

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tinjauan Teori

1. Hepatitis B

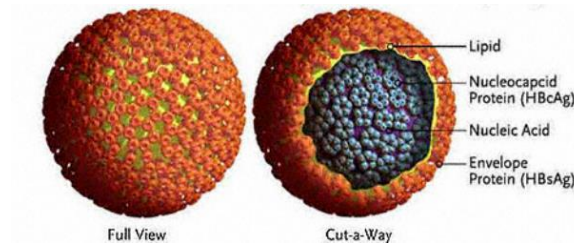
Hepatitis B yaitu sebuah penyakit hati karena virus Hepatitis B, suatu anggota *family Hepadnavirus* beruntai ganda (Hadi & Alamudi, 2017) berukuran diameter sekitar 42 nm, dengan lapisan luar tipis berukuran 7 nm dan inti berukuran 27 nm. Virus ini membutuhkan waktu 30 hingga 180 hari untuk menetas sepenuhnya, dengan rata-rata 70 hari (Nur & Ahdi, 2023) yang bisa mengakibatkan timbulnya radang hati akut atau menahun yang bisa berkelanjutan jadi sirosis atau kanker hati. Infeksi virus Hepatitis B suatu infeksi sistemik yang menyebabkan radang dan nekrosis sel hati dan memunculkan sejumlah kelainan morfologik, imuniserologik, biokimiawi dan klinik (Hadi & Alamudi, 2017).

Penyebab penyakit Hepatitis B adalah virus Hepatitis B (HBV), penyakit inflamasi yang menyebabkan nekrosis sel hati. Salah satu jenis virus DNA sirkular beruntai ganda adalah virus Hepatitis B. Virus ini terdiri atas kapsid inti yang mengandung DNA virus yang dikelilingi oleh selubung. Menurut Rosdiana (2023), infeksi HBV menyebabkan penyakit hati akut dan kronis. Kadang-kadang juga dapat menyebabkan sirosis hati dan kanker hati (Nur & Ahdi, 2023).

a. Patologi Hepatitis B

Organ yang menjadi sasaran virus Hepatitis B adalah sel hati manusia. Sebelum memasuki sitoplasma sel hati, virus Hepatitis B terlebih dahulu berikatan dengan reseptor tertentu pada membran sel hati. Di sitoplasma, virus melepaskan mantelnya, melepaskan nukleokapsid. Dinding sel hati kemudian akan ditembus oleh nukleokapsid. Setelah nukleokapsid dilepaskan, asam nukleat HBV akan berikatan dengan DNA inang dan dimasukkan ke dalamnya.

Langkah selanjutnya adalah sel hati memproduksi protein untuk virus baru di bawah arahan DNA HVB. Ketika virus Hepatitis B memasuki aliran darah, sistem kekebalan tubuh pasien bereaksi terhadap infeksi tersebut, yang menyebabkan kerusakan hati kronis (Yulia, 2020).



Sumber: (Yulia, 2020)

Gambar 2.1 Struktur virus Hepatitis B

Seperti terlihat pada gambar di atas, virus Hepatitis menargetkan hati. Kerusakan sel-sel hati adalah langkah pertama dalam proses Hepatitis akut dan kronis serta karsinoma. Sejumlah penelitian menunjukkan bahwa reaksi sistem ketahanan terhadap antigen HBV dan karakteristik pasien misalnya imunologi, genetika, jenis kelamin dan usia berperan dalam pembersihan virus penyebab karsinoma (Yulia, 2020).

b. Gejala Hepatitis

Gejala yang timbul pada infeksi Hepatitis B sangat beragam, dari tidak ada gejala hingga muntah darah dan koma. Symtoma ringan apabila muncul seperti influenza, demam ringan, mual,lemas, anoreksia, ikterus pada mata, kencing berwarna gelap, diare, nyeri otot. Pada gejala berat bisa terjadi fulmitant Hepatitis hingga kematian (Nur & Ahdi, 2023).

