

BAB II

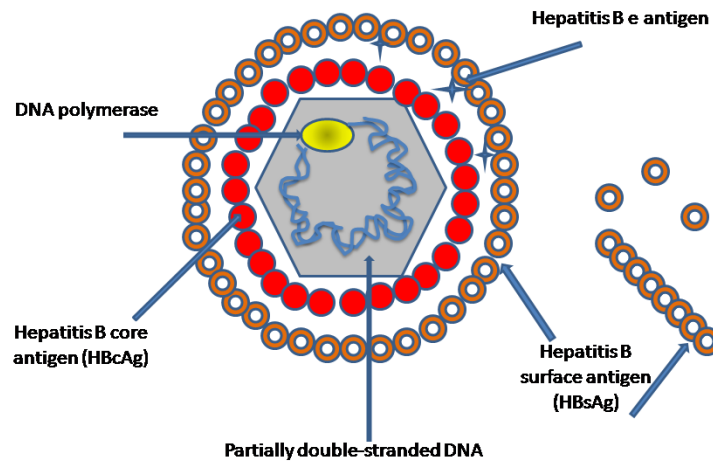
TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Hepatitis B

Virus hepatitis B (HBV) adalah virus DNA, suatu prototip virus yang termasuk keluarga *Hepadnaviridae* (Boedina, 2013). Hepatitis B menyerang semua umur, gender, dan ras di seluruh dunia (Widoyono, 2011). Hepatitis B dapat menyebabkan peradangan hati akut atau kronis yang dapat berlanjut menjadi sirosis hati atau kanker hati (Mustofa & Kurniawaty, 2013).

2.1.1 Etiologi Hepatitis B

Penyakit ini disebabkan oleh virus hepatitis B (HBV) yang berukuran sekitar 42 nm. Virus ini mempunyai lapisan luar (selaput) yang berfungsi sebagai antigen HBsAg. Virus mempunyai bagian inti dengan partikel inti HBcAg dan HBeAg (Widoyono, 2011). Masa inkubasi berkisar antara 15-180 hari dengan rata-rata 60-90 hari (Sudoyo *et al*, 2009). Perubahan dalam tubuh penderita akibat infeksi virus Hepatitis B terus berkembang. Dari infeksi akut berubah menjadi kronis, sesuai dengan umur penderita. Makin tua umur, makin besar kemungkinan menjadi kronis kemudian berlanjut menjadi pengkerutan jaringan hati yang disebut dengan sirosis. Bila umur masih berlanjut keadaan itu akan berubah menjadi karsinoma hepatoseluler (Yatim, 2007).



Gambar 1 : Struktur Virus Hepatitis B (Sumber : Widoyono, 2011).

2.1.2 Penularan Hepatitis B

Penularan secara parenteral terjadi melalui suntikan, tranfusi darah, operasi, tusuk jarum, rajah kulit (tato), dan hubungan seksual, serta melalui transmisi vertikal dari ibu ke anak. Masa inkubasinya sekitar 75 hari (Widoyono, 2011). Penanda HBsAg telah diidentifikasi pada hampir setiap cairan dari orang yang terinfeksi yaitu saliva, air mata, cairan seminal, cairan serebrospinal, asites, dan air susu ibu. Beberapa cairan ini (terutama semen dan salive) telah diketahui infeksius (Thedja, 2012).

Jalur penularan infeksi VHB di Indonesia yang terbanyak adalah secara parenteral yaitu secara vertikal (transmisi) maternal-neonatal atau horizontal (kontak antar individu yang sangat erat dan lama, seksual, iatrogenic, penggunaan jarum suntik). Virus Hepatitis B dapat dideteksi pada semua sekret dan cairan tubuh manusia, dengan konsentrasi tertinggi pada serum (Juffrie *et al*, 2010).

