dapat dipergunakan sebagai informasi tambahan dalam penanganan penderita yang terinfeksi VHB di pulau Lombok dan membuka lahan penelitian lanjutan guna mengeksplorasi karakteristik isolat VHB di pulau Lombok khususnya, dan di Indonesia pada umumnya.

Beberapa kelemahan dalam penelitian ini merupakan akibat adanya keterbatasan-keterbatasan yang dijumpai. Keterbatasan tersebut antara lain adalah dalam penelitian ini tidak dilakukan penelusuran subgenotipe VHB dari sampel pada genom regio lain selain regio S, seperti dari regio *Pre-Core/Core* ataupun dari genom lengkap VHB sehingga dalam penelitian ini didapatkan analisis subgenotipe yang kurang tepat. Keterbatasan lain adalah jumlah sampel dan distribusi pengambilan sampel yang kurang luas dan kurang tersebar dari semua wilayah pulau Lombok sehingga belum didapatkan data yang memang telah mewakili kondisi populasi yang sebenarnya di pulau Lombok.

## BAB 7

### PENUTUP

#### 7.1 Kesimpulan

1. Berdasarkan hasil pemeriksaan kadar HBsAg didapatkan calon dan TKI dengan HBsAg positif sebanyak 30 dari 211 responden dengan prevalensi sebesar 14,2%
2. Hasil identifikasi genotipe VHB semua sampel dengan HBsAg positif ditemukan semua sampel yaitu 25 (96,2%) sampel merupakan genotipe B dan 1 sampel dengan genotipe C (3,8%). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa VHB genotipe B dominan pada calon dan TKI asal pulau Lombok
3. Hasil identifikasi Subgenotipe VHB dari semua sampel didapatkan subgenotipe B3 terdapat pada 19 sampel, subgenotipe B4 terdapat pada 1 sampel, subgenotipe B6 sebanyak 2 sampel dan subgenotipe B7 sebanyak 3 sampel serta subgenotipe C3 hanya 1 sampel
4. Hasil analisis sub tipe VHB dari semua sampel dengan HBsAg positif didapatkan hampir semua sampel yaitu 25 dari 26 sampel ( 96,2%) memiliki sub tipe VHB *adw2*, sedangkan satu sampel (3,8%) memiliki sub tipe VHB *adrq+*.

#### 7.2 Saran

Hasil yang diperoleh dari penelitian ini masih perlu untuk dikembangkan lagi karena adanya beberapa kelemahan dalam penelitian ini. Beberapa kelemahan dalam penelitian ini merupakan akibat adanya keterbatasan-keterbatasan antara lain adalah perlunya dilakukan penelusuran subgenotipe VHB dari sampel pada genom regio lain

selain regio S ataupun dari genom lengkap VHB sehingga didapatkan analisis subgenotipe yang lebih tepat.

Keterbatasan lain adalah perlunya distribusi pengambilan sampel yang lebih luas dan tersebar dari semua wilayah pulau Lombok sehingga didapatkan data yang memang telah mewakili kondisi populasi yang sebenarnya. Selain itu juga perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk pemeriksaan antiHBs sehingga dapat diambil tindakan proteksi yaitu dengan program vaksinasi hepatitis B bagi TKI yang akan berangkat serta mendeteksi kemungkinan adanya DNA VHB pada calon maupun para TKI yang akan berangkat ke Luar negeri meskipun HBsAg negatif untuk mengantisipasi adanya *Occult* HBV pada calon dan TKI tersebut.

## DAFTAR PUSTAKA

- Achwan WA, Muttaqin Z, Zakaria E, Mulyanto. 2007. Epidemiology of Hepatitis B,C,and E viruses and Human Immunodeficiency virus infections in Tatuna. Sangihe Talaud Archipelago. Indonesia. *Intervirol* 50: 408-411
- Ali Sulaiman, dkk. 1990. *Gastroenterologi Hepatologi*. CV. Infomedika. Jakarta.
- Ali Sulaiman & Julitasari. 1997. *Panduan Praktis Penatalaksanaan dan Pecegahan Hepatitis B*. IDI. Jakarta.
- Arankalle VA, Gandhe SS, Borkakoty BJ, Walimbe AM, Biswas D, Mahanta J. 2010. A Novel HBV Recombinant (Genotype I) Similar to Vietnam/Laos in a primitive Tribe In Eastern India. *J Virol Hepatol* 10: 1365-2893.
- Arauz-Ruiz P, Norder H, Visona KA, and Magnius LO. 1997. Molecular epidemiology of hepatitis B wis in Central America reflected in the genetic variability of the snail S gene. *J Infect Dis* 176:851-858.
- Arauz-Ruiz P, Norder H, Robertson BH, Magnius LO. 2002. Genotipe H: A new Amerindian genotype of hepatitis B virus revealed in Central America. *J Gen Virol* 83:2059–2073
- Beasley RP, Hwang L-Y, Lin C-C and Chen C-S (1981). Hepatocellulare carcinoma and hepatitis B virus. *Lancet* 11:1129-1133.
- Cavinta L, Cao G, Schaefer S. 2009. Description of a new hepatitis B virus C6 subgenotype found in the Papua province of Indonesia and suggested renaming of a tentative C6 subgenotype found in the Philippines assubgenotype C7. *J Clin Microbiol* 47:3068–3069.
- Crawford JM. 2005. *Liver and Biliary Tract* in Kumar V, Abbas AK, Fausto N, Robbins and Cotran *Pathologic basic of disease*. Pensiylania: Elseviers Saunders. pp:877-937.
- Guan R, Merican I, Amara pucar D. 2001. Chronic Hepatitis B infection: Management practices in Asia. *Med progress* 28: 25-29
- Guillou-Guillemette H. L., S. Vallet, C. Gaudy-Graffin, C. Payan, A. Pivert, A. Goudeau F. and Lunel-Fabiani. 2007. Genetic diversity of the hepatitis Cvirus: Impact and issues in the antiviral therapy. *World J Gastroenterol*; 13(17): 2416-2426.

