

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Hepatitis

Hepatitis merupakan penyakit yang disebabkan oleh virus, memiliki hubungan yang sangat erat dengan gangguan fungsi hati, dapat juga digunakan sebagai tes screening peradangan pada hati (liver), berlanjut pada sirosis hati dan rusaknya fungsi hati. Penularan hepatitis dapat melalui kontak darah atau mukosa penderita, berhubungan seksual, bergantian pemakaian jarum suntik atau makanan minuman yang terkontaminasi virus hepatitis. (Kemenkes. 2012)

2.2. Hepatitis B

Hepatitis B merupakan penyakit hati yang penyebab utamanya adalah “Virus Hepatitis B” (VHB), suatu anggota famili Hepadnavirus yang dapat menyebabkan peradangan hati akut atau menahun pada sebagian kecil kasus dapat berlanjut menjadi sirosis hati atau kanker. Infeksi VHB merupakan suatu proses dinamis dengan interaksi virus, hepatosit dan sistem imun manusia. Keracunan obat, dan paparan berbagai macam zat kimia seperti karbon *tetraklorida*, *chlorpromazine*, *chloroform*, *arsen*, *fosfor*, dan zat-zat lain yang digunakan sebagai obat dalam industri modern, bisa juga menyebabkan Hepatitis dengan cara tertelan, terhirup atau diserap melalui mukosa kulit. (Sulaiman A, 2012)

2.2.1. Infeksi Hepatitis B

VHB terdiri dari partikel berbentuk tubular dan bulat terdiri dari *Hepatitis B Surface Antigen* (HBsAg) dinding terluar, *Hepatitis B Envelope Antigen* (HBeAg) simpul yang tersusun atas lipid, protein, dan karbohidrat yang mengelilingi asam nukleat menutupi kapsid, *Hepatitis core antigen* (HBcAg) sebagai inti atau kapsid yang berisi *partially double stranded DNA* dan *DNA polymerase* (DNA-p). (Miyakawa dan Mayumi, 2007)

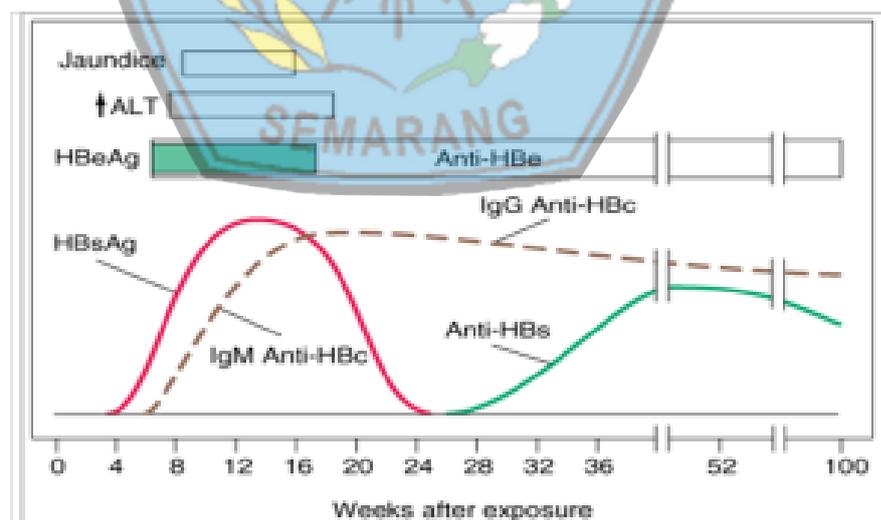
Terkadang, HBV memilih “bersembunyi” di dalam hati (lever) dan sel-sel lain dan tidak memproduksi virus-virus baru yang bisa menginfeksi orang lain, atau memproduksi dalam jumlah yang kecil sedemikian hingga tidak bisa ditemukan di dalam darah. Orang-orang dengan kondisi seperti ini disebut sebagai karier (*carriers*). Pada kasus yang lain, virus di dalam tubuh terus menerus bereplikasi yang dapat selanjutnya menginfeksi hati dan menular pada orang lain. Pada kedua kasus ini, HbsAg akan tetap positif. Tes berikutnya dapat membantu membedakan antara kedua kondisi tersebut.

