

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Virus Hepatitis B (HBV) merupakan virus DNA yang dapat menimbulkan berbagai efek klinis, mulai dari infeksi akut dan kronis hingga sirosis dan karsinoma hepatoseluler (Hadi & Alamudi, 2017). HBV dapat ditularkan melalui perantara darah dan berbagai cairan tubuh lainnya, termasuk saliva, air mata, semen dan cairan vagina. Penularannya dapat terjadi melalui hubungan seksual, parenteral, serta transmisi vertikal dari ibu ke anak saat kelahiran. Infeksi HBV yang diperoleh saat kelahiran, terutama melalui transmisi vertikal, memiliki kecenderungan untuk berkembang menjadi infeksi kronis. Infeksi HBV membawa dampak serius terhadap kesehatan secara global dan tersebar di hampir seluruh penjuru dunia (Pradnyawati *et al.*, 2018).

Menurut *World Health Organization* (WHO), Hepatitis B adalah jenis virus Hepatitis yang paling berbahaya dan merupakan tantangan utama dalam konteks kesehatan global. Pada tahun 2019 diperkirakan sekitar 296 juta orang mengalami infeksi kronis Hepatitis B di seluruh dunia, dengan sekitar 1,5 juta orang terinfeksi setiap tahunnya. Pada tahun yang sama diperkirakan terdapat sekitar 820.000 kasus kematian akibat penyakit ini secara global (WHO, 2020).

Dari data Riskesdas (2018), jumlah orang yang didiagnosis menderita Hepatitis di Indonesia mencapai sekitar 1.017.290 jiwa, sementara di Provinsi Lampung pada tahun yang sama tercatat sekitar 31.462 orang yang terkena Hepatitis. Untuk wilayah Kota Bandar Lampung sendiri, terdapat sekitar 3.878 kasus Hepatitis, berdasarkan data yang dikumpulkan pada tahun 2018 (Kemenkes RI, 2018).

Deteksi tingkat HBV-DNA bisa mengidentifikasi keberadaan infeksi virus Hepatitis B yang sedang aktif (Primadharsini & Wibawa, 2012). Pemeriksaan *gold standard* untuk mendiagnosis hepatitis B adalah penentuan kadar DNA virus Hepatitis B, dan kadarnya dijadikan acuan untuk memulai terapi antivirus pada pasien yang mengidap hepatitis B

(Hanjoyo *et al.*, 2021). DNA sebagai materi genetik berperan penting dalam mengatur aktivitas biologis dalam tubuh makhluk hidup. Molekul DNA yang terkandung dalam sel dapat diekstraksi atau diisolasi dari berbagai sumber, termasuk organ, jaringan, dan darah. Ekstraksi atau isolasi ini dilakukan untuk tujuan tertentu, misalnya untuk proses seperti amplifikasi dan analisis DNA. Tujuan dari langkah isolasi DNA adalah untuk memisahkan DNA dari komponen lain seperti protein, lemak, dan karbohidrat serta untuk memurnikan DNA. Keberhasilan analisis molekuler sangat dipengaruhi oleh jumlah DNA yang berhasil diisolasi. Setelah itu, DNA yang telah diisolasi akan diperiksa untuk menentukan kuantitas dan kualitasnya, juga untuk mengukur konsentrasi dan kemurniannya (Lio *et al.*, 2021).

Parameter pemeriksaan yang digunakan untuk pengukuran kualitas dan kuantitas DNA, diperlukan agar dapat menilai tingkat kualitas DNA, yang selanjutnya membantu menentukan pengenceran yang tepat. Pengenceran ini diperlukan agar konsentrasi DNA yang seragam untuk digunakan dalam analisis PCR (Muzuni *et al.*, 2014). *Polymerase Chain Reaction* (PCR) merupakan teknologi yang mampu memperbanyak fragmen DNA secara enzimatik yang terkandung dalam kompleks makromolekul genom dari berbagai sumber (hewan, tumbuhan, bakteri, dan virus). Teknologi ini juga terkenal dengan sensitivitasnya yang tinggi karena hanya membutuhkan sedikit sampel DNA untuk mendapatkan jutaan salinan DNA baru (Budiarto, 2015).

Salah satu sampel DNA yang umumnya digunakan yaitu berasal dari darah, baik dalam bentuk darah lengkap maupun serum. *Whole blood* merupakan produk darah yang terdiri dari komponen utama seperti sel darah merah, leukosit, trombosit, dan plasma darah. Satu kantong *whole blood* memiliki volume 350 ml darah dan 49 ml antikoagulan. Pemberian *whole blood* biasanya dilakukan kepada pasien dengan perdarahan akut dan masif, dengan kehilangan darah mencapai lebih dari 25-30% dari total volume darah (Widyaswara *et al.*, 2023). Umumnya, *whole blood* akan

segera diolah menjadi PRC (*Packed Red Cells*), namun ada juga yang disimpan terlebih dahulu karena berbagai alasan (Yuliandari, 2021). Untuk menjaga kondisi supaya tidak rusak, maka sampel darah biasanya ditempatkan di dalam lemari pendingin (*refrigerator*) dengan suhu 2-8°C. Penundaan proses pemeriksaan dapat menyebabkan perubahan hasil uji karena darah memiliki sifat yang rentan rusak jika dibiarkan dalam kondisi yang tidak ideal (Queen *et al.*, 2014).