- Handajani R, Setiawan PB, Soetjipto. 2006. 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 Jakarta, 6 Desember 2006.
- Huy TTT, Ushima H, Quang VX, Win KM, Luengrojanakul P, Kitawchik, Sata T, and Abe K. 2004. Genotype of Hepatitis B Virus can be classified into at least two subgroups. *J Gen virol* 85:283-292.
- Jawetz, Melnick, Adelberg's. 1996. *Mikrobiologi Kedokteran*, Edisi 20. EGC. Jakarta. Hal 450-470.
- Kato N., T. Nakamura, H. Dansako, K. Namba, K. Abe, A. Nozaki, K. Naka, M. Ikeda and K. Shimotohno. 2005. Genetic variation and dynamics of hepatitis C virus replicons in long-term cell culture. *J. Gen. Virol*, 86, 645-656.
- Keefee EB, Dieterich DT, Steve, Han HB, Jacobson IM, Martin P, Schiff ER, Tobias H, Wright TL. 2004. A treatment algorithm for the management of chronic hepatitis B virus infection in the United States. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2 (2) : 87-106.
- Khan M, Dong JJ, Acharya SK, Dhagwahdorj Y, Abbas Z, Jafri SMW, Mulyono DH, Tozun N, Sarin SK. 2004. Hepatology issues in Asia: perspectives from regional leaders. *J Gastroenterol Hepatol* 19: S419-S430.
- Kidd-Ljunggren K, Miyakawa, and Kidd AH. 2002. Genetic variability in hepatitis B viruses. *J Gen Virol* 83:1267-1280.
- Kramvis A, Kew M, and Francois G. 2005. Hepatitis B virus genotypes. *Vaccine* 23: 2409-2423.
- Kramvis A, Arakawa K, YuMC, Nogueira R, Stram DO, Kew M. 2008. Relationship of serological subtype, basal core promoter and precore mutations to genotypes/subgenotypes of hepatitis B virus. *J Med Virol* 80:27-46.
- Lee WM. 1997. Hepatitis B virus infection. *N Engl J Med* 337:1733- 1745.
- 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.
- Lok ASF, McMohan BJ. 2001. AASLD Practical Guideline Chronic Hepatitis B: Update of recommendations. *Hepatology*, pp.1225-1241.



- Lokhande et al. 2011. HBV and HCV Immunopathogenesis, in Mukolov SL, Viral Hepatitis, selected Issues of Pathogenesis and Diagnostics, Intech Open, Croatia
- Lusida MI, Surayah, Sakugawa H, Nagano-Fujii M, Soetjipto, Mulyanto, Handajani R, Boediwarsono, Setiawan PB, Nidom CA, Oghimoto S, and Hotta H. 2003. Genotype and Subtype analysis of Hepatitis B Virus (HBV) and possible coinfection of HBV and Hepatitis C Virus (HCV) or Hepatitis D Virus (HDV) in blood donors, patient with chronic liver disease and patients on hemodialysis in Surabaya, Indonesia. *Microbial Immunol* 47(12):969-975.
- Lusida MI, Nugrahaputra VE, Soetjipto, Handajani R, Fuji MN, Sasayama M, Utsumi T, Hotta H. 2008. Novel Subgenotypes of Hepatitis B Virus genotypes C and D in papua, Indonesia. *J Clin Microbial* vol 46(7):2160-2166.
- Madiyono B. 1995. Perkiraan Besat Sampel dalam Dasar-dasar Metodologi Penelitian Klinis. Bagian Ilmu Kesehatan Anak FK UI. Binarupa Aksara, Jakarta. Hal.187-212.
- Magnius LO, Norde H. 1995. Subtypes, genotypes and molecular epidemiology of the Hepatitis B virus as reflected by sequence variability of the S-Gene. *Intervirology* 38:24-34.
- Mandel, Douglas, Barnett's. 2000. Hepatitis B Virus and Hepatitis D Virus in Principles and practice of Infectious Disease. Churchill Livingstone, Chapter 135.
- Meldal BH, Moula NM, Barnes IH, Boukef K, Allain JP. 2009. A novel hepatitis B virus subgenotype, D7, in Tunisian blood donors. *J Gen Virol* 90:1622-1628.
- Mulyanto, Soewignjo Soemohardjo, Didacus Sumarsidi, Stephanus Gunawan, Bernardus Sandjaja dan Gomeus Effendy. 1994. Epidemiologi hepatitis B dan C di daerah rural. Simposium Nasional Hepatitis C. Surabaya.
- Mulyanto, Tsuda F, Karossi AT, Soewignyo S, Roestamsjah, Trisnamurti RH, Sumardi, Surayah, Kanai kand mishiro S. 1997. Distribution of The Hepatitis B surface antigen subtypes in Indonesia: Implications for ethnic heterogeneity and infection control measures. *Arch Virol* 142: 2121.
- Mulyanto, Surayah Kiely, S.N Depamede, Ima A. Lestarini, W. Budianto, Hafiludin, Umi Kalsum, F. Tsuda, M. Takahashi, and H. Okamoto. 2008. Hepatitis B in Eastern Part of Indonesia (abstract). Proceeding of The Second China-Indonesia Joint International Symposium on Hepatobiliary Medicine and Surgery. Chongqing, China, 7-8 May.

