

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

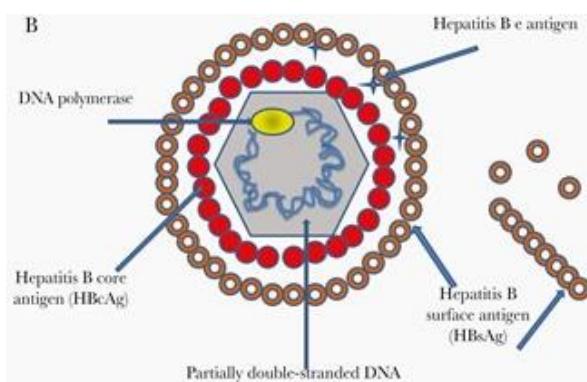
#### A. Tinjauan Teori

##### 1. Hepatitis B

Penyakit hepatitis ditandai dengan peradangan atau kerusakan jaringan hati yang dapat disebabkan oleh infeksi virus, penggunaan obat-obatan, paparan terhadap zat beracun, gangguan metabolisme, atau kelainan sistem kekebalan tubuh. Di antara penyebab-penyebab tersebut, infeksi virus adalah penyebab yang paling sering ditemukan pada penyakit hepatitis (Siswanto, 2020). Salah satu jenis hepatitis yang menjadi masalah kesehatan didunia adalah hepatitis B. Hepatitis B adalah infeksi hati yang disebabkan oleh Hepatitis B Virus (HBV), dapat menjadi penyakit akut atau kronis dan dapat menyebabkan radang hati, gagal hati, sirosis hati, kanker hati dan kematian (Jade Pattyn *et al*, 2021).

###### a. Etiologi

Hepatitis B yang disebabkan oleh virus hepatitis B, awalnya disebut partikel Dane. Virus hepatitis B adalah virus DNA onkogenik terdiri dari inti nukleokapsid, dikelilingi oleh lapisan lipoprotein luar (amplop). Virus hepatitis B mengandung 3 antigen struktural primer yaitu permukaan (HBsAg), inti (HBcAg), dan e (HBeAg). HBsAg diproduksi dalam jumlah banyak dan ditemukan dalam darah individu yang terinfeksi dalam bentuk partikel bulat dan tabung yang berukuran sekitar 22 nm (Jade Pattyn *et al*, 2021).

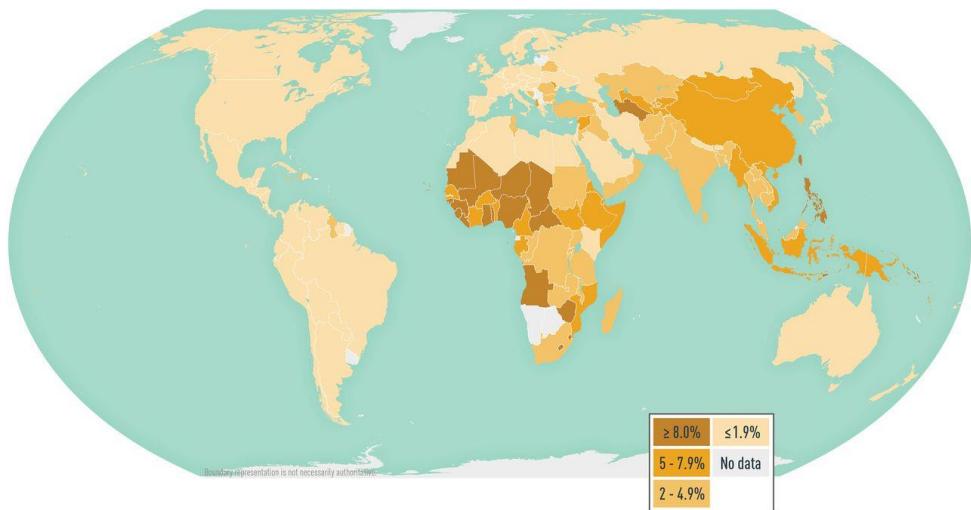


Sumber : (Jade Pattyn, 2021)

Gambar 2. 1 Partikel HBV dan Antigen Permukaan

## b. Epidemiologi Hepatitis B

Hepatitis B Virus (HBV) merupakan penyebab utama hepatitis kronis, sirosis, dan karsinoma hepatoseluler di seluruh dunia. Tahun 2015, diperkirakan ada 257 juta orang di seluruh dunia hidup dengan infeksi virus hepatitis B kronis, yang menyebabkan sekitar 887.000 kematian pada tahun itu (CDC, 2024).