Petanda serologi pertama yang muncul di dalam serum, mulai terdeteksi antara 1 sampai 12 minggu pasca infeksi, mendahului munculnya gejala klinis serta meningkatnya SGPT. (Naga, SS. 2012) Selanjutnya HBsAg merupakan satu-satunya petanda serologi selama 3 – 5 minggu. Pada kasus sembuh, akan hilang antara 3 sampai 6 bulan pasca infeksi sedangkan pada kasus kronis akan tetap terdeteksi sampai lebih dari 6 bulan. Selain merupakan selubung luar

partikel Dane, HBsAg juga merupakan selubung partikel bulat dan partikel tubuler yang masing-masing tidak mengandung protein core serta HBV DNA.

Pemeriksaan HBsAg berguna untuk keperluan klinis maupun epidemiologik. skrining darah di unit-unit transfusi darah, serta digunakan pada evaluasi terapi hepatitis B kronis. Metode pemeriksaannya dapat dilakukan secara kualitatif (Rapid Test) dan kuantitatif (ELISA), metode kuantitatif berguna untuk mengukur titer kadar HBsAg, mengetahui perjalanan penyakit dan mengidentifikasi jenis keparahannya. (Miyakawa dan Mayumi, 2007)

Diagnosis hepatitis B dikerjakan dengan melakukan tes terhadap beberapa marker serologis dari virus hepatitis B dan dengan menambahkan tes tambahan untuk menyingkirkan penyebab lain seperti virus hepatitis A dan C. Sedangkan untuk penyaring, cukup dilakukan pemeriksaan HBsAg dan Anti HBs.



Gambar 1. Skema marker serologi hepatitis B (Fauci et al, 2008)

2.2.2. Gejala Hepatitis B

Gejala hepatitis B bervariasi dari tanpa adanya gejala sampai gejala yang berat seperti muntah darah dan koma. Hepatitis B akut gejalanya cukup ringan seperti influenza, demam ringan, mual, lemas, hilang nafsu makan, maag menjadi kuning, kencing berwarna gelap, diare dan nyeri otot. Apabila kuning bertambah, dapat terjadi gatal dan tinja berwarna pucat. Bila menjadi kronik akan didapat gejala perut membesar, edema tungkai, rambut rontok, kolateral, spider nevi, eritema palmar, splenomegali, asites, hemoroid dan jari tabuh.

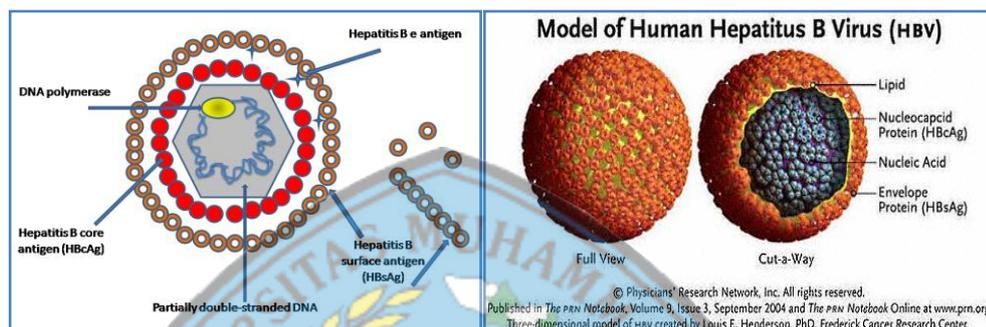
Infeksi kronik ditandai dengan persistensi HBsAg dan anti-HBs serum DNA/HBV dapat terdeteksi lebih dari 6 bulan. Hepatitis B kronik beberapa macam fase, yaitu fase imunotoleran HBsAg dan HBeAg terdeteksi dalam serum, tingginya titer DNA VHB, ALT normal (gejala bisa timbul dan terjadi peningkatan aminotransferase) dan fase nonreplikatif ditemukan DNA VHB titer rendah rendah, anti-HBe positif, HBsAg tidak terdeteksi lagi. Dua jenis Hepatitis B kronik, yaitu hepatitis B kronik dengan HBeAg positif dan hepatitis B kronik dengan HBeAg negative (dipengaruhi adanya mutasi virus dan respon imun tubuh), dapat dideteksi setelah 10-20 tahun. (Sulaiman A, 2012)