2. Enzim

a. Pengertian Enzim

Enzim adalah molekul protein yang melakukan katalisis reaksi kimia dengan tidak adanya perubahan secara kimiawi. Enzim mengatur metabolisme dengan pada hampir semua fungsi sel. Masing-masing enzim bersifat spesifik bagi substrat yang diubahnya menjadi suatu produk tertentu. Struktur kimia enzim sebagian besar enzim dalam molekulnya mengandung bagian yang bukan merupakan polipeptida yang mempunyai peranan penting untuk mekanisme kerja enzim. Bagian bukan enzim ini adalah kofaktor, sementara bagian enzim yang

menjadi rantai polipeptida adalah apoenzim. Seluruh molekul enzim disebut holoenzim (Nurmandari *et al.*, 2019).

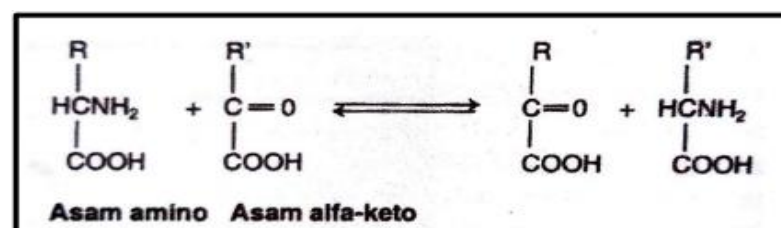
b. Penggolongan Enzim

Penggolongan enzim menurut IUBMB (International Union of Biochemistry and Molecular Biology) terbagi dalam 6 golongan yakni:

- 1) Oksidoreduktase, mengkatalisis reaksi reduksi-oksidasi terhadap berbagai gugus.
- 2) Transferase, mengkatalisis berbagai reaksi transfer gugus fungsional dari molekul donor ke molekul akseptornya.
- 3) Hidrolase, mengkatalisis reaksi penambahan molekul air dengan ikatan yang kemudian reaksi penguraian (hidrolisis).
- 4) Liase, mengkatalisis reaksi dimana molekul air, amonia atau karbon dioksida ditambahkan ke ikatan rangkap atau air, amonia atau karbon dioksida dilepaskan dan terbentuk ikatan rangkap.
- 5) Isomerase, mengkatalisis setiap reaksi isomerisasi termasuk isoerisasi L menjadi D, reaksi mutase (perpindahan posisi atau gugus).
- 6) Ligase (sintetase), mengkatalisis reaksi penggabungan atau pengikatan dua gugus kimia (ikatan) dengan menggunakan energi ATP.

c. Enzim Aminotransferase

Transaminase atau aminotransferase adalah serangkaian enzim yang merupakan katalisator pada proses pemindahan gugus amino antara asam alfa amino dengan asam alfa keto.



Sumber: Sacher dan McPherson, 2014.

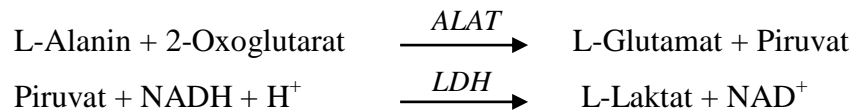
Gambar 2.2 Reaksi pembentukan Aminotransferase

Enzim Aminotransferase yaitu enzim hati yang memiliki peranan utama untuk metabolisme asam amino dan glukoneogenesis. Enzim

Aminotransferase membuat asam amino yang sesuai kebutuhan dalam membuat protein hati. Dua jenis enzim Aminotransferase yang sering dipakai dalam pemeriksaan yaitu enzim *Aspartate Aminotransferase* (AST) yang sebelumnya dikenal sebagai *Glutamat oxaloasetat* (GOT) dan enzim *Alanin Aminotransferase* (ALT) yang sebelumnya disebut sebagai *Glutamate-piruvat Transaminase* (GPT) (Nurmandari *et al.*, 2019).