2.1.3 Patofisiologi Hepatitis B

Sel hati manusia merupakan target organ bagi virus Hepatitis B. Virus Hepatitis B mula-mula melekat pada reseptor spesifik di membran sel hepar kemudian mengalami penetrasi ke dalam sitoplasma sel hepar. Virus melepaskan mantelnya di sitoplasma, sehingga melepaskan nukleokapsid. Selanjutnya nukleokapsid akan menembus sel dinding hati. Asam nukleat VHB akan keluar dari nukleokapsid dan akan menempel pada DNA hospes dan berintergrasi pada DNA tersebut. Proses selanjutnya adalah DNA VHB memerintahkan sel hati untuk membentuk protein bagi virus baru. Virus Hepatitis B dilepaskan ke peradangan darah, terjadi mekanisme kerusakan hati yang kronis disebabkan karena respon imunologik penderita terhadap infeksi (Mustofa & Kurniawaty, 2013).

Proses replikasi virus tidak secara langsung bersifat toksik terhadap sel, terbukti banyak *carrier* VHB asimtomatik dan hanya menyebabkan kerusakan hati ringan. Respon imun *host* terhadap antigen virus merupakan faktor penting terhadap kerusakan hepatoseluler dan proses klirens virus, makin lengkap respon imun, makin besar klirens virus dan semakin berat kerusakan sel hati. Respon imun *host* dimediasi oleh respon seluler terhadap epitope protein VHB, terutama HBsAg yang ditransfer ke permukaan sel hati. *Human Leukocyte Antigen* (HLA) *class I-restricted CD8+ cell* mengenali fragmen peptide VHB setelah mengalami proses intrasel dan dipresentasikan ke permukaan sel hati oleh molekul *Major Histocompatibility Complex* (MHC) kelas I. Proses berakhir dengan penghancuran sel secara langsung oleh Limfosit T sitotoksik CD8+ (Hardjoeno, 2007).

2.1.4 Manifestasi Klinis Hepatitis B

Manifestasi klinis infeksi VHB pada pasien hepatitis akut cenderung ringan. Kondisi asimtomatis ini terbukti dari tingginya angka pengidap tanpa adanya riwayat hepatitis akut. Apabila menimbulkan gejala hepatitis, gejalanya menyerupai hepatitis virus yang lain tetapi dengan intensitas yang lebih berat (Juffrie *et al*, 2010).

Gejala hepatitis akut terbagi menjadi 4 tahap yaitu :

1. Fase Inkubasi

Merupakan waktu antara masuknya virus dan timbulnya gejala atau icterus. Fase inkubasi Hepatitis B berkisar antara 15-180 hari dengan rata-rata 60-90 hari.

2. Fase prodromal

Fase diantara timbulnya keluhan-keluhan pertama dan timbulnya gejala ikterus. Awitannya singkat atau *insidious* ditandai dengan malaise umum, myalgia, artalgia, mudah lelah, gejala saluran napas atas dan anoreksia. Diare atau konstipasi dapat terjadi. Nyeri abdomen biasanya ringan dan menetap di kuadran kanan atas atau epigastrium, kadang diperberat dengan aktivitas akan tetapi jarang menimbulkan kolestitis.

3. Fase icterus

Ikterus muncul setelah 5-10 hari, tetapi dapat juga muncul bersamaan dengan munculnya gejala. Banyak kasus pada fase icterus tidak terdeteksi. Setelah timbul icterus jarang terjadi perburukan gejala prodromal, tetapi justru akan terjadi perbaikan klinis yang nyata.

4. Fase konvalesen (penyembuhan)

Diawali dengan menghilangnya icterus dan keluhan lain, tetapi hepatomegaly dan abnormalitas fungsi hati tetap ada. Muncul perasaan sudah lebih sehat dan kembalinya nafsu makan. Sekitar 5-10% kasus perjalanan klinisnya mungkin lebih sulit ditangani, hanya <1% yang menjadi fulminant (Sudoyo *et al*, 2009).

Hepatitis B kronis didefinisikan sebagai peradangan hati yang berlanjut lebih dari enam bulan sejak timbul keluhan dan gejala penyakit. Perjalanan hepatitis B kronik dibagi menjadi tiga fase yaitu :

1. Fase imunitoleransi

Sistem imun tubuh toloren terhadap VHB sehingga konsentrasi virus tinggi dalam darah, tetapi terjadi peradangan hati yang berarti. Virus Hepatitis B berada dalam fase replikatif dengan titer HBsAg yang sangat tinggi.