2.2.3. Penularan Hepatitis B

Cara utama penularan VHB adalah melalui parenteral dan menembus membrane mukosa, terutama berhubungan seksual (Price & Wilson, 2012). Dapat melalui cairan tubuh seperti saliva, air mata, cairan seminal, cairan

serebrospinal, asites, dan air susu ibu dengan konsentrasi tertinggi pada serum (Kemenkes. 2012)

2.3. Virus Hepatitis B (VHB)



Gambar 2. Virus Hepatitis B (Sumber:Hunt, 2011)

Virus Hepatitis B adalah virus (*DeoxyriboNucleic Acid*) DNA terkecil berasal dari *genus Ortho hepadna virus family Hepadna viridae* berdiameter 40-42 nm (Hardjoeno, 2007). Masa inkubasi berkisar antara 15-180 hari dengan rata-rata 60-90 hari (Sudoyo et al, 2009).

2.3.2. Bahan Penyusun Virus Hepatitis B

Bagian luar dari virus ini adalah protein *envelop elipoprotein*, sedangkan bagian dalam berupa *nukleokapsid* atau *core* (Hardjoeno, 2007). 11 Genom VHB merupakan molekul DNA sirkular untai-ganda parsial dengan 3200 nukleotida (Kumaret al, 2012). Genom berbentuk sirkuler dan memiliki empat *Open Reading Frame* (ORF) yang saling tumpang tindih secara parsial protein envelope yang dikenal sebagai selubung HBsAg seperti *large HBs*

(LHBs), medium HBs (MHBs), dan *small HBs* (SHBs) disebut gen S, yang merupakan target utama respon imun *host*, dengan lokasi utama pada asam amino 100-160 (Bertoletti. A, 2013.). HBsAg dapat mengandung satu dari sejumlah sub tipe antigen spesifik, disebut d atau y, w atau r. Sub tipe HBsAg menyediakan penanda epidemiologik tambahan yang mengkode protein inti (HBcAg) dan HBeAg, gen P yang mengkode enzim polimerase yang untuk replikasi virus, dan terakhir gen X yang mengkode protein X (HBx), yang memodulasi *siny sel* host secara langsung dan tidak langsung mempengaruhi ekspresi gen virus ataupun host, dan belakangan ini diketahui berkaitan dengan terjadinya kanker hati. (Busca. A, 2014)

2.4. Proses Infeksi Virus Hepatitis B

VHB terdiri dari partikel berbentuk tubular dan bulat terdiri dari *Hepatitis B Surface Antigen* (HBsAg) dinding terluar, *Hepatitis B Envelope Antigen* (HBeAg) simpul yang tersusun atas lipid, protein, dan karbohidrat yang mengelilingi asam nukleat menutupi kapsid, *Hepatitis core antigen* (HBcAg) sebagai inti atau kapsid yang berisi *partially double stranded DNA* dan *DNA polymerase (DNA-p)*.

Proses setelah VHB masuk ke tubuh, poly-human serum albumin receptor (PAR) yang terdapat pada permukaan HBsAg akan mengikat *poly-human serum albumin* (poly HAS) yang dibuat oleh hepatosit, proses selanjtnya masuk ke dalam sitosol, protein yang akan dipecah, diikat dan diangkut oleh *reticulum endoplasma* ke permukaan hepatosit. Darah membawa dan menterjemahkan

ikatah tersebut pada serum sehingga keberadaan antigen (protein hasil terjemahan VHB dianggap sebagai zat asing) terhadap Hepatitis B dapat terdeteksi. (Miyakawa dan Mayumi, 2007)

Tahapan-tahapan infeksi VHB yaitu dengan proses adhesi melalui permukaan terluar virus yang disebut *Surface Antigen*, kemudian penetrasi masuk ke dalam tubuh hospes, mengalami *uncoupling* melepaskan selaput pembungkus protein sehingga DNA dan RNA virus masuk dan menginfeksi sel host menimbulkan proses polimerasi menghasilkan mRNA yang ditranslasikan menjadi protein virus yaitu bahan yang menjadi kebutuhan virus. Protein disintesis dengan membuat kapsul baru yang terisi DNA virus sehingga siap menginfeksi sel lainnya.

2.5. Pemeriksaan Hepatitis B

Pada infeksi VHB, HBsAg merupakan petanda serologi pertama yang muncul di dalam serum, Metode pemeriksaannya dapat dilakukan secara kualitatif salah satunya dengan *Rapid Test* dan kuantitatif misalnya dengan cara ELISA, metode kuantitatif berguna untuk mengukur titer kadar HBsAg juga dapat mengetahui perjalanan penyakit dan mengidentifikasi jenis keparahannya.