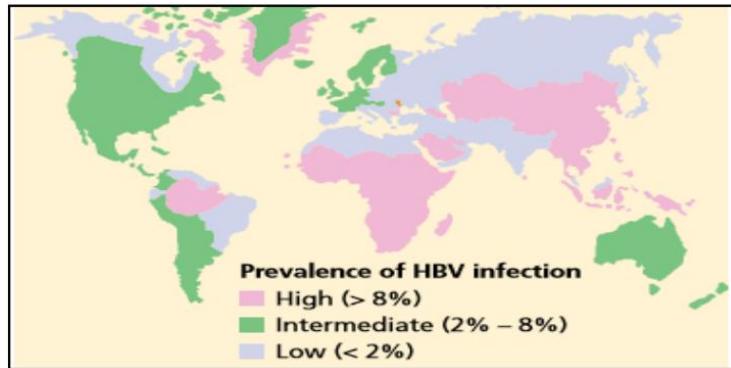


Sumber : (CDC Yellow Book, 2024)

Gambar 2. 2 Estimasi Beban Penyakit Virus Hepatitis B Tahun 2021

Pada tahun 2022, 30 negara Uni Eropa/EEA melaporkan 28.855 kasus infeksi virus hepatitis B (HBV). Tidak termasuk tiga negara yang hanya melaporkan kasus akut, jumlah kasus (28.420) sesuai dengan tingkat pemberitahuan kasar 8,5 kasus per 100.000 penduduk. Dari semua kasus yang dilaporkan, 1.971 (7%) dilaporkan sebagai kasus akut, 11.388 (40%) sebagai kasus kronis, 13.674 (47%) tidak diketahui dan 1.822 (6%) tidak dapat diklasifikasikan karena data agregat yang menggabungkan kasus akut dan kronis.

Prevalensi HBV diklasifikasikan menjadi beberapa kelompok berdasarkan prevalensi HBsAg yaitu tinggi ( prevalensi diatas 8%) sedang (2-7%) dan rendah (dibawah 2%) (Setyoboedi B. dkk, 2022).



Sumber : (Yulia Dwi, 2019)

Gambar 2. 3 Prevalensi Infeksi Virus Hepatitis B

Secara global, sekitar 400 juta orang terinfeksi virus hepatitis B, dengan sekitar 170 juta tinggal di kawasan Asia-Pasifik. Cina memiliki tingkat infeksi tertinggi, dengan sekitar 93 juta orang terinfeksi, dan Indonesia memiliki tingkat prevalensi tertinggi ketiga, berkisar antara 5% hingga 17%, setelah Cina dan India (Yulia Dwi, 2019).

#### c. Penularan Hepatitis B

Virus Hepatitis B (HBV) menyebar melalui darah atau cairan tubuh yang terinfeksi. Penularannya melalui hubungan seks tanpa pengaman dengan orang yang terinfeksi, berbagi jarum suntik atau peralatan medis yang tidak steril, transfusi darah dengan orang yang terinfeksi, dan penularan dari ibu hamil ke bayinya selama kehamilan atau persalinan (ECDC, 2024).

#### d. Patogenesis Hepatitis B

Sel hati merupakan organ yang menjadi target bagi virus Hepatitis B. Virus awalnya menempel pada reseptor spesifik pada membran sel hati, kemudian menembus sitoplasma dan melepaskan nukleokapsid. Nukleokapsid akan menembus sel dinding hati, sehingga asam nukleat virus akan keluar dari nukleokapsid dan akan menempel serta menyatu dengan DNA inang. Selanjutnya, DNA dari virus tersebut memerintahkan sel hati untuk membentuk protein bagi virus baru. Virus Hepatitis B dilepaskan ke dalam aliran darah dan terjadi mekanisme kerusakan hati kronis akibat respons imunologis penderita terhadap infeksi (Mustofa & Kurniawaty, 2013).

Replikasi virus hepatitis B (HBV) tidak secara langsung merusak sel, seperti yang terlihat dari banyaknya pembawa HBV asimptomatik yang hanya mengalami kerusakan ringan. Respons imun tubuh memegang peranan penting dalam kerusakan hepatosit dan proses pembersihan virus. Respons imun ini dimediasi oleh respons seluler terhadap epitop protein HBV, terutama HBsAg, yang ditransfer ke permukaan sel hati (Hardjoeno, 2007).

Patofisiologi hepatitis B terbagi dalam lima fase. Fase pertama, fase imunotoleransi, ditandai dengan sistem imun yang menghambat replikasi virus hepatitis B (HBV). Pada fase ini, HBV DNA, HBeAg, dan HBsAg dilepaskan dan dapat dideteksi dalam serum. Fase kedua adalah fase imun reaktif, di mana HBeAg positif, kadar alanine transferase (ALT) meningkat, Anti HBc IgM mulai diproduksi, dan HBV DNA, HBeAg, dan HBsAg meningkat. Fase ketiga adalah fase replikasi menurun, yang ditandai dengan rendahnya HBV DNA dan HBeAg negatif, tetapi HBsAg masih ada. Kondisi ini dikenal sebagai keadaan pembawa tidak aktif, di mana terdapat risiko (10-20%) untuk reaktivasi menjadi aktif kembali. Fase keempat adalah fase HBeAg negatif, di mana virus yang mengalami mutasi pada daerah precore dan core promoter genom tetap aktif bereplikasi, sehingga komplikasi atau kerusakan hati terus berlanjut. Fase kelima ditandai dengan HBsAg negatif dan replikasi virus berhenti, tetapi HBV masih berisiko menular karena berpotensi untuk reaktif (Yulia Dwi, 2019).