2. Fase Imunoaktif (*clearance*)

Sekitar 30% individu persisten dengan VHB akibat terjadinya replikasi virus yang berkepanjangan, terjadi proses nekroinflamasi yang tampak dari kenaikan konsentrasi ALT. Fase *clearance* menandakan pasien sudah mulai kehilangan toleransi imun terhadap VHB.

3. Fase Residual

Tubuh berusaha menghancurkan virus dan menimbulkan pecahnya sel-sel hati yang terinfeksi VHB. Sekitar 70% dari individu tersebut akhirnya dapat menghilangkan sebagian besar partikel virus tanpa ada kerusakan sel hati yang berarti. Fase residual ditandai dengan titer HBsAg rendah, HBeAg

yang menjadi negative dan anti-HBe yang menjadi positif, serta konsentarsi ALT normal (Sudoyo *et al*, 2009).

2.1.5 Diagnosis Hepatitis B

Diagnosis ditegakkan dengan anamnesis, pemeriksaan fisik, dan pemeriksaan penunjang. Anamnesis umumnya tanpa keluhan, perlu digali riwayat transmisi seperti pernah transfuse, seks bebas, riwayat sakit kuning sebelumnya. Pemeriksaan fisik didapatkan hepatomegaly. Pemeriksaan penjunjang terdiri dari pemeriksaan laboratorium, USG abdomen dan Biopsi hepar (Mustofa & Kurniawaty, 2013). Pemeriksaan laboratorium pada VHB terdiri dari pemeriksaan biokimia. Serologis dan molekuler (Hardjoeno, 2007). Pemeriksaan USG abdomen tampak gambaran hepatitis kronis, selanjutnya pada biopsy hepar dapat menunjukkan gambaran peradangan dan fibrosis hati (Mustofa & Kurniawaty, 2013).

Pemeriksaan laboratorium pada VHB terdiri dari :

1. Pemeriksaan Biokimia

Stadium akut VHB ditandai AST dan ALT meningkat >10 kali nilai normal, serum bilirubin normal atau hanya meningkat sedikit, peningkatan *Alkali Fosfatase* (ALP) >3 kali nilai normal, dan kadar albumin serta kolesterol dapat mengalami penurunan. Stadium kronik VHB ditandai dengan AST dan ALT kembali menurun 2-10 kali nilai normal dan kadar albumin rendah tetapi kadar globulin meningkat (Hardjoeno, 2007).

2. Pemeriksaan serologis

Indikator serologi awal dari VHB akut dan kunci diagnosis penanda infeksi VHB kronik adalah HBsAg, dimana infeksi bertahan di serum >6 bulan (EASL, 2009). Pemeriksaan HBsAg berhubungan dengan selubung permukaan virus. Sekitar 5-10% pasien, HBsAg menetap di dalam darah yang menandakan terjadinya hepatitis kronis atau *carrier* (Hardjoeno, 2007).

Setelah HBsAg menghilang, anti-HBs terdeteksi dalam serum pasien dan terdeteksi dalam serum pasien dan terdeteksi sampai waktu yang tidak terbatas sesudahnya. Karena terdapat variasi dalam waktu timbulnya anti-HBs, kadang terdapat suatu tenggang waktu (*window period*) beberapa minggu atau lebih yang memisahkan hilangnya HBsAg dan timbulnya anti-HBs. Selama periode tersebut, anti-HBc dapat menjadi bukti serologic pada infeksi VHB (Asdie *et al*, 2012).

Hepatitis B core antigen dapat ditemukan pada sel hati yang terinfeksi, tetapi tidak terdeteksi di dalam serum (Hardjoeno, 2007). Hal tersebut dikarenakan HBcAg terpendam di dalam mantel HBsAg. Penanda Anti-HBc dengan cepat terlihat dalam serum, dimulai dalam 1 hingga 2 minggu pertama timbulnya HBsAg dan mendahului terdeteksinya kadar anti-HBs dalam beberapa minggu hingga beberapa bulan (Asdie *et al*, 2012).