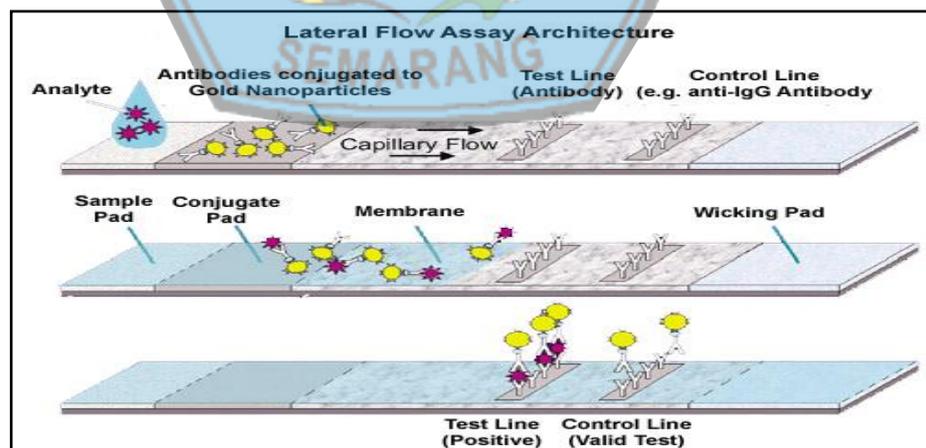
2.6. Metode Pemeriksaan Hepatitis B

Pemeriksaan imunologi sangat erat kaitannya dengan reaksi antara antigen dan antibodi. Secara kualitatif hanya mengetahui ada tidaknya antigen yang terdeteksi pada sampel, sedangkan secara kuantitatif untuk mengukur kadar

antigen dengan suatu indikator yang dilekatkan pada antigen atau antibodi spesifik (*labelling*). Tergantung pada molekul indikator yang digunakan, misalnya dengan *radioimmunoassay* (RIA) bila indikator yang digunakan adalah radioisotop dan *enzyme linked immunoabsorbent assay* (ELISA) bila indikator yang digunakan adalah enzim. Metode yang lebih sederhana misalnya *immunopresipitasi* dan aglutinasi. (Kresno, SB. 2007)

2.6.1. Rapid Test

Rapid test merupakan uji kromatografi immunoassay dengan menggunakan metode “*direct sandwich*”. Prinsip dasar rapid test adalah pengikatan antigen oleh antibodi monoklonal yang spesifik. Salah satu jenis rapid tes yang banyak digunakan adalah alat diagnostik berupa stik uji untuk mendeteksi keberadaan antigen atau pun antibodi dalam sampel berupa darah, plasma atau serum.



Gambar 3. Prinsip *Immunocromatography* (F. Peng. 2008)

Secara umum metode Imunokromatografi untuk mendeteksi sebuah spesimen dengan menggunakan dua antibodi. Antibodi pertama berada dalam larutan uji atau sebagian terdapat pada membran berpori dari alat uji. Antibodi ini dilabeli dengan lateks partikel atau partikel koloid emas (antibodi berlabel). Keberadaan antigen akan dikenali oleh antibodi berlabel dengan membentuk ikatan antigen-antibodi. Kompleks ikatan ini kemudian akan mengalir karena adanya kapilaritas menuju penyerap, yang terbuat dari kertas penyaring. Selama aliran, kompleks ini akan dideteksi dan diikat oleh antibodi kedua yang terdapat pada membran berpori, sehingga terdapat kompleks pada daerah deteksi pada membran yang menunjukkan hasil uji.

