

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Hepatitis B**

Hepatitis adalah peradangan pada organ hati yang disebabkan berbagai sebab, seperti bakteri, virus, proses autoimun, obat-obatan, perlemakan, alkohol dan zat berbahaya lainnya. Infeksi (virus, bakteri, dan parasit) menjadi penyebab umum hepatitis, dan infeksi karena virus Hepatitis A, B, C, D atau E merupakan yang terbanyak, di samping infeksi virus lainnya, seperti mononucleosis infeksiosa, demam kuning, atau sitomegalovirus. Hepatitis yang disebabkan infeksi virus disebut juga Hepatitis viral (Kemenkes, 2014).

Hepatitis B adalah penyakit infeksi virus yang ditularkan melalui darah dimana virus ini adalah yang paling menular dan di banyak bagian dunia, prevalensinya sangat tinggi. Hepatitis B merupakan infeksi virus yang menyerang hati dan menyebabkan penyakit akut maupun kronik dan secara potensial merupakan infeksi hati yang mengancam nyawa (WHO, 2012).

VHB mudah ditularkan kepada semua orang. Penularannya dapat melalui darah atau bahan yang berasal dari darah, cairan semen (sperma), lendir kemaluan wanita (sekret vagina), dan darah menstruasi. HBsAg dalam jumlah kecil dapat ditemukan pada Air Susu Ibu (ASI), air liur, air seni, keringat, tinja, cairan amnion dan cairan lambung (Dalimartha, 2004). Masa inkubasi sekitar 24-96 minggu

(Misnadiarly, 2007), tetapi menurut Sudoyo (2006), masa inkubasi VHB berkisar 15-180 hari (rata-rata 60-90 hari).

Penderita Hepatitis B umumnya akan tampak lesu dan pucat serta mengalami mual-mual (*nausea*) dan muntah-muntah (*vomiting*) yang disebabkan tekanan hebat pada liver sehingga membuat keseimbangan tidak terjaga. Gejala Hepatitis B pada awalnya tidak tampak jelas atau sering disamakan dengan penyakit lain seperti influenza dan demam bahkan kehilangan nafsu makan. Fungsi hati yang terganggu mengakibatkan penderita Hepatitis B terdeteksi seperti keracunan karena hati gagal menjalankan tugas detoksin terhadap racun yang masuk ke dalam tubuh. Kulit tubuh dan mata yang menguning atau HBsAg untuk darah pratransfusi. Ditemukannya vaksin hepatitis B dari plasma pada tahun sering disebut penyakit kuning (*Jaundice*) mengindikasikan bahwa penyakit Hepatitis B telah sampai pada tahap serius atau kronis. (Misnadiarly, 2007)

Higiene dan sanitasi yang baik merupakan cara pencegahan utama infeksi VHB sebelum ditemukannya vaksin Hepatitis B. Sterilisasi alat-alat kedokteran yang dipakai untuk tindakan parenteral dan skrining 1982 dan vaksin hepatitis B dari rekayasa genetika pada tahun 1987 maka pencegahan penularan infeksi VHB yang terpenting adalah pemberian vaksin atau imunisasi. Imunisasi merupakan upaya untuk mendapatkan kekebalan terhadap suatu penyakit dengan cara memasukkan kuman yang telah dilemahkan atau dimatikan kedalam tubuh yang diharapkan dapat menghasilkan zat antibodi yang pada saatnya nanti digunakan untuk melawan kuman atau bibit penyakit yang menyerang tubuh (Hadinegoro, 2008).

## 2.2 Diagnosis HBsAg

Diagnosis infeksi hepatitis kronis didasarkan pada pemeriksaan serologi, petanda virologi, biokimia dan histologi. Pemeriksaan serologi yang dianjurkan untuk diagnosis dan evaluasi infeksi hepatitis B kronis adalah HBsAg, HBeAg, anti HBe dan HBV DNA. Adanya HBsAg dalam serum merupakan petanda serologis infeksi hepatitis B. Titer HBsAg yang masih positif lebih dari 6 bulan menunjukkan infeksi hepatitis kronis. Munculnya antibodi terhadap HBsAg (anti HBs) menunjukkan imunitas dan atau proses infeksi.