1) ALT (*Alanine Aminotransferase*)

ALT juga dikenal dengan sebutan GPT (*Glutamate-piruvat Transaminase*). Alanin mengkatalisis reaksi pemindahan gugus NH₂ dari asam amino alanin ke asam alfa-ketoglutarat. Dengan demikian akan menghasilkan terbentuknya asam keto yang lain, yang berasal dari alanin yaitu asam piruvat dan asam amino yang dari asam alfa-ketoglutarat yakni asam glutamat. Prinsip kerja enzim ALT yaitu:

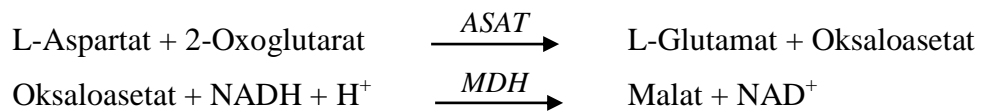


ALT mengkatalisis pemindahan gugus amino dari alanin ke ketoglutarat membentuk piruvat dan glutamat. Kemudian dengan adanya Piruvat kemudian direduksi menjadi laktat dan NAD dengan adanya NADH dan laktat dehidrogenase. Reaksi terdeteksi setelah terjadi penurunan absorbansi atau konsentrasi NADH pada panjang gelombang 340 nm. Penurunan absorbansi ini sebanding dengan aktivitas katalitik ALT. Terdapat banyak enzim ini di sel jaringan tubuh, namun sumber terbesar dan terpenting adalah sel hati. Enzim ALT sebagian besar terikat dalam sitoplasma. Peningkatan nilai ALT (*Serum Glutamat Piruvat Transaminase*) dalam darah dikaitkan dengan kerusakan sel hati. Nilai ALT normal pada pria adalah < 42 U/L, sedangkan pada wanita < 32 U/L (Aeni, 2016).

2) AST (*Aspartat Aminotransferase*)

AST dikenal juga sebagai GOT (*Glutamat oxaloasetat*). Enzim ini ada pada sel-sel organ tubuh terutama otot jantung, kemudian pada sel-sel

hati, otot tubuh, ginjal, dan pankreas. AST sebagian besar terikat dengan organel, sisanya hanya sebagian kecil dalam sitoplasma. Prinsip kerja enzim AST yaitu:



AST mengkatalisis perpindahan gugus amino dari aspartat kepada 2-oksoglutarat untuk membentuk oksaloasetat dan glutamat. Dengan adanya NADH dan malat dehidrogenase maka oksaloasetat direduksi menjadi malat dan NAD. Reaksi diamati dengan mengikuti penurunan absorbansi atau penurunan konsentrasi NADH pada panjang gelombang 340 nm. Penurunan absorbansi ini proporsional dengan aktivitas katalitik AST. Nilai normal AST pada pria yaitu < 37 U/L, sedangkan pada wanita sebesar <31 U/L.

Sama halnya dengan ALT, AST mengkatalisis reaksi pemindahan gugus NH₂ ke asam oksoglutarat sehingga terbentuk asam glutamat. Sumber gugus amino bagi reaksi transaminase yang dikatalisis AST ialah suatu asam amino lain, yaitu asam aspartat. Akibatnya, sesudah reaksi transaminase asam amino ini berubah menjadi suatu asam alfa-keto yang lain yaitu asam oksaloasetat. Pada kerusakan hati yang disebabkan oleh keracunan atau infeksi, kenaikan aktivitas AST dapat mencapai 20-100 kali harga batas normal tertinggi (Aeni, 2016).

3. DNA

DNA (*Deoxyribo Nucleic Acid*) merupakan asam nukleat pembawa pesan genetik dalam kehidupan. Informasi genetik terletak di dalam inti sel dan tersusun rapi membentuk kromosom. Pola DNA penyusun kromosom inilah yang menentukan karakteristik sifat/jenis rambut, warna kulit dan sifat-sifat khusus yang berbeda antara satu individu dengan lainnya.