e. Gejala Hepatitis B

Infeksi virus Hepatitis B dapat menyebabkan hepatitis akut, yang umumnya sembuh tanpa pengobatan khusus dan memberikan kekebalan terhadap penyakit tersebut, tetapi juga dapat berkembang menjadi hepatitis kronis. Gejala penyakit hepatitis B akut meliputi (Kemenkes, 2022) :

- 1) Penurunan selera makan Kulit dan mata menguning (penyakit kuning)
- 2) Rasa mual dan muntah
- 3) Gejala mirip flu, seperti kelelahan, nyeri tubuh, sakit kepala, dan demam tinggi
- 4) Nyeri di daerah perut

5) Kulit dan mata menguning (penyakit kuning)

Sebagian besar pasien hepatitis B kronis tidak mengalami gejala. Namun, beberapa mungkin merasakan kelemahan dan ketidaknyamanan di perut kanan atas.

f. Pencegahan Hepatitis B

Perlindungan terbaik untuk mencegah Hepatitis B adalah dengan vaksin hepatitis B, yang dikembangkan untuk imunisasi hepatitis B yang diberikan kepada bayi. Vaksinasi pada bayi (0-7 hari) telah berhasil mengurangi perkembangan penyakit ini secara signifikan. Cara lain untuk mencegah penyakit hepatitis B adalah (Hasdianah, 2012) :

- 1) Tidak berganti-ganti pasangan.
- 2) Melakukan skrining hepatitis B pada ibu hamil agar bayi dan janin dapat menerima imunoglobulin hepatitis B dan vaksin hepatitis B dalam waktu 12 jam setelah kelahiran.
- 3) Tidak melakukan donor darah jika didiagnosa hepatitis B.
- 4) Melakukan vaksinasi hepatitis B

## 2. Transferin

a) Definisi dan Fungsi

Transferin adalah glikoprotein yang mengandung dua domain pengikat besi yang homolog yang masing-masing mengikat satu Fe. Transferin adalah glikoprotein yang terdapat dalam plasma darah dan memiliki peran penting dalam metabolisme zat besi, serta bertanggung jawab untuk pengangkutan ion besi. Transferin mengangkut zat besi melalui aliran darah ke berbagai jaringan, termasuk hati, limpa, dan sumsum tulang. Selain itu, transferin juga berfungsi sebagai penanda biokimia yang penting untuk menilai status zat besi dalam tubuh (Ogun Adeyinka, 2022).

Hepatosit menghasilkan serum transferin, yang ditemukan dalam serum, cairan serebrospinal, dan air mani. Tingkat pergantian kompleks zat besi yang terikat transferin sekitar sepuluh kali sehari, penting untuk memenuhi kebutuhan eritropoiesis harian. Oleh karena itu, transferin bertindak sebagai penyeimbang antara pelepasan zat besi retikuloendotelial dan penyerapan sumsum tulang. Setelah zat besi terikat pada transferin, zat

besi diangkut oleh transferin ke sumsum tulang untuk produksi hemoglobin dan sebagian eritrosit. Tubuh kehilangan zat besi melalui keringat, deskuamasi sel epitel, dan menstruasi. Kehilangan zat besi bersifat wajib, dan tidak ada cara khusus untuk mengurnya. Oleh karena itu, homeostasis zat besi sangat bergantung pada regulasi ketat penyerapan, yang sebagian besar terjadi di usus proksimal. Transferin yang terikat zat besi berperan penting dalam distribusi zat besi ke berbagai sel tubuh (Ogun Adeyinka, 2022).

Jumlah transferin dalam darah menunjukkan jumlah zat besi dalam tubuh. Transferin yang tinggi menandakan zat besi yang rendah, yang berarti terdapat lebih sedikit zat besi yang terikat pada transferin, yang memungkinkan sirkulasi tinggi transferin-zat besi yang tidak terikat dalam tubuh, yang menunjukkan kemungkinan anemia kekurangan zat besi. Hati meningkatkan produksi transferin sebagai bentuk homeostatis untuk memungkinkan transferin mengikat zat besi dan mengangkutnya ke sel-sel. Penyebab rendahnya transferin adalah (Ogun Adeyinka, 2022):

- 1) Kerusakan hati yang menyebabkan berkurangnya produksi transferin.
- 2) Gangguan atau cedera ginjal yang menyebabkan hilangnya transferin dalam urin.
- 3) Infeksi.
- 4) Keganasan.
- 5) Atransferinemia, yaitu Mutasi genetik yang mengakibatkan tidak adanya transferin, yang menyebabkan hemosiderosis di jantung dan hati, yang dapat menyebabkan gagal jantung dan hati.