- Mulyanto, Depamede SN, Surayah K, Tsuda F, Ichiyama K, Takahashi M, Okamoto H. 2009. A nationwide molecular epidemiological study on hepatitis B virus in Indonesia: Identification of two novel subgenotypes, B8 and C7. *Arch Virol* 154: 1047–1059.
- Mulyanto, Depamede SN, Surayah K, Tjahyono AA, Jirintai, Nagashima S, Takahashi M, Okamoto H. 2010. Identification and characterization of novel hepatitis B virus subgenotype C10 in Nusa Tenggara, Indonesia. *Arch Virol* 155:705–715.
- Mulyanto, Pingki Pancawardani, Sulaiman Ngongu Depamede, Arif Wahyono, Suljid Jirintai, Shigeo Nagashima, Masaharu Takahashi, Tsutomu Nishizawa, Hiroaki Okamoto. 2012. Identification of four novel subgenotypes (C13-C16) and two intergenotypic recombinants (C12/G and C13/B3) of hepatitis B virus in Papua Province, Indonesia. *Virus Research* 163 129-140.
- Mulyanto. Keanekaragaman genom virus hepatitis B di Indonesia; pola persebarannya mencerminkan semboyan “Bhineka Tunggal Ika”. *Dialog Budaya Melayu*, Pekanbaru, 3-5 Desember 2013.
- Norder H, Hammas B, Lufdahl S, Courouce AM, Magnius LO. 1992. Comparison of the amino acid sequences of nine different serotypes of hepatitis B surface antigen and genomic classification of corresponding hepatitis B virus strain. *J Gen Virol* 73: 1201-1208.
- Norder H, Courouce AM, Magnius LO. 1994. Complete genomes, phylogenetic relatedness, and structural proteins of six strains of hepatitis B virus, four of which represent two new genotypes. *Virology* 198:489-503.
- Norder H, Courouce AM, Coursaget P, Echevarria JM, Lee SD, Mushawar IK, Robertson BH, Locarnini S, Magnius LO. 2004. Genetic diversity of hepatitis B virus strains derived worldwide: geotypes, subgenotypes and HbsAg subtypes. *Intervirology* 47:289-309.
- Nurainy N, Muljono DH, Sudoyo H, Marzuki S. 2008. Genetic study of hepatitis B virus in Indonesia reveals a new subgenotype of genotype B in east Nusa Tenggara. *Arch Virol* 153:1057–1065.
- Okamoto H, Imai M, Shimozaki M, Hoshi Y, Iizuka H, Gotanda T, Tsuda F, Miyakawa Y, Mayumi M. 1986. Nucleotide sequence of a cloned hepatitis B virus genome, subtype ayr: comparison with genomes of the other three subtypes. *J Gen Virol* 67:2305-2314.
- Okamoto H, Tsuda F, Sakugawa H, Sastrosoewignjo RI, Imai M, Miyakawa Y, Mayumi M. 1988. Typing hepatitis B virus by homology in nucleotide sequence: comparison of surface antigen subtypes. *J Gen Virol* 69:2575-2583.

- Olinger CM, Jutavijittum P, Hubschen JM, Yousukh A, Samounry B, Thammavong T, Toriyama K, Muller CP. 2008. Possible new hepatitis B virus genotype, southeast Asia. *Emerg Infect Dis* 14:1777–1780
- Pourkarim MR, Lemey P, Amini-Bavil-Olyae S, Maes P, Van Ranst M. 2010b. Novel hepatitis B virus subgenotype A6 in African-Belgian patients. *J Clin Virol* 47 :93–96.
- Rasmilah. 2001. Hepatitis B. Kumpulan artikel kesehatan masyarakat. Fakultas Kesehatan Masyarakat USU. USU digital library.
- Sakamoto T, Tanaka Y, Orito E, Co J, Clavio J, Sugauchi F, Ito K, Ozasa A, Quino A, Ueda R, Sollano J, Mizokami M. 2006. Novel subtypes (subgenotypes) of hepatitis B virus genotypes B and C among chronic liver disease patients in the Philippines. *J Gen Virol* 87:1873–1882.
- Sandjaja B, Mulyanto, Sumarsidi D, Gunawan S, Depamede SAN, and Soewignjo S, 1990. Hepatitis A and hepatitis B virus infection in school children in Jayapura, Irian Jaya. Fifth Soentifik: Meeting, Indonesian Association for the Study of the Liver, Jakarta, Indonesia.
- Sastrosoewignjo RI, Sandjaja B, and Okamoto H, 1991. Molecular epidemiology of hepatitis B virus in Indonesia. *J Gastroenterol Hepatol* 6:491–498.
- Simmonds, P. 2004. Genetic Diversity and Evolution of Hepatitis C Virus – 15 years on. *J Gen Virol*. 85: 3173–3188.
- Siregar FA. 2004. Hepatitis B ditinjau dari Kesehatan Masyarakat dan Upaya Pencegahan. Kumpulan Artikel kesehatan masyarakat. Fakultas Kesehatan Masyarakat USU. Nomor 6.
- Sismindari. 2000. Konsep Dasar Biologi Sel dan Biologi Molekuler. Dalam: Biologi Molekuler Konsep Dasar Biologi dan Biologi Molekuler. Editor: Sismindari. Ed 1. Gajah Mada press. Yogyakarta. Hal 1-10.
- Soewignjo S & Gunawan S. 1999. Hepatitis Virus B. EGC. Jakarta.
- Stevens CD. 2010. Clinical Immunology & Serology. A Laboratory Perspective. Third Edition. FA David Company, Philadelphia. Hal. 369-390.
- Suharjo JB. 2006. Diagnosis dan Manajemen Hepatitis B Kronis. *Majalah Cermin Dunia Kedokteran* No.150, hal 5-9.
- Tani H et al. 2008. Virus Cell Interaction of HCV, in Cheng RH, Miyamura T, Viral Replication. World Scientific. Singapore.