Adanya HBeAg (hepatitis B “e” antigen) dalam serum mengindikasikan adanya replikasi aktif virus di dalam hepatosit. Titer HBeAg berkorelasi dengan kadar HBV DNA. Tidak adanya HBeAg (negatif) bukan berarti tidak adanya replikasi virus, keadaan ini dijumpai pada penderita terinfeksi HBV yang mengalami mutasi (precore atau core mutant). Secara serologis infeksi hepatitis persisten dibagi menjadi hepatitis B kronis dan keadaan HBsAg inaktif, yang membedakan keduanya adalah titer HBV DNA derajat nekroinflamasi dan adanya serokonversi HBeAg (hepatitis B “e” antigen) (Suharjo, 2006).

Transfusi darah merupakan salah satu jalur penularan VHB secara horizontal yang sering terjadi. Pendonor yang menderita penyakit hepatitis B atau menjadi karier hepatitis B, maka darah yang mengandung virus hepatitis B tersebut dapat ditularkan kepada resipien melalui transfusi darah. Pengurangan potensi transmisi penyakit menular melalui transfusi darah dapat dilakukan skrining berupa uji saring darah untuk mendeteksi antigen maupun antibodi VHB pada darah donor. Antigen yang

dapat dideteksi adalah *Hepatitis B Surface Antigen* (HBsAg) dan *Hepatitis B e Antigen* (HBeAg), sedangkan antibodi yang dapat dideteksi adalah anti HBs, anti HBc dan anti HBe.

Metode pemeriksaan utama dalam skrining darah adalah *Immunoassays* dan NAT. *Immunoassays* (IAs), antara lain *Enzim-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)*, or *Enzyme Immunoassays (EIA)*, *Chemiluminescent Immunoassays (CLIA)*, *Haemagglutination (HA) / Particle Agglutination (PA) Assays*, dan *Rapid/simple single-use assays (rapid tests)*. *Nucleic acid amplification technology (NAT) assays* (WHO, 2009).

Setiap metode memiliki keterbatasan antara lain lamanya waktu setelah infeksi sebelum tes skrining menjadi reaktif (*window period*). Tingkat positif palsu (*false positive*) biologis yang dapat menyebabkan pemborosan sumbangan dan penundaan yang tidak perlu dari donor. Kerumitan beberapa sistem yang memerlukan otomatisasi (Depkes, 2001).

### 2.3 Metode CLIA

CLIA (*chemiluminescence immuneassay*) merupakan sebuah tipe *immunoassay*. *Immunoassay* adalah sebuah tes biokimia yang mengukur konsentrasi suatu substansi dalam cairan, biasanya berupa serum darah atau air seni dengan melihat reaksi antibodi terhadap antigennya. Enzym dan *chemiluminescent immunoassay* saat ini merupakan metode pemeriksaan yang paling umum digunakan untuk tujuan diagnostik atau uji saring infeksi menular lewat transfusi darah (IMLTD) pada darah donor (Suryani, 2015).

Prinsip kerja metode CLIA dalam uji saring darah menggunakan substrat *chemiluminescent* yang bereaksi dengan berbagai enzim yang digunakan untuk menandai. Reaksi *chemiluminescence* enzimatik menghasilkan cahaya. Sistem saat menggunakan derivatif dari luminol dengan peroksidase dan  $H_2O_2$  (atau sistem enzimatik lainnya yang menghasilkan  $H_2O_2$ , seperti oksidase glukosa atau uricase) ditambah penambah (turunan dari fenol, seperti p-iodofenol), yang meningkatkan emisi cahaya sampai 2.800 kali.

