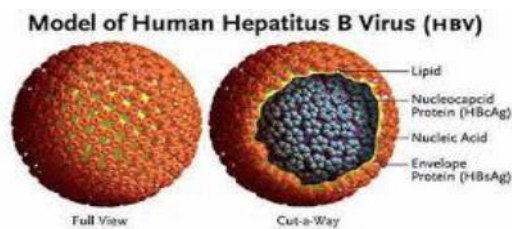


BAB II TINJAUAN PUSTAKA

A. Tinjauan Pustaka

1. Hepatitis B

Hepatitis B adalah infeksi virus pada hati yang disebabkan oleh virus hepatitis B (HBV). Virus hepatitis B adalah patogen manusia yang menginfeksi hati dan dapat menyebabkan penyakit akut dan kronis. Lebih dari 350 juta orang hidup dengan penyakit kronis hepatitis B di seluruh dunia. Penderita yang terinfeksi virus hepatitis B sering kali tanpa gejala tetapi sekitar 25% orang dewasa yang terinfeksi kronis akan meninggal karena sirosis atau hepatoseluler karsinoma sekunder akibat infeksi. Pendekatan terbaik untuk mengurangi beban hepatitis B adalah dengan mencegah infeksi, terutama melalui vaksinasi dan pengendalian infeksi langkah-langkah. Ada juga pilihan pengobatan dengan beberapa efektivitas yang mencakup interferon, anti-virus obat-obatan dan dalam beberapa kasus transplantasi hati (Mayer *et al.*, 2012).



Sumber: Yulia, 2019

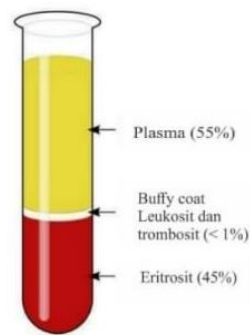
Gambar 2. 1 Struktur Virus Hepatitis B

Hepatitis B dapat menyerang hati dan dapat bersifat akut atau kronis dan dapat menyebabkan sirosis (pengerasan hati) dan kanker hati. Diperkirakan 2 miliar orang di seluruh dunia terinfeksi virus hepatitis B dan lebih dari 240,444 juta orang menderita hepatitis kronis. Diperkirakan hepatitis B menyebabkan 4. 444,6 juta kematian setiap tahunnya. Penyakit ini ditularkan melalui kontak dengan darah atau cairan tubuh yang terinfeksi, seperti melalui penggunaan jarum suntik bersama, transfuse darah yang tidak aman, dan hubungan seksual tanpa pengaman (Widyastuti *et al.*, 2022).

Infeksi virus Hepatitis B masih menjadi persoalan kesehatan dunia. Hal ini disebabkan karena angka kejadian dan kematiannya masih cukup tinggi (Zahra Salsabila and Saputra 2022). Pemberian tranfusi darah dapat meningkatkan resiko penyakit menular khususnya hepatitis b, hepatitis C, HIV (*Human Immunodeficiency Virus*), sifilis, malaria, dan DBD (Demam Berdarah Dengue), serta resiko tranfusi lainnya yang dapat terjadi dan berakibat fatal (Lestari and Saputro 2021). Beberapa pasien virus Hepatitis B tidak mengalami gejala apapun, sebaliknya mereka hanya berkembang menjadi pembawa. Oleh karena itu, sejumlah besar orang tidak menyadari bahwa mereka mengidap virus Hepatitis B, dan beberapa dari mereka berpotensi mendonorkan darahnya kepada orang yang benar-benar dapat menyebarkan infeksi melalui tranfusi. Untuk melindungi darah donor dari infeksi virus Hepatitis B, produk darah yang digunakan tidak boleh berpotensi menjadi sarana penularan virus Hepatitis B diperlukan uji skrining terhadap HBsAg (*Hepatitis B Surface Antigen*) (Sayekti 2024)

