

BAB 1

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Penyakit infeksi virus hepatitis B saat ini tetap menjadi masalah kesehatan bagi masyarakat. Virus hepatitis B (HBV) menjadi penyebab utama pada hepatitis kronis, sirosis, maupun kanker hati di dunia. Prevalensi virus hepatitis B menurut WHO pada tahun 2022, diperkirakan sebanyak 254 juta jiwa terinfeksi hepatitis B kronis, dimana setiap tahun terdapat kasus infeksi baru sebanyak 1,2 juta jiwa. Kemudian, di tahun yang sama hepatitis B juga menjadi penyebab kasus kematian sebanyak 1,1 juta jiwa akibat sirosis dan karsinoma hepatoseluler (WHO, 2024). Secara global, pada tahun 2022-2023 terjadi peningkatan prevalensi infeksi virus hepatitis B. Kasus hepatitis B pada tahun 2022 diperkirakan terdapat 62,4 juta jiwa terdiagnosis hepatitis B, sedangkan pada tahun 2023 diperkirakan sebesar 63,3 juta jiwa terdiagnosis hepatitis B dengan jumlah angka kematian mencapai 1,1 juta jiwa akibat penyakit hati (CDA Foundation, 2023).

Prevalensi infeksi virus hepatitis B di Indonesia juga mengalami kenaikan di tahun 2022-2023. Diperkirakan pada tahun 2022 sebanyak 555.593 jiwa terinfeksi virus hepatitis B dengan angka kematian mencapai 61.628 jiwa, sedangkan pada tahun 2023 diperkirakan sebanyak 574.296 jiwa terinfeksi virus hepatitis B dengan jumlah angka kematiannya sebesar 63.164 jiwa (CDA Foundation, 2023). Berdasarkan Data Riset Kesehatan Dasar (2018), prevalensi kasus hepatitis B di Indonesia telah mencapai 1.017.290 jiwa (Riskesdas Nasional, 2018). Prevalensi kasus hepatitis B di Provinsi Lampung telah tercatat mencapai 31.462 jiwa, dimana wilayah Kota Bandar Lampung kasus terinfeksi virus hepatitis B mencapai 3.878 jiwa (Riskesdas Provinsi, 2018).

Diagnosis hepatitis B dapat dilakukan dengan berbagai macam tes, diantaranya tes serologis, biokimia, dan molekuler (Abbas dkk., 2022). Pendekatan molekuler menjadi *gold standard* di laboratorium dalam mendeteksi adanya HBV DNA pada serum ataupun plasma. Pemeriksaan HBV DNA dilakukan dengan pengukuran langsung nilai *viral load* sebagai penanda sensitif

terhadap replikasi virus dan menunjukkan tinggi rendahnya penularan (Joniarti, 2022). Pemeriksaan HBV DNA menggunakan *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dengan metode amplifikasi asam nukleat dijadikan sebagai acuan untuk memulai terapi antivirus pada pasien hepatitis B (Hanjoyo dkk., 2021). PCR merupakan salah satu metode yang digunakan untuk mengamplifikasi urutan DNA tertentu menjadi ribuan hingga jutaan kopi DNA secara *in vitro* (Joshi & Deshpande, 2011). Teknik ini dapat mengamplifikasi DNA yang spesifik dan memiliki sensitivitas tinggi meski jumlah sampel sedikit atau berukuran sangat kecil (Aminah dkk., 2019).

DNA mengandung materi genetik yang berperan dalam pengaturan aktivitas biologis pada makhluk hidup. Adapun tujuan dari isolasi DNA yaitu memisahkan DNA dari komponen lainnya meliputi lemak, protein, dan karbohidrat untuk mendapatkan DNA murni yang akan dianalisis menggunakan alat *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Faktor keberhasilan pada pemeriksaan HBV DNA menggunakan *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dipengaruhi oleh jumlah dan kemurnian DNA dari sampel (Lio dkk., 2021).

Pada penelitian ini, sampel yang digunakan untuk pemeriksaan HBV DNA berupa plasma. Menurut petunjuk *Standard Operating Procedure* (SOP) pemeriksaan HBV, suhu penyimpanan spesimen plasma/serum HBV DNA dapat disimpan dengan kisaran suhu 15-30°C dengan waktu simpan 24 jam (sebelum *running*), bisa juga menggunakan suhu 2-8°C dengan waktu simpan 7 hari (sebelum *running*). Namun biasanya suhu yang paling ideal untuk menyimpan spesimen plasma/serum ialah di suhu -80°C sampai dengan -20°C karena waktu simpannya lebih lama bisa bertahan selama 6 minggu (Kementerian Kesehatan RI, 2022).

Salah satu faktor yang mempengaruhi kuantitas HBV DNA adalah waktu penyimpanan dan suhu penyimpanan. Ketika terjadi penundaan pemeriksaan pada sampel maka sampel tersebut harus disimpan terlebih dahulu dengan waktu dan suhu yang tepat agar tidak merusak dan tidak mengubah komponen yang ada di dalamnya. Lamanya waktu penyimpanan menjadi salah satu faktor yang dapat merusak sel darah dan menurunkan kemurnian DNA. Penurunan kadar dan kemurnian DNA tersebut disebabkan oleh penyimpanan terlalu lama yang

mengakibatkan terjadinya degradasi baik secara alami maupun oleh mikroorganisme (Lio dkk., 2021). Sehingga hal tersebut menjadi sangat penting untuk diperhatikan saat terjadi penundaan terhadap pemeriksaan sampel. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Huang *et al.*, (2017) terkait pengaruh lama penyimpanan sampel pada hari ke-0, 3, 7, 9, 11, 13, 15 dengan suhu penyimpanan 24°C terhadap kuantitas DNA menunjukkan bahwa terjadi penurunan signifikan dalam konsentrasi DNA dengan waktu penyimpanan lebih dari 3 hari. Selain itu, DNA juga dapat resisten apabila disimpan dalam darah utuh selama 15 hari yang mengakibatkan jumlah DNA menurun drastis akibat lisisnya sel darah putih. Faktor durasi penyimpanan yang lebih dari tiga hari juga dapat mengubah status metilasi DNA secara signifikan, baik secara lokal maupun global. Durasi penyimpanan yang lama menyebabkan konsentrasi DNA menurun (Huang *et al.*, 2017).