DNA terletak didalam sel. Oleh karena itu untuk mendapatkan DNA diperlukan tahap khusus yang biasanya dilakukan di laboratorium tertentu. Untuk mengeluarkan DNA dari sel maka teknik pemurnian DNA secara biokimia dilakukan dengan cara merusak dinding sel menggunakan larutan

bufer tertentu dan campuran berbagai jenis deterjen. Dengan terbukanya lapisan membran sel maka DNA dapat dikeluarkan dan diendapkan dengan penambahan alkohol (Puspitaningrum *et al.*, 2018).

Isolasi DNA merupakan serangkaian proses yang dilakukan untuk memisahkan DNA dari komponen-komponen sel seperti lipid, protein, dan RNA. Prinsip kerja isolasi dan purifikasi DNA terdiri atas 5 tahap yaitu: pemecahan membran sel, penghilangan protein, penghilangan RNA, presipitasi DNA, pengukuran kemurnian dan kuantitas DNA (Puspitaningrum *et al.*, 2018).

4. HBV DNA

Virus hepatitis B (HBV) adalah virus DNA, suatu prototip virus yang termasuk keluarga Hepadnaviridae. Virus ini memiliki DNA yang sebagian berupa untaian tunggal (single stranded DNA) dan DNA polymerase endogen yang berfungsi menghasilkan DNA untaian ganda (double stranded DN, dsDNA). Virion lengkap HBV terdiri atas suatu struktur berlapis ganda dengan diameter keseluruhan 42 nm. Bagian inti sebelah dalam (inner core) yang berdiameter 28 nm dan dilapisi selaput (envelop) yang tebalnya 7 nm mengandung dsDNA dengan berat molekul 1.6×10^6 . Bagian envelop yang mengelilingi core terdiri atas kompleks dengan sifat biokimia heterogen; bagian ini mempunyai sifat antigen berbeda dengan antigen core (HBcAg) dan disebut antigen permukaan hepatitis B surface antigen (HbsAg). HBsAg diproduksi dalam jumlah banyak oleh hepatosit yang terinfeksi dan dilepaskan ke dalam darah sebagai partikel bulat berukuran 17-25 nm (diameter rata-rata 20 nm) dan sebagai partikel tubuler berdiameter sama yang panjangnya berkisar antara 100-200 nm. Ada 8 genotip HBV yaitu genotip A hingga H (Yuwono, 2016).

Petanda serologik lain yang merupakan parameter lebih tepat untuk replikasi virus adalah HBV-DNA yang dapat dideteksi dengan teknik PCR dan menggunakan probe DNA. Alat PCR yang digunakan saat ini bermacam-macam. HBV-DNA adalah material genetik yang membawa cetak biru (blueprint) dari virus. Banyaknya HBV-DNA dalam darah mengindikasikan seberapa cepat virus bereplikasi dalam hati. Pengukuran ini sering juga

disebut "*viral load*". WHO telah mengeluarkan standard pengukuran HBV-DNA dan menyarankan penggunaan satuan international unit (IU)/mL atau copies/mL. Kadar HBV-DNA tinggi yang berkisar antara 100.000 hingga 1 juta atau lebih IU/ mL mengindikasikan replikasi virus yang cepat, sedangkan kadar rendah (<2000 IU/mL) mengindikasikan infeksi yang tidak aktif. Pada umumnya kadar 100.000 atau lebih dianggap bermakna. Pengukuran kadar HBV- DNA dalam serum secara longitudinal dapat digunakan sebagai prediktor progresivitas penyakit. Kadar HBV-DNA dalam perjalanan penyakit (juga dalam masa pengobatan) dapat berfluktuasi, dan pengukuran sesaat hanya menunjukkan kadar HBV-DNA pada saat itu (Yuwono, 2016).