- Tatematsu K, Tanaka Y, Kurbanov F, Sughauci F, Mano S, Maeshiro T, Nakayoshi T, Wakuta M, Miyakawa Y, Mizokami M. 2009. A genetic variant of hepatitis B virus divergent from known human and ape genotypes isolated from a Japanese patient and provisionally assigned to new genotype. *J Virol* 83(20): 10538-10547.
- Tiollais P, Charnay P, Vyas GN. 1981. Biology of hepatitis B virus. *Science* 213:406-411.
- Tiollais P., Pourcel, C., Dejean, A. 1985. The hepatitis B virus. *Nature* 317 (6037), 489-495.
- Turgeon LT. 2009. *Immunology and Serology in Laboratory Medicine*, Fourth Edition. Mosby Elsevier. Hal. 275-298.
- Utsumi T, Lusida MI, Yano Y, Nugrahaputra VE, Amin M, Juniastuti, Soetjipto, Hayashi Y, Hotta H. 2009. Complete genome sequence and phylogenetic related of Hepatitis B virus isolates in Papua, Indonesia. *J Clin Microbiol* 42 (6): 1842-1847.
- Yuen MF, Yuan HJ, Sabkxi E, Wong DKH, Qian AOO, Wong BCY, and Lai CL, 2004. Long-term follow-up study of Chinese patients with YMDD mutations : significance of hepatitis B virus genotypes and characteristics of biochemical flares. *Clin Microbiol* 42(9):3932-3936.
- Wang Z, Huang Y, Wen S, Zhou B, Hou J. 2007. Hepatitis B virus genotypes and subgenotypes in China. *Hepatology* 37:S36-S41. Zuckerman JN, Zuckerman AJ. 2000. Current topics in hepatitis B. *J Infect* 41:130-136.
- Zuckerman JN, Zuckerman AJ. 2000. Current topics in hepatitis B. *J Infect* 41:130-136

## Lampiran 1

**JADWAL KEGIATAN**

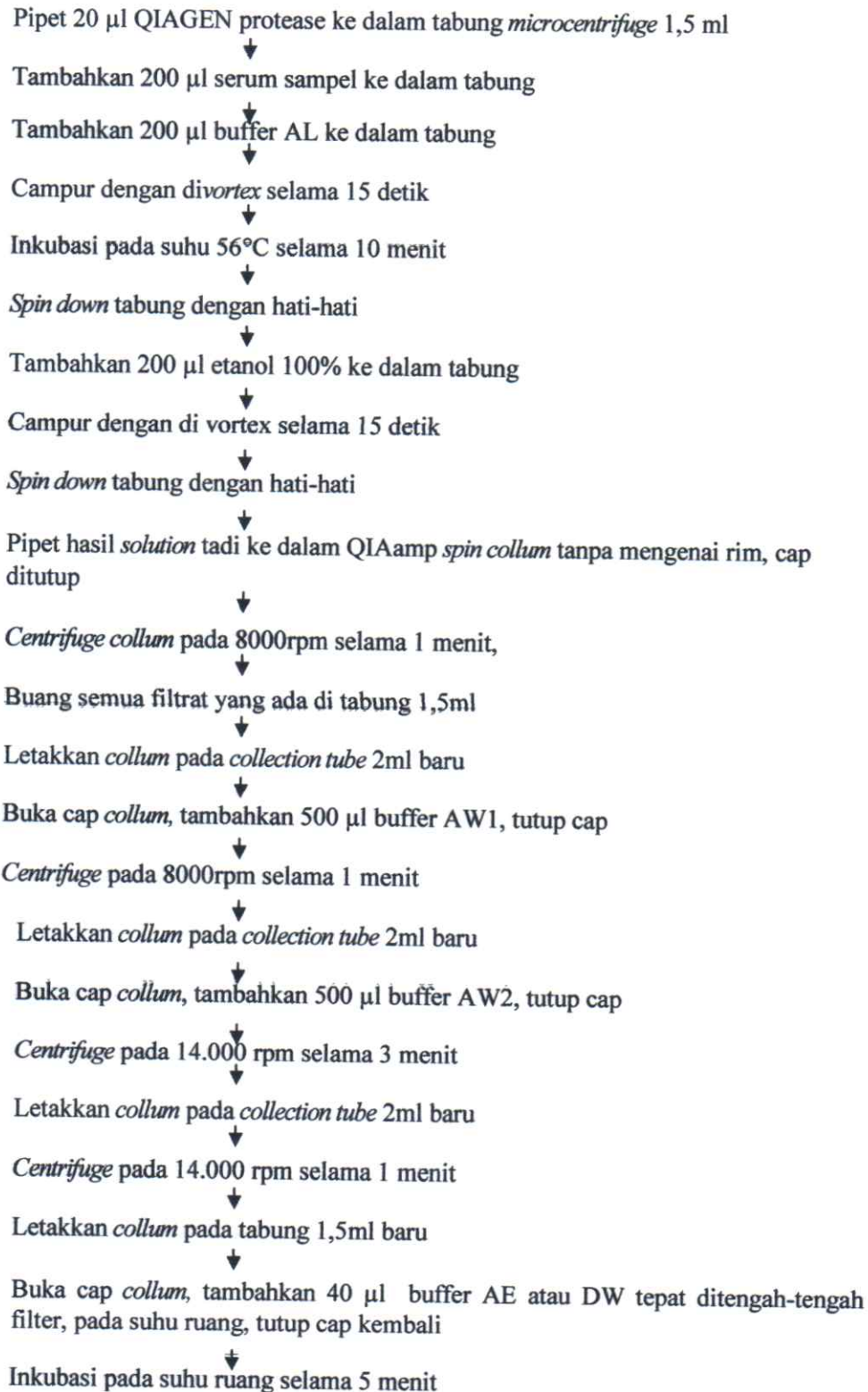
No	Kegiatan	Bulan ke-1	Bulan ke-2	Bulan ke-3	Bulan ke-4
1	Penyusunan proposal	■			
2	Ujian Proposal	■			
3	Perbaikan Proposal	■			
4	Pengajuan uji etika penelitian Persiapan alat dan bahan		■		
5	Pengumpulan sampel		■	■	
6	Pemeriksaan sampel		■	■	■
7	Analisis data dan penyusunan laporan penelitian		■	■	■
8	Ujian tesis			■	■
9	Perbaikan laporan penelitian			■	■
10	Konsultasi dengan pembimbing	■	■	■	■