Ketika darah utuh disimpan, sifat biokimia dan fisik sel darah merah berubah karena kondisi penyimpanan menyebabkan kerusakan struktural/morfologis. Hal inilah yang disebut sebagai lesi penyimpanan (*storage lesion*), di mana hemolisis pada sel darah merah dapat terjadi selama masa penyimpanan. Tingkat hemolisis bergantung pada kondisi fisik pendonor, jenis antikoagulan yang digunakan, dan lama penyimpanan (Halim *et al.*, 2019).

Lamanya waktu penyimpanan merupakan salah satu faktor yang dapat merusak sel darah dan menurunkan kemurnian DNA. Penurunan kadar dan kemurnian DNA dapat disebabkan oleh penyimpanan yang lama, karena hal tersebut dapat merusak pada sel darah dan DNA akibat degradasi, baik secara alami maupun oleh mikroorganisme (Lio *et al.*, 2021).

Penelitian sebelumnya oleh (Lio *et al.*, 2021), tentang pengaruh waktu penyimpanan sampel serum terhadap kuantitas dan kualitas DNA: pengamatan selama 1 tahun. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan antara kadar dan kemurnian DNA yang diisolasi dari serum sebelum dan sesudah penyimpanan selama 1 tahun dalam lemari pendingin dengan suhu -4°C. Berdasarkan perbedaan tersebut maka dapat disimpulkan bahwa ada pengaruh waktu penyimpanan serum terhadap kuantitas dan kualitas DNA.

Penelitian lain juga oleh (Huang *et al.*, 2017), tentang pengaruh suhu penyimpanan dan lama penyimpanan sampel darah terhadap kualitas DNA dan RNA. Hasil penelitian ini menyatakan bahwa DNA resisten

dalam waktu 15 hari bila disimpan dalam darah lengkap (*Whole Blood*), kuantitas DNA menurun drastis karena lisis sel darah putih. Selain itu, status metilasi DNA dapat berubah secara signifikan seiring dengan durasi penyimpanan.

Berdasarkan penelitian sebelumnya tentang pengaruh suhu penyimpanan sampel darah terhadap kualitas DNA dan RNA, maka perbedaan yang akan dilakukan pada penelitian ini yaitu menggunakan sampel darah donor HBV positif, perbedaan waktu penyimpanan dan menggunakan metode *Real-Time* PCR. Berdasarkan uraian diatas, penulis tertarik untuk meneliti tentang pengaruh waktu penyimpanan sampel *whole blood* terhadap kuantitas HBV DNA dengan metode *Real-Time* PCR.

B. Rumusan Masalah

Rumusan masalah penelitian ini adalah, adakah pengaruh waktu penyimpanan sampel *whole blood* terhadap kuantitas HBV DNA dengan metode *Real-Time* PCR.

C. Tujuan Penelitian

1. Tujuan Umum

Untuk mengetahui apakah ada hubungan pengaruh waktu penyimpanan sampel *whole blood* terhadap kuantitas HBV DNA dengan metode *Real-Time* PCR.

2. Tujuan Khusus

- a) Mengetahui kuantitas HBV DNA sebelum dan sesudah penyimpanan sampel *whole blood* dengan metode *Real-Time* PCR.
- b) Mengetahui pengaruh variasi waktu penyimpanan kuantitas HBV DNA positif menggunakan metode *Real-Time* PCR.

D. Manfaat Penelitian

1. Manfaat Teoritis

Penelitian ini memberikan manfaat teoritis terkait dengan pengaruh penyimpanan sampel *whole blood* terhadap kuantitas HBV DNA positif.

2. Manfaat Aplikatif

a. Bagi Peneliti

Hasil penelitian dijadikan sebagai tambahan wawasan dan pengetahuan dalam melakukan penelitian mengenai pengaruh waktu penyimpanan sampel *whole blood* terhadap kuantitas HBV DNA dengan metode *Real-Time PCR*.

b. Bagi Institusi Pendidikan

Memberikan informasi dan sebagai referensi terkait dengan pengaruh waktu penyimpanan sampel *whole blood* terhadap kuantitas HBV DNA dengan metode *Real-Time PCR*.

E. Ruang lingkup Penelitian

Ruang lingkup penelitian ini adalah dalam bidang Biologi Molekuler. Jenis penelitian yang digunakan bersifat *eksperimental*. Variabel penelitian ini terdiri dari variabel bebas yaitu pengaruh waktu penyimpanan sampel *whole blood* dan variabel terikat yaitu kuantitas HBV DNA dengan metode *Real-Time PCR*. Populasi pada penelitian ini adalah sampel darah HBV positif yang disimpan dengan variasi waktu penyimpanan 1, 3, dan 7 hari. Sampel pada penelitian ini berupa darah HBV positif yang diambil di UDD Pembina PMI Provinsi Lampung. Metode penelitian ini menggunakan metode *Real-Time PCR* untuk menguji kuantitas HBV DNA dengan variasi waktu penyimpanan. Lokasi penelitian dilakukan di Laboratorium Biologi Molekuler Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Tanjungkarang. Waktu penelitian dari bulan Maret-April 2024. Analisis data yang digunakan adalah bivariat.