Sementara itu, penelitian yang dilakukan Handayani (2024) terkait dengan pengaruh waktu penyimpanan sampel *whole blood* darah donor terhadap kuantitas HBV DNA dengan metode *Real-Time* PCR menyatakan bahwa sampel *whole blood* darah donor yang disimpan pada hari ke-1, 3 dan 7 dengan suhu 2-8°C mengalami penurunan terhadap kuantitas HBV DNA. Dimana kuantitas HBV DNA pada sampel *whole blood* darah donor yang disimpan pada hari ke-1 memiliki kadar sebesar 551.823 IU/mL lebih tinggi dibandingkan dengan penyimpanan hari ke-3 yaitu 213.367 IU/mL dan hari ke-7 yaitu 131.680 IU/mL. Presentase penurunan kuantitas HBV DNA pada hari ke-1 sebesar 0%, pada hari ke-3 penurunan sebesar 61%, dan pada hari ke-7 penurunan sebesar 76% (Handayani, 2024).

Berdasarkan latar belakang tersebut, maka perbedaan atau pembaharuan yang akan dilakukan pada penelitian ini adalah menggunakan sampel berupa plasma pada pasien positif hepatitis B dengan variasi waktu penyimpanan selama 0, 1, 3, dan 7 hari yang disimpan di *freezer* dengan suhu -20°C menggunakan metode *Real-Time* PCR. Peneliti tertarik untuk melakukan penelitian terkait pengaruh lama waktu penyimpanan plasma pada pasien positif hepatitis B terhadap kuantitas HBV DNA menggunakan metode *Real-Time* PCR.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas, maka rumusan masalah pada penelitian ini apakah ada pengaruh lama waktu penyimpanan sampel plasma pasien positif hepatitis B terhadap kuantitas HBV DNA menggunakan metode *Real-Time* PCR?

C. Tujuan Penelitian

1. Tujuan Umum

Mengetahui pengaruh lama waktu penyimpanan sampel plasma pasien positif hepatitis B terhadap kuantitas HBV DNA menggunakan metode *Real-Time* PCR.

2. Tujuan Khusus

- a. Mengetahui kuantitas HBV DNA sebelum dan sesudah penyimpanan pada hari ke-0, 1, 3, dan 7 sampel plasma pasien positif hepatitis B menggunakan metode *Real-Time* PCR.
- b. Mengetahui pengaruh variasi waktu penyimpanan pada hari ke-0, 1, 3, dan 7 di suhu -20°C terhadap kuantitas HBV DNA positif menggunakan metode *Real-Time* PCR.

D. Manfaat Penelitian

1. Manfaat Teoritis

Penelitian ini memberikan manfaat teoritis terkait dengan pengaruh waktu penyimpanan sampel plasma pasien positif hepatitis B terhadap kuantitas HBV DNA.

2. Manfaat Aplikatif

a. Bagi Peneliti

Hasil penelitian dapat dijadikan sebagai tambahan pengetahuan serta pengalaman bagi peneliti dalam mengaplikasikan teknik Biologi Molekuler, dan menambah pengetahuan serta keterampilan dalam pemeriksaan virus hepatitis B menggunakan metode *Real-Time* PCR.

b. Bagi Institusi Pendidikan

Dari hasil penelitian ini dapat memberikan informasi pengetahuan bahwa waktu dan suhu penyimpanan menjadi hal yang sangat penting untuk

diperhatikan karena ketika terjadi penundaan terhadap pemeriksaan sampel maka dapat merusak dan mengubah komponen yang ada di dalam sampel sehingga mempengaruhi hasil, memberikan informasi pengetahuan juga terkait teknik Biologi Molekuler yang saat ini semakin berkembang serta dapat menjadi referensi untuk bahan lanjutan penelitian terkait infeksi virus hepatitis B.

E. Ruang Lingkup

Ruang lingkup penelitian ini adalah bidang Biologi Molekuler. Jenis penelitian yang digunakan bersifat eksperimen menggunakan desain penelitian Quasi Eksperimen. Variabel penelitian ini terdiri dari variabel bebas yaitu lama waktu penyimpanan sampel plasma pasien positif hepatitis B dan variabel terikat yaitu kuantitas HBV DNA menggunakan metode *Real-Time* PCR. Subyek penelitian ini adalah sampel plasma pasien positif hepatitis B. Lokasi pengambilan sampel dilakukan di Instalasi Laboratorium Patologi Klinik RSUD Dr. H. Abdoel Moeloek Provinsi Lampung dan analisa pemeriksaan dilakukan di Laboratorium Biologi Molekuler Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Tanjungkarang. Waktu penelitian dari bulan Mei-Juni tahun 2025. Pada penelitian ini, analisis data yang digunakan adalah analisis univariat dan bivariat dengan uji *Regression Linier*.