Penanda serologik lain adalah anti HBc, antibody ini timbul saat terjadinya gejala klinis. Saat infeksi akut, anti HBc IgM umumnya muncul 2 minggu setelah HBsAg terdeteksi dan akan menetap $\pm$ 6 bulan. Pemeriksaan anti-HBc IgM penting untuk diagnosis infeksi akut terutama bila HBsAg tidak terdeteksi

(*window period*). Penanda anti-HBc IgM menghilang, anti-HBc IgG muncul dan akan menetap dalam jangka waktu lama (Harjoeno, 2007).

Tes-tes yang sangat sensitive telah banyak dikembangkan secara luas untuk menegakkan diagnosis Hepatitis B dalam kasus-kasus ringan, sub klinis atau yang menetap (Handojo, 2004). Beberapa metode yang digunakan untuk mendiagnosis hepatitis adalah *Immunochromatography* (ICT), ELISA, EIA, dan PCR. Metode EIA dan PCR tergolong mahal dan hanya tersedia pada laboratorium yang memiliki peralatan lengkap. Peralatan *rapid diagnostic* ICT adalah pilihan yang tepat digunakan karena lebih murah dan tidak memerlukan peralatan kompleks (Rahman *et al*, 200).

3. Pemeriksaan Molekuler

Pemeriksaan molekuler menjadi standar pendekatan secara laboratorium untuk deteksi dan pengukuran DNA VHB dalam serum atau plasma. Pengukuran kadar secara rutin bertujuan untuk mengidentifikasi *carrier*, menentukan prognosis, dan monitoring efikasi pengobatan antiviral.

Metode pemeriksaan antara lain:

- a. *Radioimmunoassay* (RIA) mempunyai keterbatasan karena waktu paruh pendek dan diperlukan penanganan khusus dalam prosedur kerja dan limbahnya.
- b. *Hybrid Capture Chemiluminescence* (HCC) merupakan teknik hibridisasi yang lebih sensitive dan tidak menggunakan radioisotope karena system deteksinya menggunakan susbstrat *chemiluminescence*.

- c. Amplifikasi signal (metode *branched* DNA/bDNA) bertujuan untuk menghasilkan sinyal yang dapat dideteksi hanya dari beberapa target molekul asam nukleat.
- d. Amplifikasi targer (metode *Polymerase Chain Reaction*/PCR) telah dikembangkan teknik *real-time* PCR untuk pengukuran DNA VHB. Amplifikasi DNA dan kuantifikasi produk PCR terjadi secara bersamaan dalam suatu alat pereaksi tertutup (Hardjoeno, 2007).

2.2 Anti HBs

Anti HBs merupakan antibody spesifik untuk HBsAg, muncul di darah 1 sampai 4 bulan setelah terinfeksi virus hepatitis B. Anti HBs diinterpretasikan sebagai kekebalan atau dalam masa penyembuhan penyakit hepatitis B. Antibodi ini memberikan perlindungan terhadap penyakit hepatitis B. Anti-HBs pada seseorang yang telah terinfeksi virus hepatitis B timbul pada 1 sampai 3 bulan setelah menghilangnya HBsAg (Rosalina, 2012). Vaksinasi hepatitis B dilakukan sebanyak tiga tahap, setelah pemberian vaksinasi tubuh akan merespon ditandai dengan timbulnya anti-HBs yang akan aktif dalam tubuh $\pm$ 5 tahun (Rulistiana, 2008).

Vaksin hepatitis B diberikan dalam 3 dosis pada bulan ke 0,1 dan 6. Dua dosis pertama merupakan dosis yang penting untuk membentuk antibody. Dosis ketiga diberikan untuk mencapai kadar antibodi anti-HBs yang tinggi. Vaksinasi hepatitis B mampu memberikan perlindungan selama lebih 20 tahun pada individu yang sehat melalui immune memori spesifik terhadap HBsAg yang tetap ada (Poovorawan *et al*, 2011). WHO tidak merekomendasikan pemberian *booster*,

namun dosis *booster* sebaiknya dipertimbangkan pada individu *immunocompromised* (imunitas lemah) atau penderita dengan kekebalan tubuh menurun berdasar evaluasi serologis seperti penderita HIV, AIDS, penderita gagal ginjal kronis, kanker, keganasan atau terapi dengan sitostatika (Meireles *et al*, 2015).