Fungsi transferin mencakup beberapa aspek penting, antara lain:

1. Pelarut zat besi, dalam bentuk  $\text{Fe}^{3+}$  zat besi tidak larut pada pH netral, namun ketika terikat dengan transferin, zat besi tersebut menjadi larut.
2. Mengangkut dan mendistribusikan zat besi ke seluruh jaringan biologis, menghubungkan lokasi penyerapan, penggunaan, dan penyimpanan.
3. Membantu menghindari pembentukan oksigen reaktif yang dapat merusak sel-sel.

4. pengikat zat besi beracun, transferin berfungsi sebagai pelindung yaitu dengan mengikat zat besi beracun yang bebas.
5. pengiriman makrofag (sel darah putih) ke seluruh jaringan tubuh.
6. Berperan sebagai sistem imun bawaan, yaitu dengan pengikatan transferin pada zat besi untuk menghambat kelangsungan hidup bakteri.
7. Sebagai penanda peradangan, biasanya kadar transferin menurun selama kondisi inflamasi.

**b) Kadar Transferin Normal**

Kisaran referensi laboratorium untuk transferin adalah 204-360 mg/dL atau 2,04-3,6 mg/ml. Transferin berfungsi untuk menilai kadar zat besi dalam tubuh serta penanda lainnya. Pengujian kadar transferin berguna untuk mengidentifikasi penyebab anemia, memeriksa metabolisme zat besi, dan menentukan kapasitas pengangkut zat besi dalam darah. Kadar saturasi transferin tidak dapat diinterpretasikan secara terpisah. Kadar tersebut harus dipertimbangkan bersama dengan pemeriksaan laboratorium lain, seperti feritin serum dan total kapasitas pengikatan zat besi (Ogun Adeyinka, 2022).

### **3. Hemoglobin**

**a) Definisi dan Fungsi Hemoglobin**

Sel darah merah terdiri sekitar 65% air dan 35% hemoglobin. Hemoglobin merupakan komponen penting dalam sel darah merah yang terdiri dari heme dan globin. Komponen ini berisi besi dan sangat penting bagi sistem peredaran darah manusia karena bertugas mengangkut oksigen dari paru-paru ke seluruh jaringan tubuh dan mengangkut karbon dioksida dari jaringan kembali ke paru-paru (Maharani, Mardela, 2020).

Hemoglobin merupakan komponen utama sel darah merah (eritrosit) yang bertanggung jawab atas warna merah pada darah. Intensitas warna ini bervariasi tergantung dua faktor (Maharani, Mardela, 2020) :

1. Kandungan Hemoglobin: Semakin tinggi kadar hemoglobin dalam sel, semakin cerah warna merahnya.

2. Pengiriman oksigen adalah fungsi utama hemoglobin, yang juga berperan dalam menarik karbon monoksida (CO) dari jaringan dan menjaga keseimbangan pH darah.

Setiap molekul hemoglobin mampu berikatan dengan satu molekul oksigen di dalam alveoli paru-paru, berkat afinitas tinggi terhadap oksigen di lingkungan tersebut. Dalam sirkulasi, deoksihemoglobin mengangkut dan melepaskan oksigen ke jaringan dengan afinitas rendah. Proses ini dipengaruhi oleh 2,3-DPG yang merusak jembatan saat oksigen dilepaskan, sehingga memungkinkan hemoglobin untuk kembali mengikat oksigen (Kiswari, 2014).

#### b) Struktur dan Sintesis Hemoglobin

Hemoglobin terdiri dari dua bagian penting yaitu heme dan globin beserta unsur-unsur struktural lainnya (Kiswari, 2014).

##### 1. Heme

Heme merupakan struktur yang mencakup empat atom besi dalam bentuk  $\text{Fe}^{2+}$ , yang dikelilingi oleh cincin protoporfirin IX. Protoporfirin IX merupakan produk akhir dalam sintesis molekul heme. Proses pembentukan heme terjadi melalui interaksi antara suksinil koenzim A dan asam delta-aminolevulinat dalam mitokondria eritrosit, dengan beberapa bagian seperti porfobilinogen, uroporfirinogen, dan koproporfirin. Besi kemudian bergabung dengan protoporfirin untuk membentuk molekul heme yang lengkap. Kekurangan pada salah satu bagian dapat mengganggu fungsi hemoglobin.

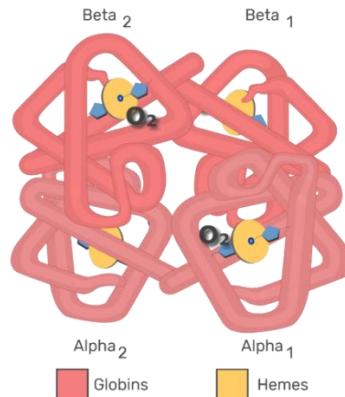
##### 2. Globin

Globin tersusun atas rantai polipeptida yang tersusun dari asam amino. Hemoglobin pada orang dewasa terdiri dari rantai alfa yang memiliki 141 asam amino dan rantai beta yang memiliki 146 asam amino. Heme dan globin saling terikat melalui reaksi kimia.