5. Deteksi Asam Nukleat atau Materi Genetik

Metode ini digunakan untuk mendeteksi materi genetik atau asam nukleat virus. Metode yang biasa digunakan dalam mendeteksi asam nukleat antara lain metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dan sekuensing. Beberapa kelemahan metode ini yaitu memerlukan beberapa tahapan persiapan sampel, memerlukan staff yang terlatih dan juga harus dilakukan di fasilitas laboratorium minimal BSL-2. Sedangkan kelebihan dari metode ini yaitu waktu pengerjaan yang relatif cepat sekitar 4 – 6 jam, metode yang sensitive dan spesifik, dan juga dapat mendeteksi virus sejak awal masa infeksi atau inkubasi.

a. PCR (*Polymerase Chain Reaction*)

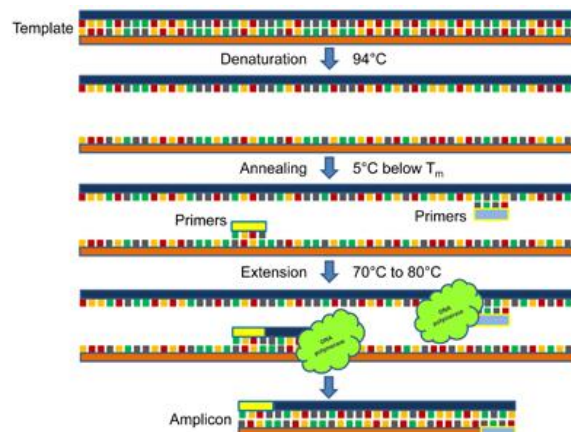
PCR merupakan metode perbanyakan template DNA atau complementary DNA (cDNA) secara *in vitro* dengan menggunakan enzim Taq Polymerase. Secara umum, beberapa komponen yang dibutuhkan untuk metode dan proses PCR adalah sebagai berikut:

- 1) *Taq Polymerase* berfungsi untuk membentuk untai DNA komplementer pada template DNA. Merupakan enzim DNA polymerase I yang bersifat stabil dalam rentang suhu yang beragam.
- 2) MgCl₂ berfungsi sebagai penyedia ion yang diperlukan untuk reaksi enzimatik.

- 3) *dNTP's (deoxynucleotide triphosphates)* yaitu bahan Nukleotida untuk membentuk untai DNA baru yang berisi adenin, cytosine, guanine dan thymine.
- 4) *Buffer* untuk memelihara pH optimal untuk kerja enzim
- 5) *Primers* merupakan komplemen yang spesifik terhadap DNA target, berupa oligonukleotida pendek. Primer bersifat spesifik terhadap DNA target terdiri dari 2 jenis primer yaitu sebagai berikut:
 - a) *Forward primer*: Menempel pada DNA anti-sense
 - b) *Reverse primer*: Menempel pada DNA sense
- 6) *Template DNA* yaitu DNA atau cDNA yang akan diperbanyak atau 10 diamplifikasi.

b. Proses PCR

Untuk mendapatkan DNA amplicon, proses amplifikasi DNA terdiri atas beberapa siklus berulang, umumnya 30 sampai 40 siklus. Beberapa tahap dalam satu siklus PCR dapat dilihat pada gambar berikut:



Sumber: (Lorenz, 2012)

Gambar 2.3 Prinsip Pemeriksaan PCR

1) Denaturasi

Yaitu proses pemanasan untuk memisahkan untai ganda DNA menjadi untai tunggal. Pada umumnya suhu yang diperlukan berkisar 90° – 95°C selama 60 detik.