Prinsip dasarnya adalah adanya pengikatan antara antigen (HBsAg) dengan antibody (anti-HBs) pada daerah *test line*, selanjutnya antibodi akan berikatan dengan *colloidal gold-labeled conjugate*. Kompleks yang terbentuk akan bergerak pada membran nitroselulosa. Tes kualitatif imunologi secara aliran lateral untuk mendeteksi HbsAg pada serum atau plasma. Membran dilapisi dengan anti antibodi berlabel di garis tes. Selama tes berlangsung spesimen serum atau plasma bereaksi dengan partikel yang dilapisi dengan anti-HBsAg antibodi monoklonal. Campuran tersebut akan bergerak sepanjang membran secara kapilaritas menghasilkan garis berwarna. Munculnya garis berwarna pada garis tes mengindikasikan hasil positif dan jika tidak ada garis berwarna pada garis tes menandakan hasil negatif. Sebagai prosedur kontrol, garis berwarna harus selalu muncul pada garis kontrol yang menandakan volume sampel cukup dan telah mengisi membran. (Peng. F, 2008)

Kelebihan metode ini adalah waktu yang diperlukan untuk pengujian relatif singkat sekitar 2-10 menit dan hasil uji dapat dilihat secara langsung. Pengujian dengan metode ini juga dapat dilakukan oleh setiap orang karena tidak memerlukan ketrampilan khusus seperti halnya dalam uji ELISA. Selain itu, metode ini dapat dijadikan sebagai pemeriksaan awal (*screening test*) untuk uji kualitatif dan dapat dikerjakan langsung di lapangan karena merupakan alat uji yang sederhana. (Fuadzy dan Santi, 2013)

Kelemahannya kurang spesifik dalam menangkap satu jenis antigen HBsAg, karena antibodi yang ditanam pada membran tes adalah antibodi *monoclonal* dengan prinsip direct dimana sehingga begitu terdeteksi adanya antigen maka akan langsung berikatan dengan antibodi berlabel dan keluar sebagai hasil warna. Hasil dilihat dari tingkat kepekatan warna yang dihasilkan dari daya kapilaritas membran. *Strip test* dapat mengetahui kadar HBsAg secara kualitatif berdasarkan nilai *cut off* pada kit. Dimana jika warna yang terbentuk samar-samar atau merah muda maka kadar HBsAg sampel kurang dari nilai *cut off*, namun jika warna yang terbentuk adalah merah pekat maka kadar HBsAg sampel sama atau diatas nilai *cut off*.

2.6.2. ELISA

ELISA (Enzyme Immunoassay) merupakan salah satu indikator untuk mendeteksi respon imun tingkat primer dimana pertama kalinya antigen bertemu dengan antibodi dalam bentuk enzim diukur melalui absorbansi warna pada alat

ELISA reader. Teknik ini bertujuan untuk menentukan kadar antigen ataupun antibody dengan bantuan enzim yang dilekati antigen atau antibodi.

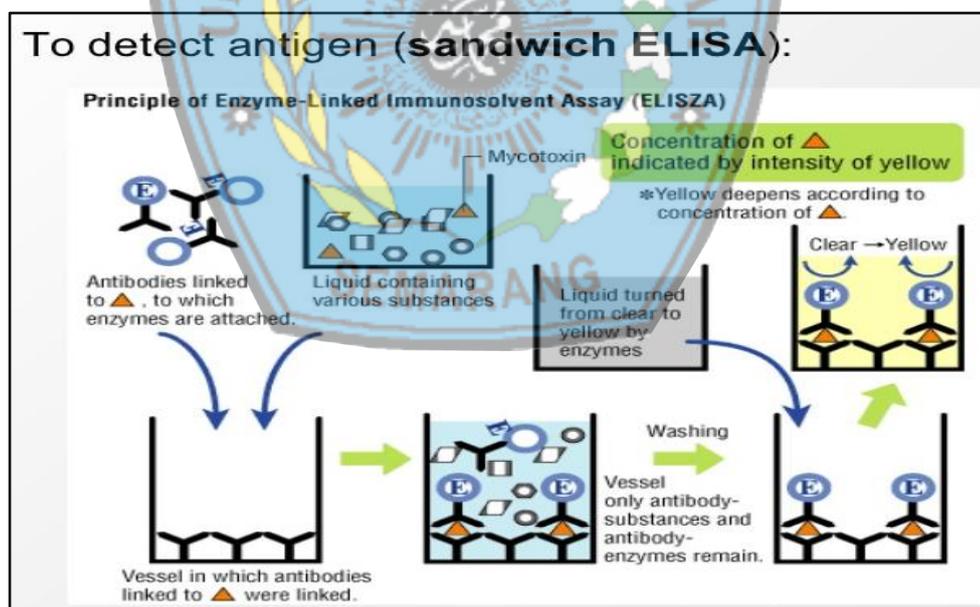


Gambar 4.Alat *ELISA reader* (GenScript. 2010)