##### 3. Struktur Tambahan

Selain komponen utama, hemoglobin juga didukung oleh 2,3-difosfogliserat (2,3-DPG) yang diproduksi selama glikolisis. Molekul ini

sangat penting dalam mengatur seberapa erat oksigen mengikat hemoglobin.



Sumber: (Sofro, 2012)  
Gambar 2. 4 Struktur Hemoglobin

Pembentukan hemoglobin (Hb) di dalam sitoplasma sel terjadi bersamaan dengan proses sintesis DNA di dalam inti sel. Hemoglobin, sebagai komponen utama dalam sitoplasma eritrosit, terdiri dari globin, zat besi (Fe), dan protoporfirin. Globin disintesis di sekitar ribosom, sedangkan protoporfirin dibentuk di dalam mitokondria, dan zat besi diperoleh dari transferin. Jika terjadi gangguan pada pengikatan zat besi untuk sintesis hemoglobin, eritrosit yang dihasilkan akan memiliki sitoplasma yang kecil (mikrositer) dan kadar hemoglobin yang rendah (hipokrom) (Kiswari, 2014).

Sintesis hemoglobin dimulai dari tahap eritroblas dan berlanjut hingga tahap normoblas serta retikulosit. Heme, yang merupakan bagian penting dari hemoglobin, terutama disintesis dari asam asetat dan gliserin, dengan sebagian besar proses ini berlangsung di mitokondria. Proses dimulai dengan pembentukan senyawa pirol, di mana empat senyawa pirol kemudian bergabung untuk membentuk protoporfirin yang berikatan dengan besi, menghasilkan molekul heme. Akhirnya, empat molekul heme berikatan dengan satu molekul globin, yaitu suatu protein globulin yang disintesis di ribosom retikulum endoplasma—untuk membentuk hemoglobin (Maharani, Mardela, 2020). Perubahan warna sitoplasma dari biru tua menjadi ungu

menunjukkan sintesis ini berlangsung. Sekitar 65% hemoglobin disintesis sebelum inti eritrosit menghilang, sementara 35% sisanya terbentuk pada tahap retikulosit, sehingga eritrosit yang matang normal mengandung hemoglobin yang lengkap (Kiswari, 2014).

Jika tubuh mengalami defisiensi zat besi, sintesis heme terganggu sehingga hemoglobin yang dihasilkan menjadi tidak sempurna, sehingga heme tidak mengandung zat besi (protoporfirin bebas), karena zat besi tidak cukup molekul protoporfirin IX tetap terbentuk tetapi tidak bisa mengikat  $\text{Fe}^{2+}$ . Akibatnya, hemoglobin gagal mengikat oksigen dengan baik, menyebabkan hipokromia (warna pucat pada eritrosit). Dan zat besi akan digantikan oleh Ion lain ( $\text{Zn}^{2+}$  atau  $\text{Cu}^{2+}$ ), tetapi interaksi dengan oksigen menjadi tidak efektif. Sehingga menyebabkan gangguan transportasi oksigen dalam darah dan meningkatkan risiko hipoksia

Sel darah merah umumnya hidup selama 120 hari. Proses penuaan sel darah merah (senescence) ditandai dengan berkurangnya atau berhentinya aktivitas enzim (contohnya, enzim glikolisis), hilangnya kemampuan sel untuk berubah bentuk, peningkatan konsentrasi *mean corpuscular hemoglobin concentration* (MCHC), perubahan bentuk sel darah merah menjadi bulat, dan penurunan *mean corpuscular volume* (MCV). Sekitar 90% kerusakan sel darah merah yang menua terjadi melalui proses hemolisis ekstravaskular, di mana makrofag histiosit mononuklear mengambil dan mendaur ulang sel-sel tersebut (Maharani, Mardela, 2020).

Selain menghancurkan eritrosit tua, makrofag dalam limpa menyerap eritrosit yang mati dan eritrosit yang memiliki kelainan. Dalam kondisi normal, sel darah merah yang mengalami senescence dan heme akan ditelan oleh sel-sel sistem retikuloendotelial. Molekul globin kemudian diubah menjadi asam amino dan dapat didaur ulang atau mengalami katabolisme (Maharani, Mardela, 2020).