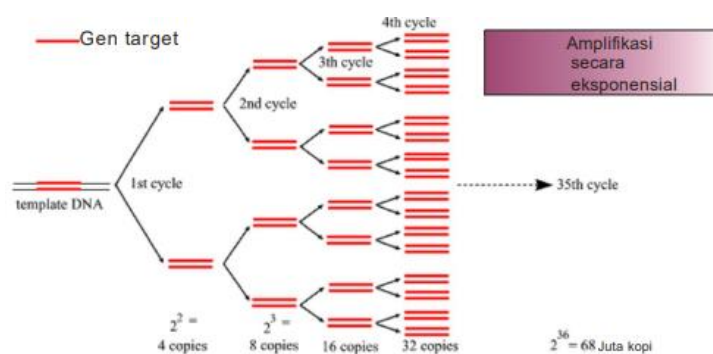
2) Annealing

Yaitu penempelan primer Reverse dan Forward pada untai tunggal DNA target. Umumnya suhu yang digunakan yaitu 50° sampai 60°C dengan waktu 30 – 45 detik.

3) Elongasi

Yaitu perpanjangan untai DNA baru oleh enzim Taq Polymerase menggunakan dNTP's (adenine, cytosine, guanine dan thymine). Umumnya suhu yang digunakan adalah 72°C dengan waktu 1-2 menit.

Urutan basa nukleotida yang diamplifikasi dalam satu siklus PCR akan menjadi dua kali jumlah awal, sehingga diperoleh 2^n kali DNA target dalam setiap n siklus PCR. Metode ini cukup sensitif dengan memerlukan waktu yang singkat dan dapat menghasilkan jutaan kopi salinan DNA (amplicon) (Agustiningsih *et al.*, 2020).



Sumber: (Kusuma, 2010)