## Lampiran 2

PROSEDUR PEMERIKSAAN TITER HBsAg DENGAN METODE ELISA  
MENGUNAKAN KIT AXIOM DIAGNOSTIC

- ✦ Persiapan reagen : letakkan reagen pada suhu ruang. Encerkan *wash buffer* 1:20 dengan *distilled water*
- ✦ Posisikan strip yang diperlukan pada strip-bolder dan pada nomor sumur yang sesuai termasuk tiga kontrol negatif (Bi, Ci, Di), dua kontrol positif (Ei, Fi) dan satu sumur kosong (Ai).
- ✦ Masukkan masing-masing 50 µl kontrol positif, kontrol negatif dan spesimen kedalam sumur masing-masing
- ✦ Tambahkan 50 µl *HRP-conjugate* ke setiap sumur kecuali ke dalam sumur kosong, kemudian campur dengan cara *tapping*
- ✦ Tutup *plate* dengan tutupnya, inkubasi di *water-bath* pada 37°C selama 60 menit
- ✦ Buka tutup *plate*, cuci sumur sebanyak lima kali dengan *wash buffer* yang telah diencerkan. Setiap mencuci kocok selama 30-60 detik
- ✦ Keringkan bagian bawah *plate* dengan kertas/kain kering
- ✦ Masukkan 50 µl chromogen A dan 50 µl chromogen B ke dalam masing-masing sumur termasuk sumur kosong. campur dengan cara *tapping*.
- ✦ Inkubasi *plate* pada 37°C selama 15 menit, hindari terkena cahaya langsung
- ✦ Akan terjadi reaksi enzimatis antara larutan chromogen dengan *HRP-conjugate* yang menghasilkan warna biru pada sumur kontrol positif dan pada sampel dengan HBsAg positif
- ✦ Tambahkan 50 µl *stop solution* ke dalam masing-masing sumur dan campurkan dengan baik. Perlahan-lahan akan keluar warna kuning pada sumur kontrol positif dan pada sampel dengan HBsAg positif. Biarkan 5 menit
- ✦ Siapkan *plate-reader*, kalibrasi *plate-reader* dengan sumur kosong, dan baca *absorbance* pada 450 nm. Kalkulasikan *cut off value* dan evaluasi hasilnya

## Lampiran 3

**Prosedur Ekstraksi DNA dari Serum dengan Spin Collum QIAamp kit (QIAGEN)**

*Centrifuge* dengan 8000rpm selama 1 menit



Buang *collum*, DNA sudah tertampung di dalam tabung 1,5ml



Apabila DNA disimpan, simpan pada suhu -20° C



**Lampiran 4****PENJELASAN DAN FORM PERSETUJUAN PENELITIAN****Analisis Molekuler Virus Hepatitis B pada Calon dan Tenaga Kerja Indonesia****(TKI) Asal Pulau Lombok Nusa Tenggara Barat dengan HbsAg Positif**

Virus hepatitis B seperti telah diketahui dapat menjadi penyakit persisten kronis yang sering menimbulkan terjadinya hepatitis kronis dan yang lebih buruk lagi menjadi sirosis hepatis dan karsinoma hepatoseluler. Sekitar dua miliar orang penduduk dunia telah terinfeksi virus hepatitis B. Sekitar 350 juta orang diantaranya menjadi karier kronik virus hepatitis B. Sekitar seperempat dari karier tersebut berkembang menjadi penyakit hati yang serius seperti hepatitis kronis, sirosis hepatis dan karsinoma hepatoseluler. Penyakit ini telah membunuh sekitar satu juta orang setiap tahunnya.