Reaksi luminol oksidatif mungkin menandakan pertumbuhan jumlah gangguan spesifik. Sistem lain menggunakan turunan dari *alkaline phosphatase* dan *adamantyl dioxetane*, AMPPD, yang tidak memerlukan emisi cahaya dari molekul lain, berbeda dengan luminol membutuhkan senyawa oksidatif. AMPPD substrat adalah panel dari kelompok *adamantyl* sebagai stabilizer dari seluruh molekul, link dioxetane sebagai sumber energi, ester fosforil sebagai situs untuk belahan enzimatik dan kelompok fenil untuk *chemiluminescence*. substrat baru ini dimungkinkan pengembangan tes yang sangat sensitif tes RIA sensitivitas superior ( $\sim 0,1$  pg / mL)

Tes immunochemical dalam uji saring darah dengan deteksi oleh *electro chemiluminiscenta* didasarkan pada penggunaan kompleks ruthenium (II) tris (*bipyridyl*)  $[Ru (BPY) 3]^{2+}$  dengan *tripropylamine* (TPA) yang menghasilkan cahaya sehubungan dengan siklus elektrokimia reaksi reduksi oksidasi :  $Ru (BPY) 3^{2+}$  memiliki situs reaktif untuk konjugasi dengan analit. Ini digunakan untuk mengaktifkan agen, seperti *N-Hydroxysuccinimide* (NHS). Agen dapat dengan mudah digabungkan dengan kelompok amino dari

protein, haptens atau asam nukleat. Hal ini dimungkinkan untuk menerapkan teknologi berbagai analit.

Emisi cahaya dimulai dengan menerapkan kompleks imun tegangan listrik (termasuk Ru kompleks) yang melekat pada mikropartikel dilapisi streptavidin. Keuntungan dari listrik memulai reaksi chemiluminescent adalah bahwa seluruh reaksi dapat tepat dikontrol. Ada tiga prinsip metode:

1. *The "sandwich"* sampel pasien awal dicampur dengan Ac Ac ditambah dengan biotin dan diberi label Ru (konjugat). Setelah inkubasi campuran dilapisi mikropartikel paramagnetik menambahkan streptavidin (fase padat). Setelah inkubasi kedua campuran reaksi disedot ke dalam sel pengukuran, dan konjugasi gratis dihapus; masih menggunakan listrik untuk merangsang ruthenium dan menghasilkan sinyal yang akan memungkinkan deteksi kompleks Ag-Ab. Jumlah cahaya yang dihasilkan berbanding lurus dengan jumlah Ag dalam sampel;

2. Prinsip Kompetitif: Spesimen awal yang dicampur dan Ag ditambah dengan biotin, setelah inkubasi pertama menambahkan Ac terkonjugasi dengan Ru kompleks dan dilapisi streptavidin mikro partikel paramagnetik. Ac terkonjugasi pasangan dengan situs masih kosong dari terbiotinilasi Ag, dan seluruh mikropartikel kompleks mengikat interaksi streptavidin-biotin. Setelah inkubasi kedua campuran reaksi dilewatkan ke dalam sel pengukuran, kompleks imun magnetik bergerak pada permukaan elektroda dan komponen terikat dihapus dengan mencuci. Reaksi chemiluminescence dirangsang secara elektrik, dan jumlah cahaya yang dihasilkan berbanding terbalik dengan konsentrasi Ag dalam sampel.

3. The "bridging" mirip dengan "sandwich", tetapi dimaksudkan untuk mendeteksi Ac dan termasuk Ag dan Ag-label terbiotinilasi Ru.

## **2.4 Spesimen**

### **2.4.1 Serum**

Spesimen dalam uji CLIA adalah serum atau plasma. Serum merupakan bagian cairan darah tanpa faktor pembekuan atau sel darah. Serum didapatkan dengan cara membiarkan darah di dalam tabung reaksi tanpa antikoagulan membeku dan kemudian disentrifugasi dengan kecepatan tinggi untuk mengendapkan sel-selnya, cairan diatas yang berwarna kuning jernih disebut serum. Serum atau plasma ikterik, hemolisis, atau lipemik dapat mempengaruhi hasil pemeriksaan (Evelyn, 2009).

### **2.4.2 Plasma Darah**

Plasma darah merupakan bagian cair darah, yang didapat dengan membuat darah tidak beku dan sel darah tersentrifugasi. Plasma terdiri dari 90% air, 7-8% protein, dan di dalam plasma terkandung pula beberapa komponen lain seperti garam-garam, karbohidrat, lipid, dan asam amino. Plasma darah selalu ada dalam pertukaran zat dengan cairan interstisial karena dinding kapiler permiabel bagi air dan elektrolit. Dalam waktu 1 menit sekitar 70% cairan plasma bertukaran dengan cairan interstisial. Plasma didapat dengan mensentrifugasi sejumlah darah yang sebelumnya ditambah antikoagulan (Evelyn, 2009).