Gambar 2.4 Proses Amplifikasi dalam PCR

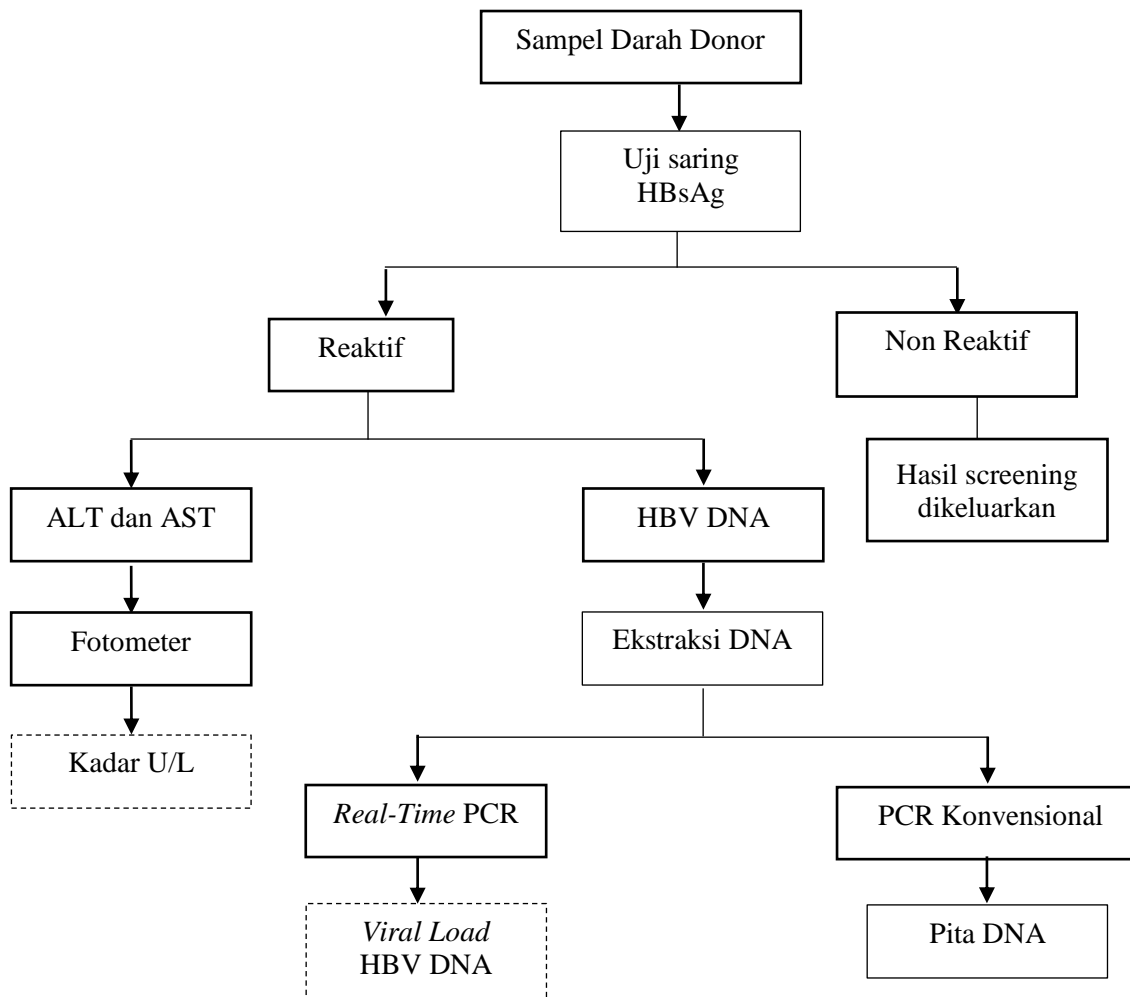
6. Real-Time PCR

Real-Time PCR adalah suatu Teknik amplifikasi DNA yang menggunakan fluorogenic probe pada tiap siklusnya sehingga produk amplifikasi dapat langsung dianalisis (Agustiningsih *et al.*, 2020). Teknik Real-Time PCR merupakan hasil pengembangan PCR konvensional yang dapat melakukan pemantauan amplifikasi DNA secara langsung (Real-Time). Proses amplifikasi DNA dideteksi berdasarkan sinar fluoresensi yang digunakan sebagai indikator amplifikasi DNA. Sinyal fluoresensi yang terpancar berbanding lurus dengan jumlah amplicon atau produk PCR (Artika, 2023).

Kelebihan dari Real-Time PCR yaitu waktu pengerjaan lebih cepat, memiliki sensitifitas tinggi, dan dapat menganalisis secara kuantitatif. Analisis kuantitatif dapat dilakukan menggunakan *Real-Time* PCR dengan hasilnya menyertakan *viral load* jumlah DNA (Agustiningsih *et al.*, 2020). Tes *viral load* kuantitatif adalah tes laboratorisalsaum yang dapat mengukur

kuantitas DNA yang terdeteksi pada DNA target. *Viral load* berguna untuk mengetahui sejauh mana infeksi aktif, interaksi virus dengan inang, respons terhadap terapi antiviral, dan memantau tingkat keparahan penyakit. Tingkat keparahan beberapa penyakit telah terbukti berkorelasi dengan *viral load* sehingga penghitungan PCR secara *Real-Time* tidak hanya berguna untuk mengetahui keberadaan virus tetapi juga peran reaktivasi atau persistensi virus dalam perkembangan penyakit (Pandey *et al.*, 2023).

B. Kerangka Teori

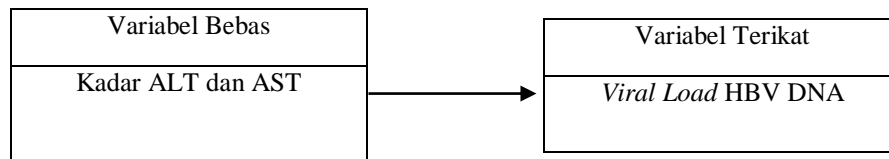


Keterangan :

————— : Tidak diteliti

- - - - - : Diteliti

C. Kerangka Konsep



D. Hipotesis

H₀ : Tidak ada hubungan kadar ALT dan AST terhadap *viral load* HBV DNA darah donor di UDD Pembina PMI Provinsi Lampung

H_a : Ada hubungan kadar ALT dan AST terhadap *viral load* HBV DNA pada darah donor di UDD Pembina PMI Provinsi Lampung.