Prinsip ELISA adalah HBsAg yang terdapat dalam serum atau plasma diikat oleh *antibody anti-HBs* yang dilapiskan pada sumuran *well*, bagian yang tidak terikat akan dibuang, dicuci dan ditambahkan konjugat yaitu *antibody anti-HBs* berlabel enzim yang akan terikat pada epitop kedua dari HBsAg dalam serum. Bagian yang tidak terikat kembali dibuang dan dicuci lalu ditambahkan substrat berkromogen yang akan dikatalisasi oleh enzim membentuk suatu warna tertentu yang reaksinya akan dihentikan dengan penambahan *stop solution*. Pada ELISA reader warna yang terbentuk akan difotokopi dan ditransver pada suatu lempengan magnetik sebagai penyaji data dalam bentuk absorbansi warna yang berbanding lurus dengan kadar HBsAg dalam sampel. (Miyakawa dan Mayumi, 2007) Hidrolisis oleh enzim berlangsung dalam waktu tertentu, reaksi berhenti jika ditambahkan asam atau basa kuat, pemeriksaan harus berlangsung dalam keadaan

optimal dimana kadar reaktan, temperature, masa inkubasi yang telah ditentukan secara eksperimental dimasing-masing jenis reagenya. (Kresno, SB. 2007)

Metode ELISA terdiri dari metode Kompetitif, Non kompetitif (*direct, indirect, sandwich*). Kompetitif dapat digunakan untuk mengukur absorbansi lebih dari satu parameter berarti ada lebih dari satu jenis antigen atau antibodi yang dilekatkan pada *well*, metode *direct* menggunakan antibodi primer yang langsung berikatan dengan substrat berwarna, sedangkan metode *sandwich* menggunakan antibodi primer dan satu jenis antibodi sekunder yang berlabel enzim untuk bereaksi dengan substrat berwarna. Metode *sandwich* menggunakan antibodi primer dan beberapa antibodi sekunder yang saling berikatan yang kemudian dilapisi dengan enzim berlabel warna.



Gambar 5. Metode ELISA (Microbeonline. 2015)

Ada beberapa hal yang dapat mempengaruhi pembacaan hasil dengan metode ELISA, diantaranya yaitu dari sampel yang digunakan harus benar-benar

serum murni, sampel lisis ataupun lipemik dapat mempengaruhi hasil, ketepatan dalam pipetkan, perlakuan terhadap well yang akan digunakan (kotor, tersentuh atau tergores bagian dalamnya secara tidak sengaja), pelabelan supaya sampel tidak tertukar dalam pembacaan hasil absorbansi, suhu, waktu inkubasi ataupun cara *setting* program pada *ELISA reader*.

Pembacaan hasil ELISA dapat dibaca secara kualitatif maupun kuantitatif, tergantung dari prosedur yang digunakan. Pemeriksaan HBsAg biasanya menggunakan sajian data secara kualitatif jarang sekali menggunakan kuantitatif, karena jika HBsAg nya sudah menunjukkan hasil positif maka pemeriksaan akan dilanjutkan pada pemeriksaan HBcAg atau HBeAg untuk mendiagnosa perjalanan virus hepatitis. Pembacaan kualitatif ditentukan berdasarkan nilai *cut off*, jika hasil absorbansi kurang dari nilai *cut off* maka dinyatakan negatif. Begitu pula jika hasil absorbansi lebih dari nilai *cut off* maka dianggap positif, sedangkan nilai *cut off* sendiri sudah ditentukan dalam prosedur kit.

2.7. Pemeriksaan Penunjang Hepatitis B

Ada beberapa tes yang bisa digunakan untuk mendeteksi keberadaan antibodi-antibodi hepatitis B. Antibodi-antibodi diproduksi oleh tubuh guna menyediakan perlindungan terhadap antigen-antigen (protein asing). Ada juga beberapa tes yang mendeteksi keberadaan antigen viral.

2.7.1. Anti-HBs (*Hepatitis B surface antibody*)

Mengindikasikan adanya paparan HBV sebelumnya, namun virus tidak lagi ada dan seseorang tidak dapat menularkan virus pada orang lainnya. Antibodi juga melindungi tubuh dari serangan infeksi HBV di kemudian hari. Selain dari paparan langsung terhadap HBV, antibodi-antibodi juga dapat diperoleh dari vaksinasi yang sukses. Hasil positif mengindikasikan imunitas terhadap hepatitis B dari vaksinasi atau pulih dari suatu infeksi.