2. Plasma

Plasma darah merupakan komponen terbanyak pada *whole blood* yang memenuhi hampir separuh dari penyusunnya. Plasma darah merupakan cairan matriks ekstraseluler bening dengan sedikit warna kekuningan, yang tersusun atas berbagai komponen, meliputi air (92%) dan (8%) sisanya terdiri atas glukosa, lemak, protein, vitamin, hormon, enzim, antibodi (Rizkiawati et al. 2016). Plasma darah diperoleh dari pemisahan cairan ekstraseluler tersebut dengan komponen darah lainnya. Plasma darah berfungsi sebagai media transportasi bagi sel-sel darah, nutrisi, hormon, protein, dan zat-zat lainnya ke berbagai bagian tubuh. Plasma darah terdiri dari sekitar 55% dari total volume darah dan berwarna kekuningan. Plasma tidak mengandung sel darah, tapi mengandung faktor pembekuan (Nugraha, 2015).



Sumber: Kiswari, 2014

Gambar 2. 2 Plasma Darah

Prinsip pemisahan didasarkan pada perbedaan berat molekul, dengan menggunakan sentrifugasi. Setelah dilakukan proses sentrifugasi plasma darah akan berada dibagian paling atas, dan dapat digunakan untuk keperluan diagnostik medis (Rosita, 2019). Plasma memiliki tingkat faktor pembekuan yang berbeda-beda tergantung pada penambahan antikoagulan (Nugraha, 2015).

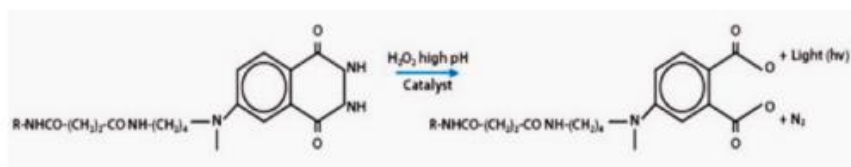
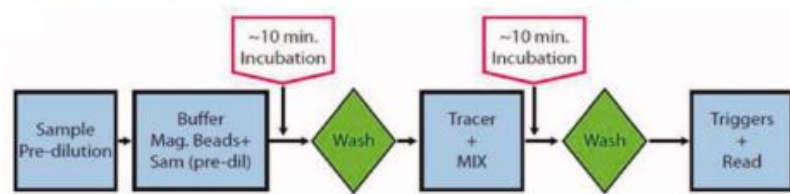
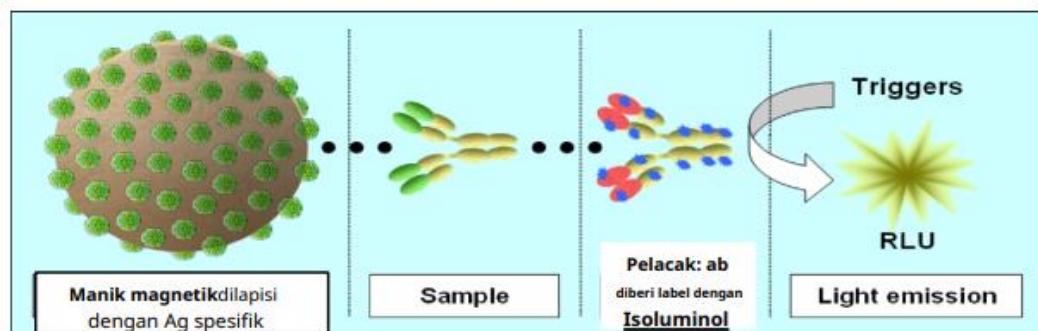
3. *Chemiluminescence Immuno Assay (CLIA)*

Chemiluminescence Immuno Assay (CLIA) merupakan metode immuoserologi yang telah dikembangkan untuk uji saring darah pada saat ini. Uji saring ini merupakan tes serologi yang mengukur konsentrasi suatu substansi didalam sampel darah dengan melihat reaksi analitik tersebut adalah molekul luminescent. Secara umum luminescen adalah emisi dari radiasi yang terlihat ($\lambda=300-800$ nm) ketika sebuah transisi electron dari keadaan tereksitasi keadaan dasar. Energi potensial yang dihasilkan dalam atom akan dilepaskan dalam bentuk cahaya (Cinquanta, Fontana, and Bizzaro, 2017)