#### 4. Hubungan Hepatitis B dengan Transferin

Hati adalah organ penyimpanan utama untuk zat besi. Sekitar sepertiga dari total zat besi tubuh disimpan dalam hepatosit, sel mesenkim sinusoidal, dan sel retikuloendotelial. Hati juga memainkan peran mendasar dalam mendaur ulang zat besi karena organ tersebut mensintesis transferin (protein pengangkut utama) dan feritin (protein penyimpanan utama). Kerusakan dan disfungsi hati dapat menyebabkan ketidakseimbangan kadar zat besi. Zat besi berlebih yang terakumulasi di hati memperburuk kerusakan dengan memicu kematian sel-sel hati (nekrosis hepatoseluler), peradangan, fibrosis, dan bahkan karsinoma (Mao Wei L. *et al*, 2015).

Infeksi virus hepatitis B kronis yang disertai atau tidak disertai cedera hati, dapat menjadi cerminan perubahan patologis pada organ, seperti hati, yang terlibat dalam metabolisme besi. Cedera hati dapat menyebabkan pelepasan lebih banyak feritin ke dalam plasma dan mengurangi produksi transferin, sehingga kadar transferin serum menjadi rendah. Hal ini akan mengurangi pengangkutan zat besi ke hati, eritrosit, atau keduanya dan meningkatkan zat besi serum (Mao Wei L. *et al*, 2015).

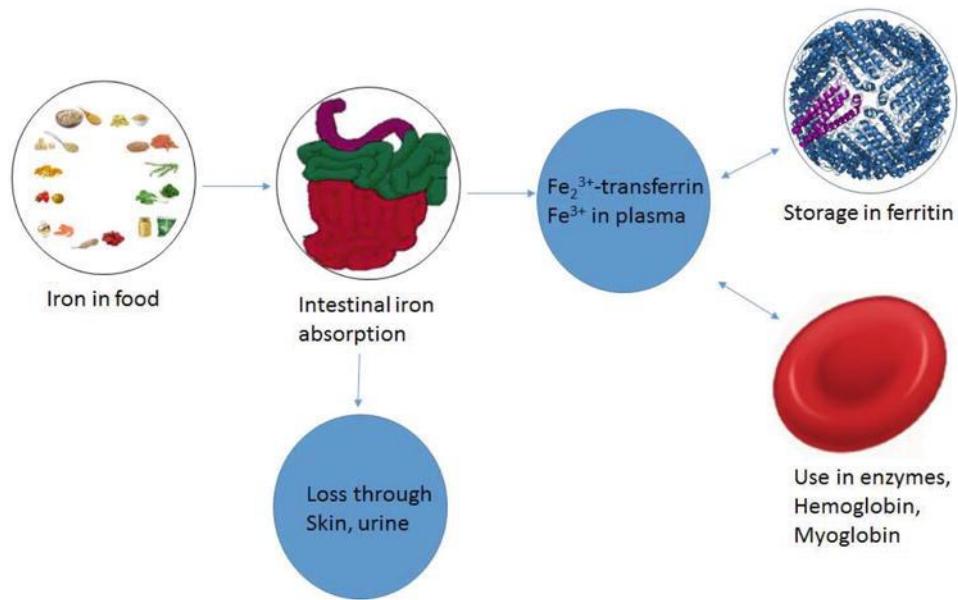
#### 5. Hubungan Transferin dengan Hemoglobin

Transferin adalah jenis protein yang berperan sebagai pengangkut zat besi (Fe) dalam tubuh. Pada individu yang sehat, sejumlah zat besi ekstraseluler beredar dalam plasma dengan ikatan pada protein transferin, yang memiliki afinitas tinggi terhadap besi. Serum transferin pada manusia merupakan glikoprotein utama yang beredar dan terlibat dalam metabolisme zat besi, serta mengekspresikan reseptor transferin.

Zat besi yang diserap oleh sel-sel usus (enterosit) dapat dimanfaatkan untuk proses metabolisme internal sel, disimpan dalam bentuk feritin, atau dikeluarkan melalui membran basolateral untuk didistribusikan ke seluruh tubuh. Setelah penyerapan dalam enterosit, zat besi tereduksi Fe<sup>2+</sup> diangkut ke sirkulasi melalui ferroportin (FPN1), yaitu satu-satunya protein efluks zat besi, dan setelah oksidasi oleh hephaestin (Hp) atau seruloplasmin menjadi Fe<sup>3+</sup>, zat besi tersebut mengikat pembawa

zat besi plasma utama yaitu transferin (Tf) untuk penggunaan lebih lanjut (Vogt *et al*, 2021).

Zat besi merupakan salah satu logam terpenting untuk menopang kehidupan mulai dari bakteri bersel tunggal hingga organisme multiseluler seperti manusia. Zat besi berperan penting dalam berbagai proses seluler, termasuk sintesis DNA, perbaikan asam nukleat, respirasi seluler dalam mitokondria, pertumbuhan dan kematian sel, serta berperan dalam pertahanan tubuh dan pensinyalan sel. Selain itu, zat besi yang terikat pada heme merupakan komponen utama hemoglobin (Hb), yang penting untuk transportasi dan pasokan oksigen oleh sel darah merah (eritrosit). (Vogt *et al*, 2021).