2.7.2. HBeAg (*Hepatitis B e-antigen*)

Suatu protein viral yang ditemukan di dalam darah ketika virus terdeteksi. Ketika virus “bersembunyi”, maka e-antigen tidak lagi ada di dalam darah. HBeAg sering kali digunakan sebagai penanda (*marker*) kemampuan penyebaran virus ke orang lain (*infectivity*). Pengukuran e-antigen juga berguna dalam menentukan keefektifan terapi HBV, terapi yang sukses biasanya menghilangkan HBeAg dari darah dan mengarah pada pembentukan antibodi-antibodi terhadap e-antigen (anti-HBe).

Hasil positif (reaktif) mengindikasikan adanya virus yang bisa ditularkan pada orang lain. Hasil negatif berarti virus tidak bisa ditularkan pada orang lain, kecuali di belahan dunia di mana strain virus tidak memproduksi protein e-antigen adalah hal yang umum.

2.7.3. HBV DNA

Lebih sensitif dibandingkan dengan HBeAg untuk mendeteksi virus di dalam aliran darah, biasa digunakan sebagai pemantauan terapi antiviral pada pasien dengan infeksi HBV kronis.

Hasil positif atau reaktif mengindikasikan adanya virus yang mampu menyebar pada orang lain. Hasil negatif menunjukkan biasanya virus tidak dapat menyebar ke orang lain, terutama jika tes dapat mengambil sedikitnya 200 virus (cetakan) dalam satu mL darah yang digunakan.

2.7.4. Anti-HBc (*anti-Hepatitis B core antigen*)

Antibodi ditemukan dalam partikel virus namun menghilang lebih awal pada perjalanan infeksi. Antibodi ini diproduksi selama dan sesudah suatu infeksi HBV akut dan biasanya ditemukan pada karier HBV kronis sebagaimana juga pada mereka yang sudah menghilangkan virus dari tubuh, dan biasanya bertahan seumur hidup. Tes anti-HBc yang spesifik untuk antibodi IgM, anti-HBc, IgM, mengindikasikan infeksi akut, atau pengukuran antibodi total, anti-HBc, yang mengindikasikan infeksi di masa lalu baik akut maupun kronis.

Jika ada anti-HBs positif, biasanya menandakan pemulihan dari suatu infeksi dan orang tersebut bukanlah karier atau terinfeksi secara kronis. Pada infeksi akut, tipe pertama antibodi HBc yang pertama muncul adalah suatu antibodi IgM. Menguji antibodi ini dapat membuktikan apakah seseorang telah

baru-baru ini terinfeksi oleh HBV (di mana anti-HBc, IgM akan positif), atau sudah beberapa lama (dimana ada anti-HBc, namun IgM akan negatif).

2.8. Uji Sensitivitas dan Spesifitas

2.8.1. Sensitivitas

Sensitivitas mengukur seberapa baik sebuah tes skrining atau penapisan dengan mengklasifikasikan orang yang benar-benar sakit. Sensitivitas digambarkan sebagai presentase orang dengan hasil tes positif teridentifikasi ada penyakit dibandingkan dengan gold standar, proporsi subjek yang positif menurut gold standar yang diidentifikasi sebagai positif oleh alat ukur.