Metode CLIA bergantung pada deteksi sinar yang dipancarkan dan diasosiasikan dengan penghilang energy dari substansi elektronik sebagai akibat reaksi elektrokimia. Uji saring IMLTD metode CLIA menggunakan substrat *chemiluminescence* yang bereaksi dengan berbagai enzim yang dipergunakan untuk menandai, berupa luminol, isoluminol/derivatnya atau derivate acridium ester sehingga mengeluarkan cahaya ketika ditambahkan reagen trigger seperti peroksidase dan H_2O_2 atau system enzimatik lainnya yang menghasilkan H_2O_2 , seperti oksidase glukosa. CLIA menetapkan

konsentrasi analit pada sampel berdasarkan intensitas dari luminescen yang dikeluarkan akibat reaksi kimia, pada umumnya menggunakan teknologi *assay sandwich*, yaitu jumlah signal diukur secara proporsional langsung menunjukkan jumlah analit yang ada pada sampel (Cinquanta, Fontana, and Bizzaro 2017)

Pada metode CLIA, pembawa antigen atau antibodi adalah mikropartikel magnetik. Prinsip kerja CLIA, setelah penambahan sampel, maka akan terbentuk ikatan antigen dan antibodi. Dengan adanya mikropartikel magnetic, ikatan antigen dan antibody yang terbentuk tidak mudah lepas akibat pencucian. Selanjutnya dengan penambahan solution *chemiluminescence*, kompleks reaksi antigen dan antibodi dapat dideteksi dengan adanya emisi cahaya yang dihasilkan. Besar kecilnya emisi cahaya secara kuantitatif menunjukkan besar kecilnya kadar antigen atau antibodi yang terkandung didalam sampel (Francisca Romana, Sri Supadmi 2019)



Activa
Go to Se

Sumber : Cinguanta (2017)

Gambar : 2.3 prinsip *immunoassay chemiluminescence* dipengujian diagnostik autoantibodi

Prinsip kerja metode CLIA secara umum ada 3 yaitu sandwich assay, prinsip kompetitif, dan bridging yaitu sebagai berikut:

a. *Sandwich assay*

Sampel dimasukkan dengan biotin ke dalam microplate yang telah dilekati dengan antigen rekombinan dan mikropartikel paramagnetic streptavidin (fase padat) kemudian diinkubasi. Setelah pencucian pertama, tambahkan konjugat (ruthenium sebagai label), kemudian diinkubasi. Elektromagnetik akan merangsang ruthenium (Ru) dan menghasilkan sinyal yang akan memungkinkan deteksi kompleks antigen-antibodi. Setelah pencucian kedua, tambahkan Larutan Pre-Trigger dan Trigger ke dalam reaksi pencampuran. Hasil reaksi chemiluminescent diukur sebagai relative light units (RLUs). Hubungan langsung terjadi antara jumlah antibodi di dalam sampel dan RLUs yang terdeteksi oleh optic sistem pada alat CLIA. Jumlah cahaya yang dihasilkan akan berbanding lurus dengan jumlah antigen di dalam sampel.

b. *Prinsip kompetitif*

Sampel ditambahkan ke dalam mikroplate yang telah dilekati antigen ditambah dengan biotin kemudian diinkubasi. Setelah inkubasi pertama menambahkan Ac terkonjugasi dengan Ru kompleks dan dilapisi streptavidin mikropartikel paramagnetic. Ac terkonjugasi pasangan dengan situs masih kosong dari terbiotinilasi antigen, dan seluruh mikropartikel mengikat kompleks melalui interaksi streptavidin-biotin. Setelah inkubasi kedua campuran reaksi dilewatkan ke dalam sel pengukuran, kompleks imun magnetik bergerak pada permukaan elektroda dan komponen terikat dihilangkan dengan pencucian. Reaksi chemiluminescent dirangsang secara elektrik, dan jumlah cahaya yang dihasilkan berbanding terbalik dengan konsentrasi antigen di dalam sampel.