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa titer anti-HBs masih memeberikan efek proteksi pada 2-4 tahun, bahkan sampai 10 tahun setelah vaksinasi primer. Titer antibody hepatitis B dikatakan protektif bila titer antbodi anti-HBs >10 mIU/MI (Hofmann dan Karlj, 2009). Penanda serologis pada infeksi VHB akut yang pertama terdeteksi dalam serum HBsAg (Kao, 2008). Setelah HBsAg menghilang, anti HBs terdeteksi dalam serum pasien dan terdeteksi sampai waktu yang tidak terbatas sesudahnya karena terdapat variasi dalam waktu timbulnya anti-HBs, kadang terdapat suatu tengang waktu (*window period*) beberapa minggu atau lebih yang memisahkan hilangnya HBsAg dan timbulnya anti-HBs. Selama periode tersebut anti-HBc dapat menjadi bukti serologi pada infeksi VHB (Noer dan Sundoro, 2007).

Pemeriksaan Anti-HBs dilakukan untuk mengetahui adanya antibody spesifik terhadap virus hepatitis B (HBV) pada serum atau plasma pasien. Pemeriksaan ini sebaiknya dilakukan bersama-sama dengan HBsAg ketika seseorang peru atau tidak mendapatkan vaksin hepatitis B (Hofmann dan Kralj, 2009). Pemeriksaan Anti-HBs dapat dilakukan dengan metode *rapid test*, EIA dan ELISA.

2.3 Immunochromatography (ICT)

Diagnostik dengan *rapid test* merupakan alternative untuk *enzyme immunoassays* dan alat untuk skrining skala besar dalam diagnosis infeksi VHB, khususnya di tempat yang tidak terdapat akses pemeriksaan serologi dan molekuler secara mudah (Scheiblaue *et al*, 2010).

Pemeriksaan HBsAg (*cassette*) adalah pemeriksaan *rapid chromatographic* secara kualitatif untuk mendeteksi HBsAg pada serum atau plasma. Pemeriksaan HBsAg Diaspor[®] (Diaspot Diagnostics, USA) adalah pemeriksaan kromatografi yang dilakukan berdasarkan prinsip *double antibody-sandwich*. Membran dilapisi oleh anti-HBs pada bagian *test line*. Selama tes dilakukan, HBsAg pada specimen serum atau plasma bereaksi dengan partikel anti-HBs (Okonko dan Udaze, 2011). Apabila hasil reaktif maka alat akan menunjukkan dua garis berwarna, yaitu pada area tes (P=positif) dan area kontrol (C=kontrol). Apabila hanya satu warna yang tergambar pada area control, maka interpretasinya yaitu nonreaktif. Sedangkan jika tidak ada warna yang terbentuk, maka pemeriksaan tersebut tidak valid (Lin *et al*, 2008).



Gambar 2 : *Rapid test* (Sumber: www.vistadx.com)



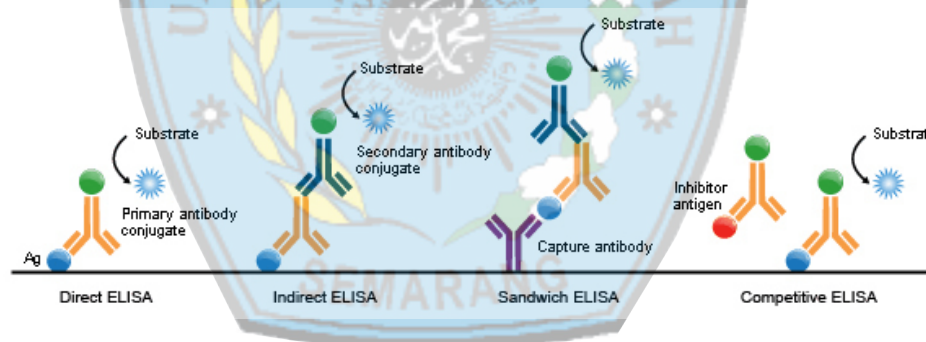
Gambar 3 : Interpretasi Hasil Pemeriksaan *Rapid test* (Sumber: www.vistadx.com)