Sumber: (Giri, 2022)

Gambar 2. 5 Homeostasis Zat Besi

## 6. ELISA (*Enzyme-linked immunosorbent assay*)

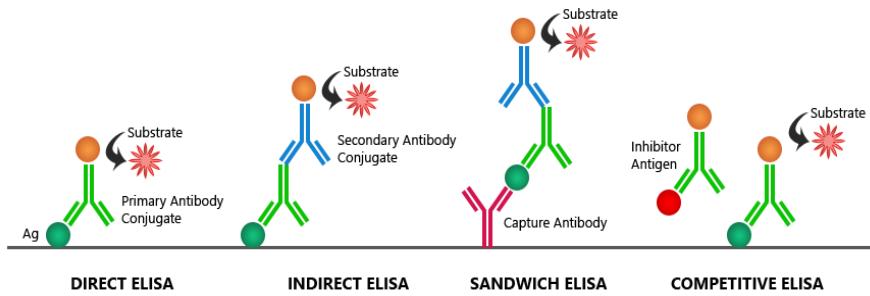
ELISA adalah suatu teknik pemeriksaan imunologi yang digunakan untuk mengetahui atau mengukur kadar dari suatu aktivitas atau respon ekspresi dari protein dan reaksi imun seorang individu. Pada pemeriksaan metode ELISA sampel yang digunakan dapat berupa cairan misalnya serum atau hasil ekstraksi dalam bentuk infusa dari berbagai bahan. Apabila sampel berupa serum maka termasuk dalam pemeriksaan serologik yang

bertujuan untuk mengetahui reaksi antigen dan antibodi secara invitro. Pemeriksaan serologik sering dilakukan untuk menegakkan diagnosis. Pemeriksaan serologi tidak hanya terbatas pada penyakit infeksi, tetapi penggunaannya sering dilakukan untuk membantu dalam diagnosis penyakit infeksi (Santosa Budi, 2020).

ELISA termasuk dalam kelompok *heterogen enzim immunoassay*. Metode ELISA, enzim digunakan sebagai label atau katalis untuk mendeteksi dan menghitung ikatan kompleks antigen-antibodi yang terbentuk secara kuantitatif. Tahapan yang dilakukan pada Teknik ELISA secara umum adalah penempelan antigen atau antibodi, *blocking* untuk menutupi area permukaan yang tidak ditempel oleh antigen atau antibody, *washing* atau pencucian untuk menghilangkan antigen atau antibodi yang tidak berikatan agar tidak mengganggu reaksi, penambahan sampel, serta penambahakan konjugat substrat (Krisnasari Alfian S, 2020).

Prinsip dasar metode ELISA adalah melapiskan antigen atau antibodi pada sumur (*well*) atau *microplate*, kemudian direaksikan dengan sampel lalu dicuci. Langkah berikutnya adalah menambahkan antibodi atau antigen yang berlabel enzim lalu dicuci kembali dengan larutan pencuci (*wash buffer*). Setelah terbentuk ikatan kompleks antigen-antibodi-antibodi berlabel atau antibody-antigen-antibodi. Semakin pekat warna yang terbentuk, menandakan semakin banyak konsentrasi atau antibodi pada serum sampel lalu diukur dengan alat ELISA reader. Hasil tes akan dihitung dan dibandingkan dengan kurva standar atau kalibrator sehingga dapat diketahui kadar konsentrasi antigen atau antibody dalam serum secara kuantitatif (Krisnasari Alfian S, 2020).

Uji ELISA terdiri atas beberapa teknik, yaitu ELISA *Direct*, ELISA *Indirect*, ELISA *Sandwich*, and ELISA *Competitive*. Metode ELISA dapat dilakukan dengan berbagai cara, seperti menggunakan teknik *Direct*, *Indirect*, *Sandwich*, atau *Competitif*.