c. *Bridging*

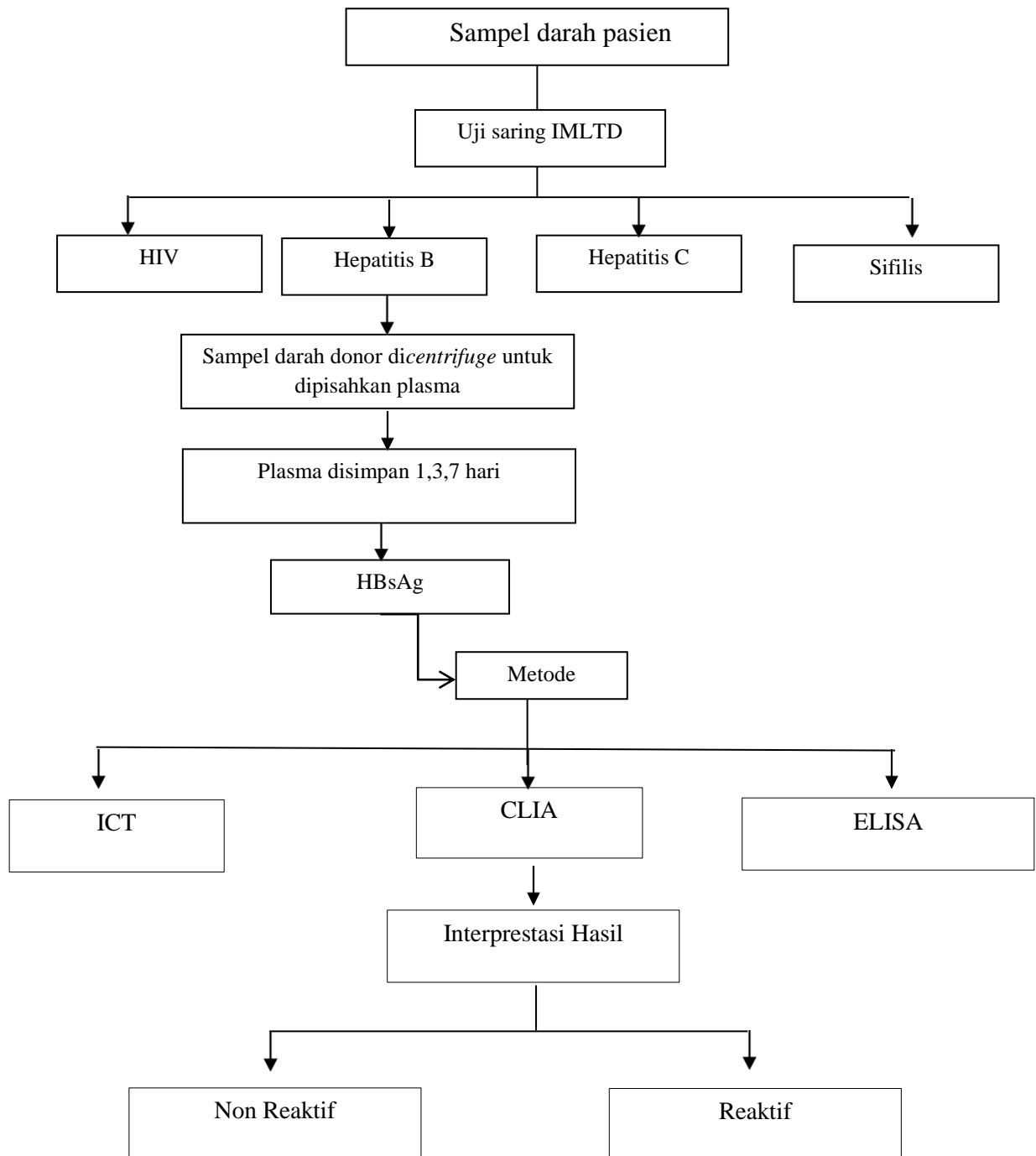
Prinsip kerjanya mirip dengan "*sandwich*", tetapi dimaksudkan untuk mendeteksi antigen capture (Ac) dan termasuk Ag dan Ag-label terbiotinilasi Ru. Prinsip EIA dan CLIA sesungguhnya adalah sama.