Pulau Lombok merupakan daerah yang berkembang sangat pesat dengan pertumbuhan demografi, sosial ekonomi maupun dinamika penduduknya. Penduduk di Pulau ini mayoritas bekerja di luar negeri sebagai Tenaga Kerja Indonesia (TKI) di berbagai negara. Keadaan ini dapat memberikan kontribusi terhadap kemungkinan beragamnya genotipe dan subtipe VHB di wilayah tersebut. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis genotipe dan subtipe VHB pada calon dan TKI yang berasal dari Pulau Lombok Nusa Tenggara Barat. Sangat diperlukan data-data dan analisis tentang genotipe dan subtipe VHB tersebut yang terbaru dan lebih representatif.

Pada saat ini anda di minta untuk berpartisipasi dalam penelitian analisis molekuler virus hepatitis B pada TKI dengan tujuan agar apabila terinfeksi VHB dapat diketahui lebih dini serta dapat di analisis genotipe dan subtipe VHB lebih lanjut.

**Gambaran Urnum**

Apabila anda memutuskan untuk ikut serta dalam penelitian ini, maka darah anda akan diambil satu kali sebanyak 5 mililiter dari pembuluh darah balik di lengan tangan kanan atau kiri. Kemudian darah tersebut akan kami bawa ke laboratorium untuk di lakukan pemeriksaan HBsAg dan apabila HBsAg positif, maka akan di periksa lebih lanjut dengan *Polymerase Chain Reaction* dan genotype VHB, sedangkan sisa-nya disimpan di laboratorium hepatitis Lembaga Penyakit Tropis Universitas Airlangga.

Hasil pemeriksaan laboratorium tersebut akan diberikan secara cuma-cuma kepada pasien yang bersangkutan dan anda akan diberitahu hasil pemeriksaan infeksi VHB. Bila anda memenuhi syarat untuk ikut dalam penelitian ini, maka anda tidak perlu

membayar biaya pemeriksaan fisik, laboratorium dan perawatan dari efek samping pengambilan darah.

Selama penelitian ini, dokter akan menjaga kerahasiaan hasil pemeriksaan laboratorium dari pihak yang tidak berkepentingan. Dokter dapat menghentikan keikutsertaan Anda dalam penelitian ini dengan atau tanpa persetujuan anda, jika dokter menganggap bahwa hal ini merupakan yang terbaik bagi anda. Tanggung jawab anda dalam penelitian ini adalah bersedia untuk bekerjasama dalam pengambilan darah.

Pihak peneliti akan menanggung biaya perawatan (tidak termasuk biaya akomodasi dan transportasi) bila pasien mengalami efek samping dari pengambilan darah, yang membutuhkan perawatan menurut penilaian Dokter. Penelitian ini dapat dihentikan kapan saja sesuai dengan kebijaksanaan Dokter, pihak peneliti, atau Komite Etik Lokal, yang menelaah penelitian ini demi hak-hak dan keselamatan pasien

#### Manfaat dan Resiko

Pada semua penelitian mungkin mempunyai resiko. Resiko dalam penelitian ini adalah hematoma (memar pada kulit akibat pembekuan darah di bawah kulit) akibat pengambilan darah. Apabila terjadi hematoma maka partisipan akan di beri obat salep trombophob® dan akan peneliti monitor sampai luka hematoma di nyatakan oleh dokter tidak mempunyai resiko berbahaya

#### Manfaat-manfaat yang anda akan peroleh dari penelitian ini adalah :

1. Anda mendapat pemeriksaan HBsAg secara cuma-cuma. Apabila anda terdeteksi sejak dini adanya infeksi VHB maka anda dapat segera menentukan langkah selanjutnya untuk segera berobat (peneliti tidak memberikan biaya pengobatan, akomodasi, dan transportasi apabila terinfeksi VHB)
2. Apabila anda terinfeksi VHB maka peneliti dapat mengusahakan surat rujukan ke dokter yang di kehendaki pasien (peneliti tidak memberikan biaya pengobatan, akomodasi, dan transportasi apabila terinfeksi VHB)
3. Dengan mengikuti penelitian ini, anda telah membantu penelitian yang dapat memberikan manfaat besar dalam upaya pengembangan strategi pencegahan dan upaya penyelamatan yang sesuai untuk calon dan TKI yang terinfeksi virus hepatitis B.

Keikutsertaan anda dalam penelitian ini bersifat sukarela, tanpa paksaan. Apabila anda menolak ikut serta, maka hal ini tidak akan mengurangi kualitas pelayanan kesehatan yang sedang diberikan kepada anda. Anda mengerti bahwa anda akan diberitahu hasil screening deteksi infeksi VHB Anda dalam penelitian ini

**FORM PERSETUJUAN**

- ✓ Dengan ini, saya menyatakan bahwa telah membaca lembar informasi penelitian dan diberi penjelasan oleh peneliti.
- ✓ Saya telah mendapat cukup Informasi mengenai pemeriksaan dan penelitian yang akan diiakukan mencakup tujuan, manfaat, prosedur pemeriksaan dan penelitian yang akan dilakukan dan kemungkinan efek samping
- ✓ Saya setuju untuk ikut serta dalam pemeriksaan dan penelitian ini
- ✓ Saya tahu bahwa data pemeriksaan dan penelitian akan dirahasiakan oleh peneliti
- ✓ Saya bersedia semua data yang didapatkan akan dikumpulkan dan diproses sesuai prosedur penelitian dan saya berhak mengetahui dan mendapatkan arsip saya setiap saat kepada peneliti
- ✓ Saya tidak berkeberatan apabila hasil pemeriksaan tersebut menjadi milik Institute Tropical Disease Universitas Airlangga Surabaya untuk dapat dilakukan penelitian selanjutnya

Mataram, .....  
Responden

Petugas Pemeriksa

(.....)  
Nama Terang

(.....)