2.4 Enzim-linked immunosorbent assay (ELISA)

ELISA atau dalam bahasa indonesianya disebut sebagai uji penentuan kadar imunosorben taut-enzim, merupakan teknik pengujian serologi yang didasarkan pada prinsip interaksi antara antibody dan antigen. Pada awalnya, teknik ELISA hanya digunakan dalam bidang imunologi untuk mendeteksi keberadaan antigen maupun antibodi dalam suatu sampel seperti dalam pendeteksian antibody IgM, IgG, dan IgA pada saat terjadi infeksi (pada tubuh manusia khususnya). Namun seiring dengan perkembangan ilmu pengetahuan, teknik ELISA juga diaplikasikan dalam bentuk lain termasuk menganalisis kadar hormone yang terdapat dalam suatu organisme. Antigen yang berlabel dan antigen yang tidak berlabel saling bersaing untuk berikatan dengan antibodi yang terdapat dalam jumlah terbatas (Hausmann *et al*, 2007).

Elisa dipernalkan pada tahun 1971 oleh Peter Perlmann dan Eva Engvall untuk menganalisis adanya interaksi antigen dengan antibodi di dalam suatu sampel dengan menggunakan enzim sebagai pelapor (Lequin, 2005). Prinsip dari pemeriksaan ELISA adalah reaksi antigen-antibodi (Ag-Ab) dimana setelah penambahan konjugat yaitu antigen atau antibodi yang dilabel enzim dan substrat akan terjadi perubahan warna. Perubahan warna ini yang akan diukur intensitasnya dengan alat pembaca yang disebut spektrofotometer atau ELISA reader dengan menggunakan panjang gelombang tertentu (Hausmann *et al*, 2007).

ELISA terdiri dari bermacam-macam metode diantaranya ada Direct, Indirect, Sandwich dan Kompetitif.



Gambar 4 : Macam-macam metode ELISA (Sumber: Hausmann *et al*, 2007)

Teknik ELISA juga mempunyai beberapa kelebihan diantaranya adalah :