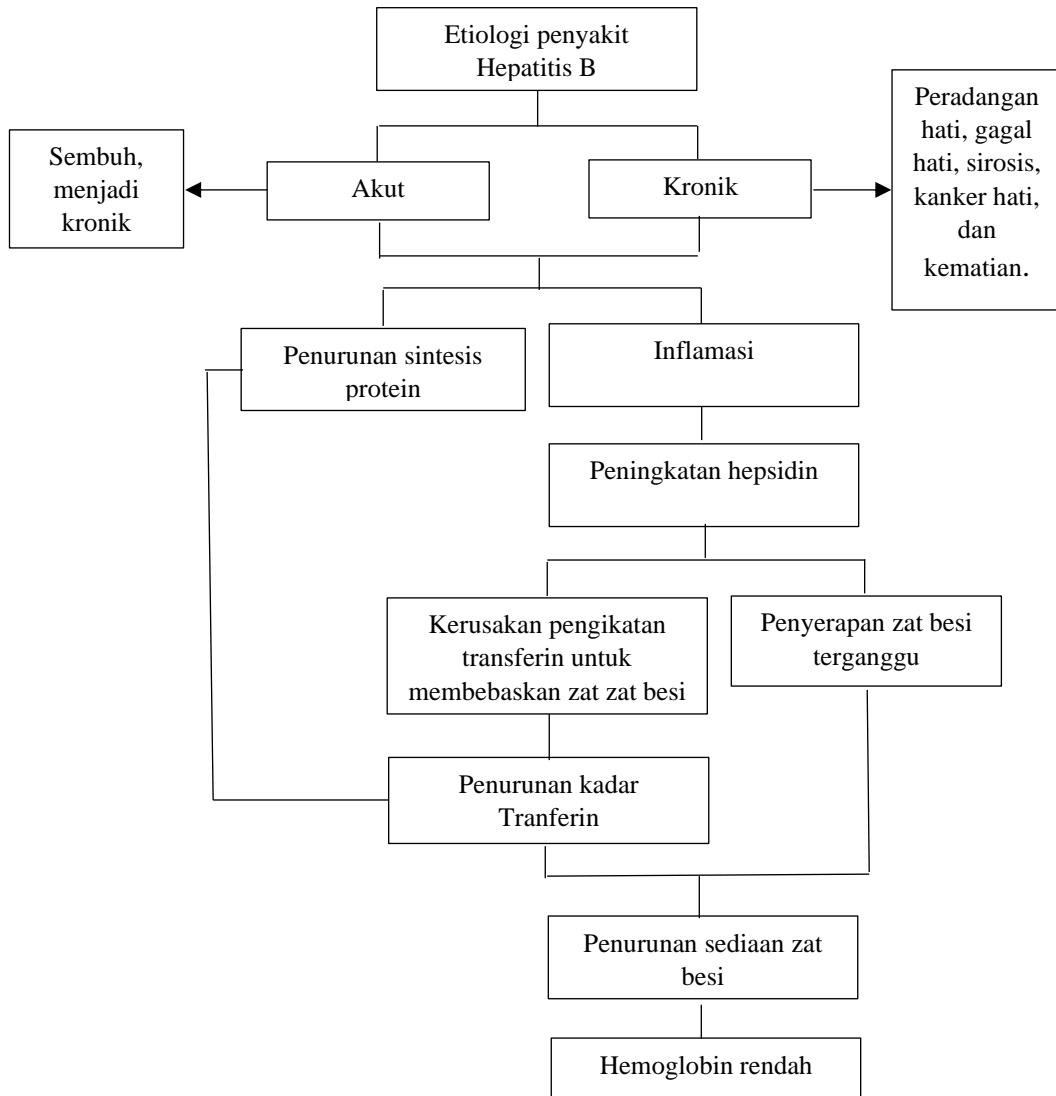


Sumber: (Wei Lan Ho, 2024)

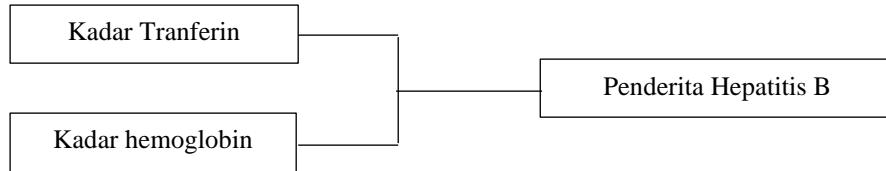
Gambar 2. 6 Prinsip ELISA

Dalam Sandwich ELISA, antibodi primer bekerja dengan mengikat antigen target dalam sampel, kemudian berinteraksi dengan antibodi sekunder yang telah dilabeli dengan enzim. Penambahan substrat akan menghasilkan endapan berwarna. Intensitas warna yang terbentuk mencerminkan konsentrasi antibodi yang terdeteksi dalam sampel. Pada teknik ELISA *Sandwich*, antigen bersifat multivalen seperti polisakarida atau protein yang memiliki setidaknya 2 sisi antigenik untuk berinteraksi dengan antibodi primer spesifik dan antibodi sekunder spesifik yang berlabel enzim. Antibodi primer juga disebut antibodi penangkap (capture antibodies), dan antibodi sekunder disebut antibodi pendeteksi (detection antibodies). ELISA *Sandwich* mempunyai sensitivitas yang sangat tinggi, sehingga metode ini umumnya digunakan untuk mendeteksi antigen pada konsentrasi rendah meskipun terdapat tingkat kontaminasi yang tinggi pada sampel (Santosa Budi, 2020).

## B. Kerangka Teori



### C. Kerangka Konsep



### D. Hipotesis

- $H_0$  : Tidak ada hubungan kadar transferin terhadap kadar hemoglobin pada penderita Hepatitis B
- $H_1$  : Ada hubungan kadar transferin terhadap kadar hemoglobin pada penderita Hepatitis.