Peneliti  
dr. Eva Triani  
Tropical Disease Centre UNAIR  
Surabaya  
HP: 081237352335

Lampiran 5

**IDENTITAS RESPONDEN**

No Sample : .....

Tgl Pengambilan Spesimen : .....

Tempat Pengambilan spesimn: .....

Nama Responden : .....

Alamat : ..... HP: .....

Jenis Kelamin :  Laki-laki  Perempuan

Tempat, tgl lahir / umur : .....

Suku : .....

Agama : .....

Status :  Calon TKI  TKI

Negara Tujuan Bekerja : .....

Pekerjaan Sebelumnya : .....

Status Pernikahan : Menikah / Belum menikah / Janda / Duda

Jumlah Pernikahan :  1 kali  Lebih dari 1 kali, sebutkan .....

Usia Pertama kali menikah : .....th

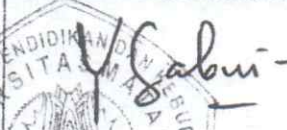
Pekerjaan suami/ Istri : .....

**KUISIONER UNTUK TKI**

1. Apakah anda seorang TKI ?  
 TKI  Calon TKI
2. Jika anda seorang TKI, berapa kali anda bekerja ke luar negeri?  
 1x  2x  3x  Lebih 3x, sebutkan.....
3. Kemana saja negara tujuan anda bekerja?  
 .....
4. Negara mana yang terakhir kali anda bekerja?.....
5. Pekerjaan anda di negara Tujuan .....
6. Berapa usia pertama kali anda berangkat sebagai TKI ? .....th



## Formulir Keputusan Panitia Etik

<b>Komisi Etik Penelitian Kesehatan Universitas Mataram</b>	<b>Keputusan Penelaahan</b>	<b>No: 61/UN18.8/ETIK/2013</b>
<b>Judul Penelitian:</b> Analisis Molekuler Virus Hepatitis B pada Calon dan Tenaga Kerja Indonesia (TKI) Asal Pulau Lombok Nusa Tenggara Barat dengan HBsAg Positif		
<b>Peneliti Utama:</b> Eva Triani		
<b>Peneliti:</b>		
<b>Tanggal Penelitian:</b>		
<b>Kesimpulan:</b> <input checked="" type="checkbox"/> Disetujui <input type="checkbox"/> Ditolak <input type="checkbox"/> Perlu diperbaiki <input type="checkbox"/> Belum dapat dibahas		
<b>Butir alasan, perbaikan/perubahan/keterangan tambahan yang diperlukan:</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Penelitian dapat dilaksanakan, tidak ada potensi pelanggaran etika.</li> <li>- Mohon dalam <i>informed consent</i> ditambahkan nomor kontak peneliti.</li> </ul>		
<b>Ketua Panitia Komisi Etik Penelitian Kesehatan Universitas Mataram</b>	<b>Tanggal</b>	
 dr. Yunita Sabrina, M.Sc., PhD	10 Juni 2013	

**Catatan :**FAKULTAS  
KEDOKTERAN

1. Mohon menyerahkan hasil penelitian selambat – lambatnya 1 (satu) bulan setelah selesai penelitian kepada Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Unram, sebagai bahan evaluasi.
2. Apabila pelaksanaan penelitian tidak sesuai dengan usulan kegiatan, Komisi Etik tidak bertanggung jawab terhadap kelayakan etik penelitian tersebut.
3. Apabila ada perubahan prosedur/kegiatan penelitian, mohon agar mengusulkan kembali proposal kelayakan etik.

Perihal : Ijin Penelitian di Laboratorium Hepatika

Mataram, 2 Juni 2013

Kepada Yth.  
Dekan Fakultas Kedokteran  
Universitas Airlangga

Berdasarkan surat Saudara no. 210 / UN3.1.1/PPd.S2 /2013 tertanggal 20 Mei 2013 perihal permohonan ijin melakukan penelitian untuk penyusunan thesis mahasiswa Program Studi Magister Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga atas nama *Eva Triani, dr* di Yayasan Hati Nusa Tenggara, pada prinsipnya kami menyambut baik dan tidak keberatan dengan permohonan tersebut. Kegiatan penelitian dapat dilakukan di Laboratorium Hepatika Mataram.

Demikian kami sampaikan. Atas perhatian dan kerjasamanya kami ucapkan terima kasih.



Prof. Dr. dr. Mulyanto

NIP. 19480520 197602 1 001



UNIVERSITAS AIRLANGGA  
LEMBAGA PENYAKIT TROPIS

Kampus C, Mulyorejo Surabaya, 60115 Telp. 62-31-5992445-46; Fax. 62-31-5992445  
Website: [www.itd.unair.ac.id](http://www.itd.unair.ac.id) Email: [sekretariat@itd.unair.ac.id](mailto:sekretariat@itd.unair.ac.id)

**SURAT KETERANGAN**

No. 702 / UN3.15/TU/2013

Yang bertanda tangan di bawah ini saya :

Nama : Prof.Dr. Nasronudin, dr., Sp.PD, K-PTI, FINASIM  
NIP. : 19561103 198403 1 001  
Pangkat / Gol : Pembina Utama Madya / IVd  
Jabatan : Ketua Lembaga Penyakit Tropis Universitas Airlangga

menerangkan bahwa mahasiswa Program Studi Magister Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga tersebut di bawah ini :