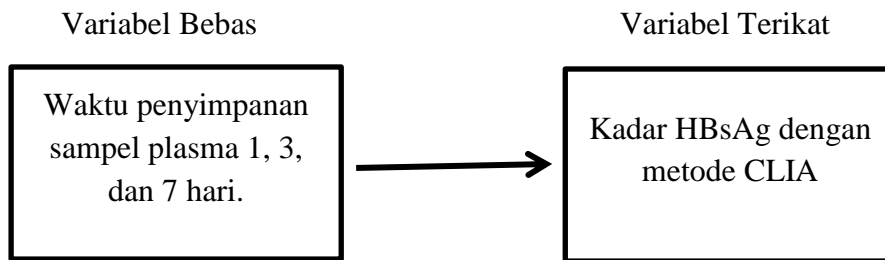
Perbedaannya hanya dalam model deteksi dari kompleks imun yang terbentuk, yakni terbentuknya warna pada EIA dan pengukuran cahaya yang terbentuk oleh reaksi kimia pada CLIA. Teknik pengujian enzim reseptor akhir pada EIA digantikan dengan bekas chemiluminescent diikuti oleh pengukuran dari emisi cahaya sebagai akibat dari reaksi kimia. EIA dan CLIA mempunyai solid phase yang berbeda untuk melakukan imobilisasi terhadap antigen atau antibodi (Francisca Romana, Sri Supadmi 2019)

Pengembangan tes yang sangat sensitive merupakan tren dalam kuantisasi HBsAg di masa depan. *Immunoassay enzim chemiluminescent* baru (CLEIA) dirancang untuk HBsAg kuantitatif yang menggunakan antibody monoklonal yang menargetkan determinan "a" umum dan loop didalam lapisan ganda lipid (Jiang et al., 2021). Metode CLIA terdapat berbagai keuntungan diantaranya yaitu sensitivitas dan spesifitasnya tinggi, rentang deteksi yang tinggi, tidak terpengaruh oleh gangguan cahaya yang terpencar-pencar, tidak menggunakan zat radiaktif dalam peralatan yang lebih ringkas. Sensitivitas CLIA yang lebih tinggi memungkinkan untuk mendiagnosa penyakit fase awal. Selain itu metode CLIA merupakan metode dengan pemeriksaan batas deteksi yang rendah (*limit of detection*) atau dengan kata lain membutuhkan konsumsi sampel yang lebih sedikit (Chusna and Sari 2023).

Keutamaan CLIA adalah dalam penggunaan substrat yang memiliki aktifitas tinggi, lebih stabil dan memiliki emisi cahaya lebih tinggi, menghasilkan jumlah cahaya yang lebih banyak, lebih mudah terukur sehingga lebih sensitive. Proses kimia lebih stabil terhadap perubahan suhu dan Ph. System deteksi tidak menggunakan cahaya dari luar, pengukuran phroton dari reaksi *chemiluminescence* menghindari masalah yang berkaitan dengan filter dan pemilihan panjang gelombang. Metode CLIA bila dibandingkan dengan metode ELISA lebih unggul karena system reseptor ELISA mengukur konsentrasi substansi sangat rendah hingga beberapa nanograms (10^{-9} gram). CLIA dapat mengukur konsentrasi substansi dalam femtogram. Pada umumnya, CLIA menggunakan peralatan otomatis sehingga mengurangi kemungkinan kontaminasi dan human error (Francisca Romana, Sri Supadmi 2019).

B. Kerangka Teori



C. Kerangka Konsep**D. Hipotesis**

Ha : Tidak ada pengaruh waktu penyimpanan sampel plasma terhadap kadar HBsAg dengan metode CLIA

Ho : Ada pengaruh waktu penyimpanan sampel plasma terhadap kadar HBsAg dengan metode CLIA