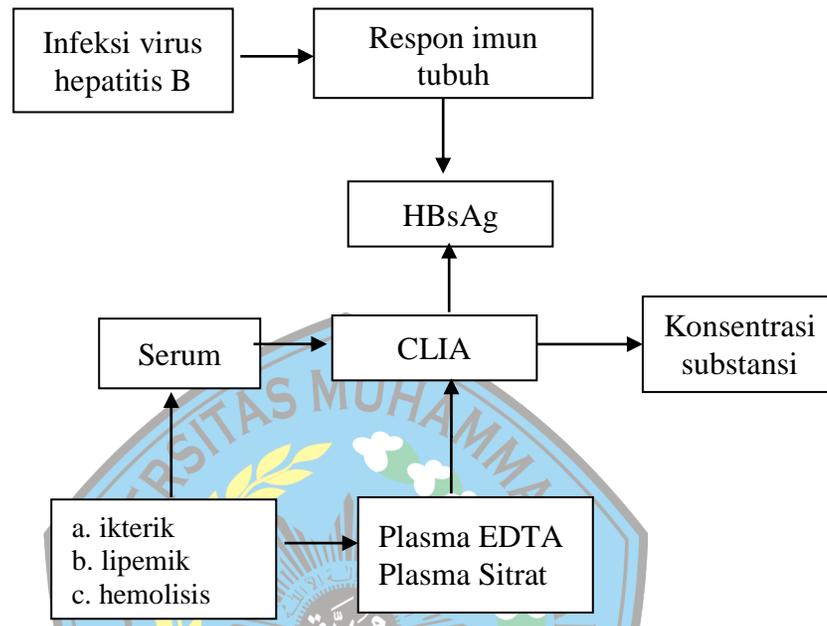
Plasma EDTA didapat dengan mensentrifugasi sejumlah darah yang sebelumnya ditambah antikoagulan EDTA. Antikoagulan EDTA atau *Ethylen Diamine Tetra Acetat* umumnya tersedia dalam bentuk kering yaitu garam dikalium

(K<sub>2</sub>EDTA) dan garam dinatrium (Na<sub>2</sub>EDTA) atau kalium (K<sub>3</sub>EDTA) dalam bentuk cair. Kelebihan EDTA yaitu sebagai antikoagulan yang memiliki sifat zat aditif, dan memiliki kekurangan sulit larut dibandingkan dengan antikoagulan lain (Nugraha, 2015).

Plasma sitrat diperoleh dari sampel darah vena ditambah antikoagulan Natrium Sitrat 3,2% dengan perbandingan 9:1. Darah sitrat harus diperiksa dalam waktu selambat-lambatnya 2 jam setelah pengambilan darah dan dimasukkan dalam tabung vakum Na sitrat 3,2% kemudian disentrifus selama 10 menit dengan kecepatan 2500 rpm maka akan diperoleh sampel plasma sitrat miskin trombosit yang akan digunakan untuk pemeriksaan HBsAg (Hoffbrand.,2002).

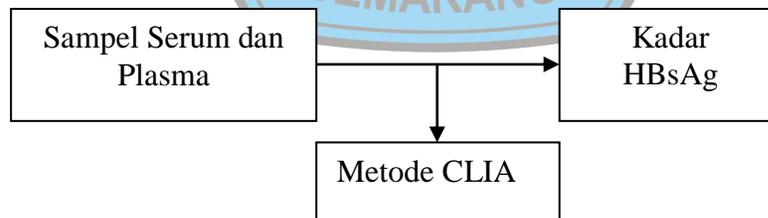


## 2.5 Kerangka Teori



Gambar 1. Skema Kerangka Teori

## 2.6 Kerangka Konsep



Gambar 2. Skema Kerangka Konsep

## 2.7 Hipotesis

Ada perbedaan HBsAg sampel serum dengan plasma EDTA, dan plasma sitrat pada pendonor menggunakan metode CLIA.