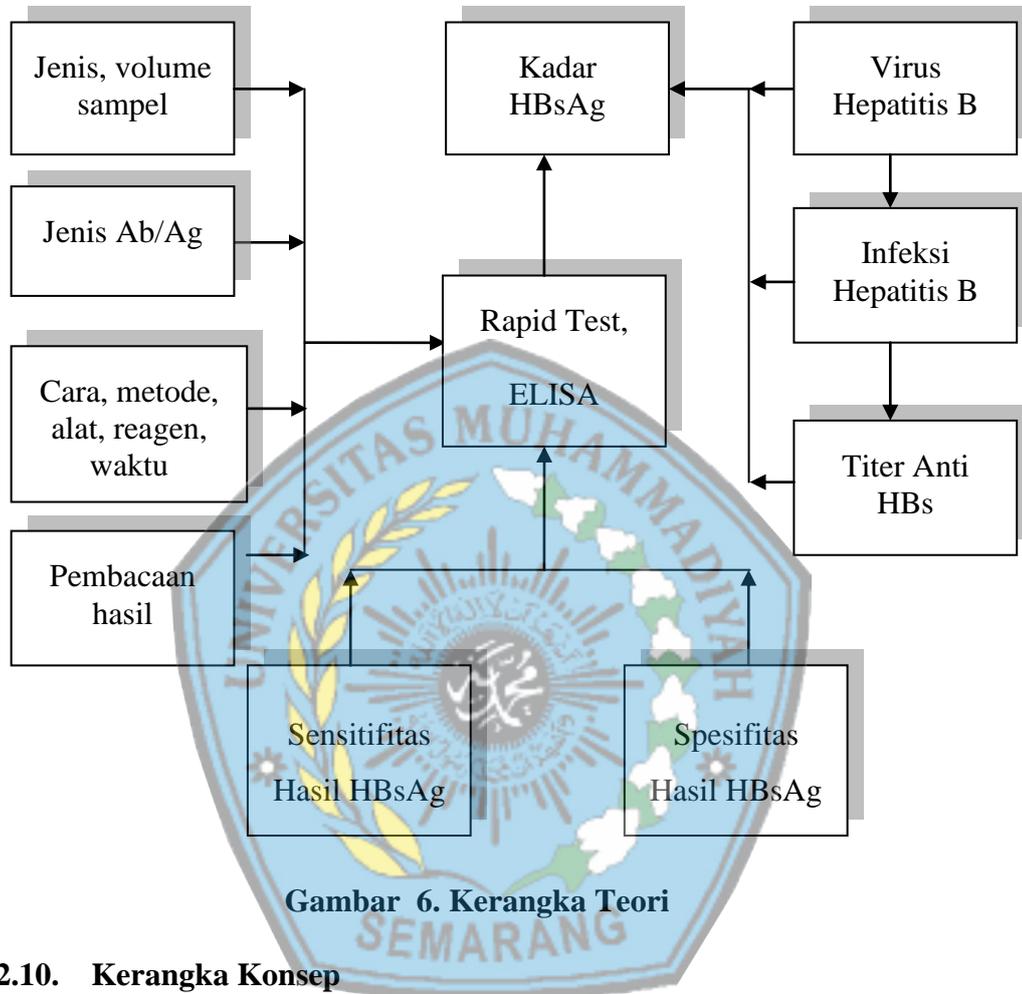
Nilai prediktif positif (sensitivitas) adalah proporsi pasien yang benar-benar positif (*true positif*) di antara keseluruhan penderita yang menunjukkan hasil tes konfirmasi positif jika dibandingkan dengan pemeriksaan *gold standart*, dengan rumus : $a / (a+b)$ (Azwar, A. 2002)

2.8.2. Spesifitas

Spesifitas merupakan ukuran mengklarifikasikan orang yang benar-benar tidak sakit didapatkan dari prosentase perbandingan tes negatif dengan *gold standart*.

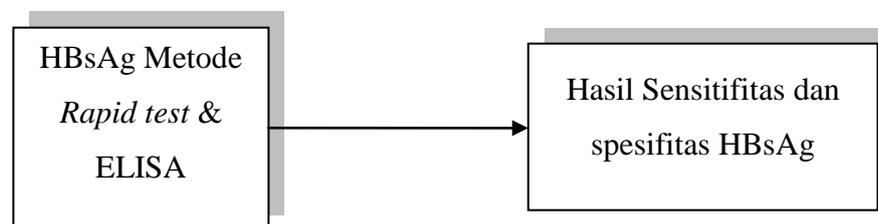
Nilai prediktif negative (spesifitas) merupakan proporsi pasien yang benar-benar negatif (*true negatif*) di antara keseluruhan penderita yang menunjukkan hasil tes konfirmasi negatif jika dibandingkan dengan pemeriksaan *gold standart*, dengan rumus : $d / (c+d)$ (Azwar, A. 2008)

2.9. Kerangka Teori



Gambar 6. Kerangka Teori

2.10. Kerangka Konsep



Gambar 7. Kerangka Konsep

2.11. Hipotesis

Tidak ada perbedaan hasil sensitivitas dan spesifitas HBsAg metode *Rapid Test* dan ELISA