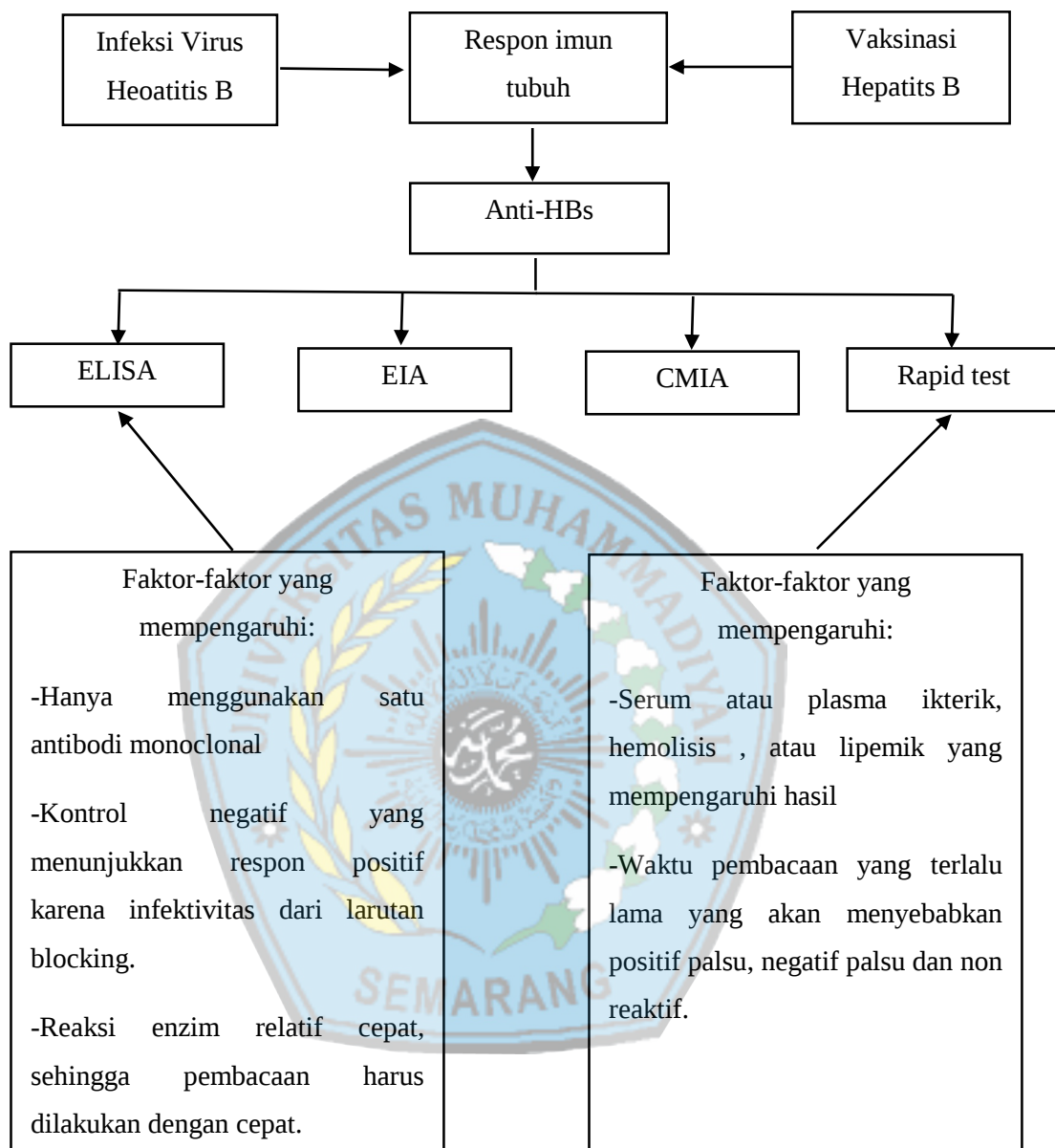
- Teknik pengerjaan yang relative sederhana
- Ekonomis
- Memiliki sensitifitas yang cukup tinggi
- Dapat digunakan untuk mendeteksi keberadaan antigen walaupun kadar antigen tersebut sangat rendah

Sedangkan kekurangan dari teknik ELISA antara lain :

- Jenis antibodi yang dapat digunakan pada uji dengan teknik ELISA ini hanya jenis antibody monoclonal (antibodi yang hanya mengenali satu antigen)
- Harga antibodi monoclonal relative lebih mahal dari pada antibodi poliklonal, sehingga pengujian teknik ELISA ini membutuhkan biaya yang relative mahal.
- Pada beberapa macam teknik ELISA, dapat terjadi kesalahan pengujian akibat kontrol negative yang menunjukkan repons positif yang disebabkan inefektivitas dari larutan blocking.
- Reaksi antara enzim signal dan substrat berlangsung relative cepat, sehingga pembacaan harus dilakukan dengan cepat (pada perkembangannya, hal ini dapat diatasi dengan memberikan larutan untuk mendeteksi reaksi) (Lequin,2005).

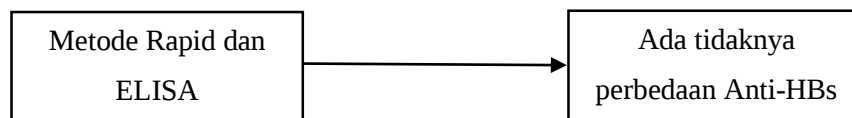


2.5 Kerangka Teori



Bagan 2.1 Kerangka Teori Pembacaan hasil Sensitifitas dan Spesitifitas

2.6 Kerangka Konsep



Bagan 2.2 Kerangka Konsep Perbedaan Sensitifitas dan Spesifitas

2.7 Hipotesis

Berdasarkan rumusan masalah yang sudah dipaparkan sebelumnya hipotesis dalam penelitian ini adalah : Ada perbedaan Anti-HBs Rapid test dengan ELISA.