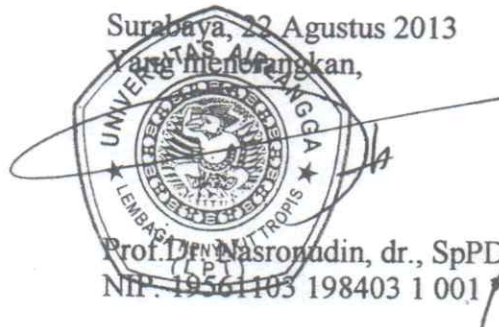
Nama : Eva Triani  
NIM : 011142004  
Program Studi : Ilmu Kedokteran Tropis Minat Studi Kedokteran Tropis Klinis  
Judul Penelitian : Analisis Molekuler Virus Hepatitis B pada Calon dan Tenaga Kerja Indonesia (TKI) asal Pulau Lombok Nusa Tenggara Barat dengan HbsAg Positif

telah menggunakan fasilitas laboratorium Lembaga Penyakit Tropis Universitas Airlangga mulai tanggal 24 Juli s/d 22 Agustus 2013 dalam rangka kegiatan penelitian tesis sesuai judul tersebut di atas.

Demikian surat keterangan ini kami buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Surabaya, 22 Agustus 2013

Yang menerangkan,



Prof. Dr. Nasronudin, dr., SpPD, K-PTI, FINASIM  
NIP. 19561103 198403 1 001

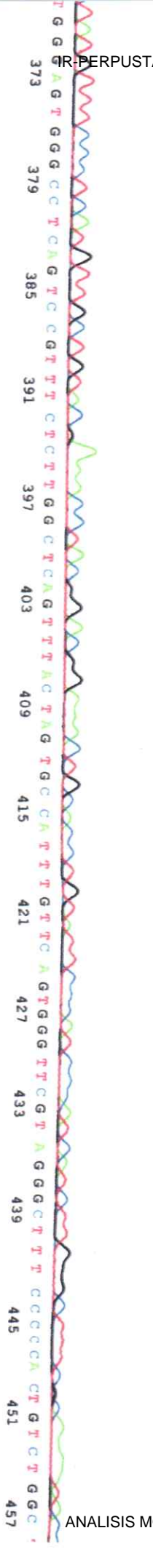
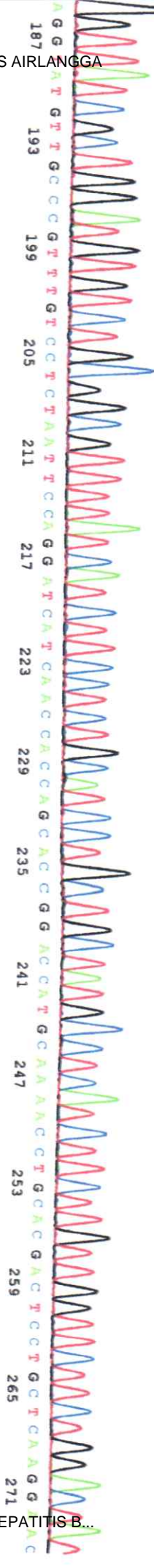
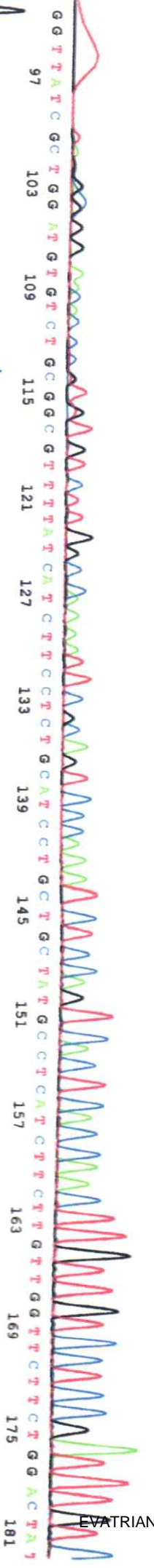
## Lampiran 6

Kode asam amino (IUPAC-IUB Joint Commission on Biochemical Nomenclature, 1984)

<b>Nama Asam Amino</b>	<b>Singkatan</b>	<b>Singkatan 1 Huruf</b>
<i>Alanine</i>	ALA	A
<i>Cysteine</i>	CYS	C
<i>Aspartic Acid</i>	ASP	D
<i>Glutamic Acid</i>	GLU	E
<i>Phenylalanine</i>	PHE	F
<i>Glycine</i>	GLY	G
<i>Histidine</i>	HIS	H
<i>Isoleucine</i>	ILE	I
<i>Lysine</i>	LYS	K
<i>Leucine</i>	LEU	L
<i>Methionine</i>	MET	M
<i>Asparagine</i>	ASN	N
<i>Proline</i>	PRO	P
<i>Glutamine</i>	GLN	Q
<i>Arginine</i>	ARG	R
<i>Serine</i>	SER	S
<i>Threonine</i>	THR	T
<i>Valine</i>	VAL	V
<i>Tryptophan</i>	TRP	W
<i>Tyrosine</i>	TYR	Y



7 13 19 25 31 37 43 49 55 61 67 73 79 85  
A T T C A T A G G G G G A A C A C C C G T G T G T C T T G G C C A A A T T C G C A G T C C C A A A T C T C C A G T C A C T C A C C A A C T T G T G T C C T C G A T T T G T C



PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA