

DISERTASI

**FAKTOR VIROLOGI DAN PEJAMU PADA PERJALANAN ALAMIAH
HEPATITIS B KRONIS**

***VIROLOGICAL AND HOST FACTORS IN THE NATURAL HISTORY
OF CHRONIC HEPATITIS B***



**Turyadi
P0200316011**

**PROGRAM STUDI DOKTOR ILMU KEDOKTERAN
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2021**

FAKTOR VIROLOGI DAN PEJAMU PADA PERJALANAN ALAMIAH HEPATITIS B KRONIS

(Studi tentang peranan mutasi region Core Promoter [CP] dan Precore [PC] virus hepatitis B serta SNP G-308A promoter gen Tumor Necrosis Factor alpha [TNF- α] dan SNP G-1082A dan A-592C promoter gen Interleukin 10 (IL-10) pada perjalanan alamiah hepatitis B kronis)

Disertasi
Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Mencapai Gelar Doktor

Program Studi
Ilmu Kedokteran



Disusun dan diajukan oleh

Turyadi
P0200316011

kepada
PROGRAM PASCA SARJANA
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2021

DISERTASI

**FAKTOR – FAKTOR VIROLOGI DAN PEJAMU PADA PERJALANAN
ALAMIAH HEPATITIS B KRONIS**

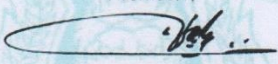
Virological and Host Factors in The Natural History Of Chronic Hepatitis B

Disusun dan diajukan
oleh

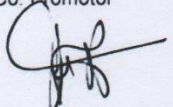
Turyadi
P0200316011

Telah dipertahankan di hadapan Penilai Ujian yang dibentuk dalam rangka
Penyelesaian Studi Program Studi Doktor Ilmu Kedokteran
Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin
pada tanggal, 1 November 2021
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

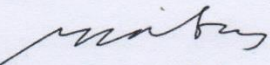
Menyetujui
Promotor,


Prof. dr. David Handojo Muljono, Sp. PD(K), Ph.D, FINASIM
Nip. 195403301 198201 1 001

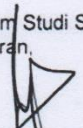
Co. Promotor


Prof. dr. Muh. Nasrum Massi, Ph.D, Sp.MK
Nip. 19670910 199603 1 001

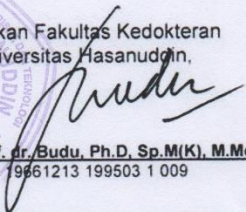
Co. Promotor


Prof. dr. Syafruddin, Ph.D
Nip. 19600516 198601 1 002

Ketua Program Studi S3
Ilmu Kedokteran,


dr. Agussalim Bukhari, M. Med, Ph.D, Sp.GK (K)
Nip. 19700821 199903 1 001

Dekan Fakultas Kedokteran
Universitas Hasanuddin,


Prof. dr. Budu, Ph.D, Sp.M(K), M.Med.Ed
Nip. 19661213 199503 1 009

PERNYATAAN KEASLIAN DISERTASI

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Turyadi
Nomor Pokok : P0200316011
Program Studi : Ilmu Kedokteran

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa disertasi yang saya tulis ini benar-benar merupakan karya saya sendiri, bukan merupakan pengambil-alihan tulisan atau pemikiran orang lain. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan disertasi ini hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, Oktober 2021

Yang Menyatakan,

 
TURYADI

ABSTRACT

TURYADI. *Correlation Between Core Promoter and Hotspot Mutations and the Dynamics of Natural History of Chronic Hepatitis B Infection* (supervised by David Handoio Muliono, Nasrum Massi, and Syafruddin)

The aim of this study is to explore and analyse the effect of mutations on the natural history of chronic hepatitis B infection (CHB) of patients in Indonesia. Based on viral-host interaction, natural history of chronic hepatitis B infection (CHB) is classified into four phases, namely immune-tolerant (IT), immune-clearance (IC), low/non replicative (LR), and e-negative hepatitis (ENH). The core promoter (CP) and pre-core (PC) mutations have been correlated with the prognosis of the disease.

A total of 381 patients from Jakarta and Makassar were included in this study. The patients had signed written consent for their participation with the approval of the referring physicians. This study was approved by Eijkman Institute Research Ethics Commission. The CHB natural history was determined by Hepatitis B e antigen (HBeAg) status, hepatitis B virus (HBV) DNA, and alanine aminotransferase (ALT)/aspartate aminotransferase (AST) levels. The CP and PC mutations were identified by polymerase chain reaction and characterization by sequencing. The correlation between CP and PC mutations and the clinical status and CHB natural history were determined using bivariate and multivariate analyses with the assumption of confounders' presence. Statistical analyses were performed two-sided and used SPSS and R software. Twenty-four mutational hotspots were identified from CP and PC regions in which three of them are A1762T/G1764A, C1799G, and G1896A, independently correlated with the progression of CHB phases.

The results of this study indicate the necessity of ordinal endpoint, i. e. CHB natural history to uncover the mutations' effects on complex CHB progression. BCP A1762T/G1764A mutation is associated with severe CHB phases, but not with HBeAg seroconversion, and vice versa with G1896A mutation. C1799G mutation is found to be associated with bad prognosis of CHB by lowering the chance of the patients to be classified in LR phase. This study also documents A1686C mutation which is related to better prognosis of the disease.

Keywords: chronic hepatitis B, natural history, hotspot, basal core promoter, mutation



ABSTRAK

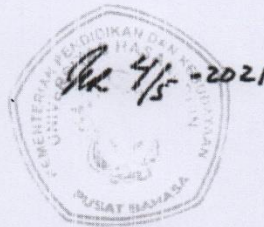
TURYADI. *Asosiasi Mutasi Hotspot Core Promoter dan Precore dengan Dinamika Perjalanan Alamiah Infeksi Hepatitis B Kronis* (dibimbing oleh David Hadoio Mullono, Muh. Nasrun Massi, Syarifuddin).

Penelitian ini bertujuan (1) mengidentifikasi gaya kepemimpinan dalam meningkatkan inovasi pemerintah, (2) untuk mengetahui seberapa jauh implementasi gaya kepemimpinan dalam meningkatkan inovasi pemerintah, (3) untuk mengetahui Implikasi gaya kepemimpinan *visionary leadership* dan *super leadership* dalam meningkatkan inovasi pemerintah.

Penelitian ini dilaksanakan pada Pemerintah Kabupaten Luwu Utara. Pemerintah Kabupaten Luwu Utara adalah salah satu Kabupaten yang inovatif dan banyak meraih penghargaan. Penelitian ini menggunakan metode kualitatif dengan level *eksplanatif*. Data penelitian diperoleh melalui teknik observasi, wawancara, dan penelusuran dokumen, kemudian dianalisis menggunakan model interaktif yakni pengumpulan data, reduksi data, penyajian data dan penarikan kesimpulan.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa Pemerintah Kabupaten Luwu Utara menerapkan dua gaya kepemimpinan sekaligus yakni *visioner leadership* Burt Nanus (1992) dan *super leadership* Manz dan Sims (1990). Adapun implementasi dari penerapan *visioner leadership* dan *super leadership* secara umum dinilai baik atau memuaskan karena pemerintah menjadi kuat baik secara internal maupun secara eksternal. Implikasi dari penerapan gaya kepemimpinan *visioner leadership* dan *super leadership* mampu meningkatkan inovasi pemerintah yakni: inovasi pelayanan baru atau inovasi yang diperbaiki, inovasi proses layanan, inovasi administratif, inovasi sistem, inovasi konseptual dan inovasi perubahan radikal.

Kata kunci Identifikasi, Implementasi dan Implikasi Kepemimpinan Inovasi Pemerintah.



DAFTAR TIM PENGUJI

PROMOTOR : Prof. dr. David H. Muljono, Sp.PD, Ph.D, FINASIM, FAASLD

KO PROMOTOR: Prof. dr. Muh. Nasrum Massi, Ph.D, Sp.MK(K)

KO PROMOTOR: Prof. dr. Syafruddin, PhD

PENGUJI EKST.: Prof. Dr. dr. Mulyanto

PENGUJI : Prof. Dr. dr. Andi Asadul Islam, Sp.BS(K), FICS

PENGUJI : Prof. Dr. dr. Suryani As'ad, M.Sc, Sp.GK(K)

PENGUJI : Prof. dr. Mochammad Hatta, Ph.D, Sp.MK(K)

PENGUJI : Prof. dr. Irawan Yusuf, Ph.D

PENGUJI : Dr. dr. Ilhamjaya Patellongi, M.Kes

PENGUJI : Dr. dr. Muh. Luthfi Parewangi, SpPD-KGEH

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur ke hadirat Allah Subhanahu wa Ta'ala atas rahmat dan karunia-NYA sehingga penulisan disertasi ini dapat terselesaikan.

Tulisan yang merupakan hasil penelitian dan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Doktor ini dapat saya selesaikan berkat bantuan, bimbingan dan dukungan dari berbagai pihak. Untuk itu, ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya dan penghargaan yang tinggi saya haturkan kepada :

- ◊ **Prof. Dwia Aries Tina Pulubuhu NK, MA** selaku Rektor Universitas Hasanuddin, **Prof. dr. Budu, Ph.D., Sp.M(K), M.Med.Ed**, selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin dan **Dr. dr. Irfan Idris, M.Kes** sebagai Wakil Dekan Fakultas Kedokteran yang banyak mendukung saya selama studi di Fakultas Kedokteran.
- ◊ **Prof. Dr. dr. Andi Asadul Islam, Sp.BS(K), FICS** selaku Dekan Fakultas Kedokteran sebelumnya yang sudah memberikan kes-empatan bagi saya untuk menimba ilmu pada Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin.
- ◊ **Prof. Dr. dr. Suryani As'ad, Sp.GK(K), M.Sc** yang sudah banyak membantu mulai saya mendaftar, menjalani seleksi dan menjadi menjadi peserta didik, hingga akhirnya dapat menyelesaikan disertasi ini.
- ◊ **Prof. dr. Mochammad Hatta, PhD, Sp.MK(K)**, selaku Ketua Program Studi S3 Ilmu Kedokteran periode sebelumnya, yaitu masa saya mulai program S3 dimana beliau telah menerima dan mengijinkan saya untuk menimba ilmu pada

Program Studi S3 Ilmu Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin.

- ◊ **dr. Agussalim Bukhari, M.Clin, Med, Ph.D, Sp.GK(K)**, selaku Ketua Program Studi S3 Ilmu Kedokteran yang sekarang atas diijinkannya saya menimba ilmu pada Program Studi S3 Ilmu Kedokteran.
- ◊ **Prof. Dr. dr. Mulyanto**, selaku penguji eksternal yang banyak memberikan masukan-masukan yang sangat berarti bagi disertasi ini maupun penelitian selanjutnya.
- ◊ **Prof. dr. Irawan Yusuf, Ph.D**, yang telah berkenan ikut memberikan semangat semenjak dahulu sewaktu beliau sebagai peneliti senior, dan sewaktu menjabat dekan pada Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin dan akhirnya menjadi salah satu penguji disertasi ini.
- ◊ **Prof. dr. David Handojo Muljono, Sp.PD, Ph.D, FINASIM, FAASLD** selaku Deputy Bidang Riset Transisional dan Kepala Unit Hepatitis di Lembaga Biologi Molekuler Eijkman sekaligus **Promotor** yang telah sangat baik mendukung saya untuk menempuh pendidikan sampai sejauh ini, **Prof. dr. Syafruddin, Ph.D** dan **Prof dr. Muh. Nasrum Massi, Ph.D, Sp.MK(K)** selaku Ko-Promotor atas bimbingan, arahan dan dukungan yang tidak ternilai selama ini melalui diskusi formal maupun informal.
- ◊ **Dr. dr. Andi Muh. Luthfi Parewangi, Sp.PD, KGEH** yang banyak memberikan masukan yang sangat berarti bagi disertasi ini.

- ◊ **Dr. dr. Ilhamjaya Patellongi, M.Kes** yang banyak membantu dalam menyelesaikan statistik dan saran-sarannya yang sangat membantu.
- ◊ **Prof. Dr. dr. Syakib Bakri, Sp.PD, KGEH** selaku Kepala Departemen Penyakit Dalam RSWS/FK UNHAS, **Dr. dr. Fardhah Akil, Sp.PD, KGEH** selaku Kepala Divisi Gastro-Hepatologi periode sebelumnya, **Dr. dr. Andi Muh. Luthfi Parewangi, Sp.PD, KGEH**, Kepala Divisi Gastro-Hepatologi, **dr. Rini Bachtiar, Sp.PD, KGEH, MARS** dan **Dr. dr. Nu'man A. S. Daud, Sp.PD, KGEH** yang telah memberikan akses sampel subjek pada penelitian disertasi ini.
- ◊ Ucapan terima kasih saya ucapkan kepada para **Prof. dr. Amin Soebandrio, Ph.D, Sp.MK(K)** selaku Kepala Lembaga Eijkman yang telah memberikan ijin dan dukungan kepada saya untuk melanjutkan jenjang pendidikan lebih lanjut.
- ◊ Ucapan terima kasih juga saya sampaikan kepada **Dr. dr. Maisuri T. Chalid, Sp.OG (K)**, dr. Rizalinda Syahrir, M.Sc, Sp.MK(K), Ph.D, atas kerjasamanya selama ini dalam penelitian bersama.
- ◊ Bapak Akmal, S.Sos, MAP, Bapak Abdul Muin, A.Md, FT, dan Bapak Rahmat Mansur, yang banyak membantu terkait administrasi pada Program Doktor Ilmu Kedokteran, tanpa bantuan Bapak sekalian tentulah saya sangat kerepotan.
- ◊ Bapak Safri, AMAK, Bapak Andi Zulkifli AS, M.Kes, Ibu Ridha Wahyuni S.Si, Ibu Bahrani, S.Si, yang banyak membantu urusan saya di Makassar.
- ◊ **Prof. Dr. dr. Hartono Gunardi, Sp.A(K)** dan **Dr. dr. Teguh Widjajadi, SpPD** atas kerjasama selama ini dalam penelitian hepatitis.

♦ **Prof. dr. Herawati Sudoyo, Ph.D**, Deputi Kepala Bidang Riset Fundamental Lembaga Biologi Molekuler Eijkman dan Sestama Lembaga Biologi Molekuler Eijkman **drh. Safarina G. Malik, MS. Ph.D**, atas dukungannya, dr. Alida R.Harahap, Sp.PK(K), Ph.D, dr. Iswari Setianingsih, Sp.A(K), Ph.D, R. Tedjo Sasmono, S.Si, Ph.D, Prof. Ir. I Made Artika, M.App.Sc, Ph.D, Dr. Puji Budi Setia Asih, S.Si, Dra. Rintis Noviyanti, PhD, Dr. Wuryantari, M.Biomed, Farah Novita Coutrier, S.Si, Ph.D, Dr. Ita Margaretha Nainggolan, S.Si, M.Biomed, Dr. Leily Trianty, S.Si, M.Si, Dr. sc. hum Ari Winasti Satyagraha, B.Sc(Hons), Josephine Siregar, S.Si, M.Sc, PhD, R. Hannie D. H. Kartapradja, S.Si, M.Biomed, Chrysantine Paramayuda, M.Sc, Dr. dr. Andi Nanis Sacharina Marzuki, Sp.A(K), Khin S. A. Myint, M.BBS., D.T.M.H, Ph.D, dr. Nurjati Chairani Siregar, MS, Sp.PA(K), Ph.D, Dodi Safari, S.Si, Ph.D, dr. Loa Helena Suryadi, M.Kes, Benediktus Yohan, S.Farm, M.Biomed, Rahma F. Hayati, B.Biotech, M.Sc, Windy Joanmawati, S.Si, M.For.Sc, Ismail Ekoprayitno Rozi, B.Eng, M.Eng, Eva Manulang S.Si, M.Biomed, Sukma Oktavianti, S.Si, M.Biomed, Iskandar S.Si, Willy Agustine, S.Si, Sintia (Cente) Puspitasari, S.Si, Evira Putricahya, S.Si, Tyas Arum Widayati, S.Si, Firman Prathama Idris, B.Sc, M.BioMol(Adv), Shirley Renatha, S.Si, Gludhug Ariyo Purnomo, S.Si, Dra.Chairin Nisa Ma'roef, Aghnianditya Kresno Dewantari, S.Si, Edison Johar, M.Sc, Chelzie Crenna Darussalam, S.Si, Jessica Wiludjaja, S.Si, M.Si, Arkasha Sadewa, S.Si, M.Sc. Lidya Visita Panggalo, S.Si, Dionisius Denis, B.Sc, Clarissa Asha Febinia, S.Si. M.Sc(Res), Pradiptajati Kusuma, S.Si, M.Biomed, Ph.D, Lidwina Priliani, S.Si,

M.Si, Bertha Letizia Utami, S.Si, Agatha Mia Puspita, S.Si, Retno Ayu Setya Utami, S.Si, M.Phil, Dendi Permana, S.Si, M.Si, Sully Kosasih, S.Si, M.MolResEx, Lepa Syahrani, S.Si, M.Si, Dra. Siti Zubaedah, Frilasita A. Yudhaputri, S.Si, M.Biomed.Sc, M. Majid Khoeri, S.Kel, M.Si, Hidayat Trimarsanto, B.Sc(Hons), Debby Dwi Ambarwati, S.Si, Ageng Wiyatno, S.Si, Bapak Suradi Wangsamuda, Nur Ita Margyaningsih, S.Si, M.Si, Ibu Murni, A.Md, dan dengan tidak mengurangi rasa hormat dan terima kasih saya yang tidak saya sebut satu persatu.

- Senior dan teman-teman di Unit Hepatitis, **dr. Meta Dewi Theja, M.Biomed, Ph.D, Korri Elvanita El Khobar, M.Phil, Ph.D, Dhita P. Wibowo, S.Si, Muh. Rezki Rasyak, S.Si, Billy Witanto S.Si, Susan Irawati, B.Biomed.Sc, M.Biomed.Sc, Rahmi Safitri, S.Si, Vanessa Pooroe, A.Md, Cory Noviyanti, S.Kom** atas bantuannya selama penyusunan disertasi.
- Terima kasih juga saya ucapkan pada Ibu Wirda Damanik, SE, MBA, Ibu Nuke Wulansari, SE, MBA, Ibu Novasari Rachmawati, SE, Ibu Sri Utami SE, Bapak Adji M. Rifki, Bapak Sodri, Ibu Indira Fitri, A.Md, Indrawan A. Permadi, S.Kom, Bapak Kirman, kepada sahabat-sahabat saya di Lembaga Biologi Molekuler Eijkman, dan masih banyak lagi yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu.
- Yora Permata Dewi, M.Biomed, Indah Delima, A.Md, Wisnu Tafroji, S.Si, Yayah Winarti, S.Tr.Ak, dan tim WASCOVE, yang telah melayani semua tes selama saya dinyatakan positif covid-19 dan rutin cek PCR selama hampir sebulan.

- ❖ Tidak dapat saya lupakan teman-teman sekuriti yang dengan setia menunggu dan menemani saya dari jauh hampir setiap hari pulang malam dan hampir setiap akhir pekan.

Hormat dan bakti tulus Ananda persembahkan kepada kedua orang tua tercinta Bapak Wiryo Utomo (alm.) dan Ibu Sumini atas segala bimbingan, tauladan dan nasehat yang akan tetap Ananda kenang. Disertasi ini merupakan persembahan Ananda sebagai wujud bakti meski belum tunai dibanding kasih sayang yang selama ini Ananda terima.

Rasa cinta, kasih dan sayang yang tidak pernah putus saya limpahkan kepada buah hati tersayang Zahrani Kusumaning Tyas, Naura Cahyaning Tyas dan Salman Alfarizi Wandaru. Semoga kecintaan, pengertian dan kesabaran kalian selama ini mendapat buah kasih dari Allah Subhanahu wa Ta'ala.

Akhir kata, saya mohon maaf apabila di sana sini masih banyak kesalahan, semoga disertasi ini dapat membawa manfaat bagi dunia pendidikan, dunia ilmu pengetahuan dan dunia kedokteran serta turut memberi andil bagi suksesnya penanggulangan penyakit hepatitis B di Indonesia khususnya dan secara global.

Jakarta, Oktober 2021

Penulis

ABSTRAK

TURYADI. *A8OSIbsi Mutasi Hotspot Core Promoterdam Precore dengan Dinamika Pe a/anan Alamiah Infeksi Hepaiiis B Kronis* (dibtmblng oleh David Hadoio Muliono, Muh. Nasrun Massi, Syarifuddin).

Penelitian ini bertujuan (1) megidentifikasi gaya kepemimpinan dalam meningkatkan inovasi pemerintah, (2) untuk mangetahui seberapa jauh implementasi gaya kepemirnpinan dalam mening katkan inovasi pemerintah, /3) untuk mengetah ui Implikasi gaya kepemimp!nan *visionary leadership* dan *super leadership* dalam meningkatkan inovasi pemerintah.

Penelitian ini dilaksanakan pada Pemerintah Kabupaten Luwu Utara. Pemerintah Xabupaten Luwu Utara adalah salah satu Kabupalen yang inovatif dan banyak meraih penghargaan. Penelitian ini menggunakan metode kualitatif dengan level *eksplanatif*. Data penelitian diperoleh melalui teknik observasi, wawancara, dan penelusuran dokumen, kemudian dianalisis menggunakan model interaktlf yakni\ pengumpulan data, re0uksi data, penyaj'ian data dan penarikan kesimpulan.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa Pemerintah Kabupaten Luwu Utara menerapkan dua gaya kepemimpinan sekaligus yakni *v/s/oner leadership* Burt Nanus (1sg2) dan *super leadership Manz dan Sims* (1990). Adapun implementasi dari penerapan *v/s/oner leadership* dan *super leadership* secara umum diniai baik atau memuaskan karena pemerintah menjadi kual baik secara internal maupun secara eksternal. Implikasi dari penetapan gaya kepem!mpinan *visioner leadership* dan *super leadership* mampu meningkatkan inovasi pemerintah yakni. inovasi pelayanan baru atau inovasi yang diperba!ki. inovasi proses layanan. inovasi administratif, inovasi sistem, inovasi konseptual dan inovasi perubahan radikal.

Kata kunci Identifikasi, Implementasi dan Iaplikasi Kepemimpinan Inovasi Pemerintah.

ABSTRACT

TURYADI. Correlation *Between Core Promoter and Hotspot t/lutations and the Dynamics of Natural History of Chronic Hepatitis B Infection* (supervised by David Handoio Muliono. Nasfurn Massi, and Syafruddin)

The aim of this study is to explore and analyse the effect of mutations on the natural history of chronic hepatitis B infection (CHB) of patients in Indonesia. Based on viral–Host interaction, natural history of Chronic hepatitis B infection (CHB) is classified into four phases, namely immune-tolerant (IT), immune-clearance (IC), low/non replicative (LR), and e-negative hepatitis (EMH). The core promoter (CP) and pre-core (PC) mutations have been correlated with the prognosis of the disease.

A total of 381 patients from Jakarta and Makassar were included in this study. The patients had signed written consent for their participation with the approval of the referring physicians. This study was approved by Eijkman Institute Research Ethics Commission. The CHB natural history was determined by Hepatitis B e antigen (HBeAg) status, hepatitis B virus (HBV) DNA, and alanine aminotransferase (ALT)/aspartate aminotransferase (AST) levels. The CP and PC mutations were identified by polymerase chain reaction and characterization by sequencing. The correlation between CP and PC mutations and the clinical status and CHB natural history were determined using bivariate and multivariate analyses with the assumption of confounders' presence. Statistical analyses were performed two-sided and used SPSS and R software. Twenty-four mutational hotspots were identified from CP and PC regions in which three of them are A1762T/G1764A, C1799G, and G1896A, independently correlated with the progression of CHB phases.

The results of this study indicate the necessity of ordinal endpoint, i. e. CHB natural history to uncover the mutations' effects on complex CHB progression. BCP A1762T/G1764A mutation is associated with severe CHB phases, but not with HBeAg seroconversion, and vice versa with G1896A mutation. C1799G mutation is found to be associated with bad prognosis of CHB by lowering the chance of the patients to be classified in LR phase. This study also documents A1686C mutation which is related to better prognosis of the disease.

Keywords: chronic hepatitis B, natural history, hotspot, core promoter, mutation

DAFTAR ISI

PERNYATAAN KEASLIAN DISERTASI	iv
DAFTAR TIM PENGUJI	v
UCAPAN TERIMA KASIH	vi
ABSTRAK	xii
DAFTAR ISI	xvi
DAFTAR TABEL	xx
DAFTAR GAMBAR	xxi
DAFTAR SINGKATAN	xxii
 BAB I. PENDAHULUAN	 1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	8
1.3. Pertanyaan Penelitian	9
1.4. Tujuan Penelitian	10
1.4.1. Tujuan umum	10
1.4.2. Tujuan khusus	10
1.5. Manfaat Penelitian	11
1.5.1. Manfaat ilmiah	11
1.5.2. Manfaat klinis	11
1.5.3. Manfaat untuk kesehatan masyarakat	11
 BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	 13
2.1. Epidemiologi Virus Hepatitis B	13
2.2. Klasifikasi Virus Hepatitis B	14
2.3. Virologi Virus Hepatitis B	15
2.4. Siklus Hidup Virus Hepatitis B	16
2.5. Pembentukan Protein <i>Surface</i> VHB	19
2.6. Pembentukan Protein Polimerase VHB	20
2.7. Pembentukan Protein HBxAg VHB	21
2.8. Pembentukan Protein HBeAg dan HBcAg VHB	21

2.9. Genotipe dan Subtipe VHB	24
2.10. Mutasi CP dan PC pada Infeksi Hepatitis B Kronis	28
2.11. Perjalanan Alamiah Infeksi Hepatitis B Kronis.....	29
2.11.1. Immune tolerant (IT)	30
2.11.2. Immune clearance (IC)	31
2.11.3. Low/non replicative (LR)	32
2.11.4. "e"-negative hepatitis B (ENH)	32
2.12. Respon Imun pada Infeksi VHB.....	34
2.12.1. Respon imun pada infeksi hepatitis B akut	35
2.12.2. Respon imun pada infeksi hepatitis B kronis.....	36
2.13. <i>Tumor Necrosis Factor Alpha</i> (TNF- α) dan Interleukin-10 (IL-10)	38
 BAB III. KERANGKA TEORI, KONSEP, DAN HIPOTESIS PENELITIAN	40
3.1. Kerangka Teori dan Kerangka Konsep.....	40
3.1.1. Kerangka teori.....	40
3.1.2. Kerangka konsep	42
3.2. Hipotesis Penelitian	43
 BAB IV. METODE PENELITIAN	44
4.1. Jenis Penelitian	44
4.2. Populasi Penelitian	44
4.3. Subjek Penelitian.....	44
4.4. Tempat dan Waktu Penelitian.....	45
4.5. Metode Pengambilan sampel	45
4.6. Metode Pengambilan Data	45
4.6.1. Pemeriksaan parameter fungsi hati ALT dan AST	45
4.6.2. Pemeriksaan kadar DNA VHB	46
4.6.3. Pemeriksaan status HBeAg dan anti-HBe	46
4.6.4. Penentuan fase perjalanan alamiah infeksi VHB kronis.....	47
4.6.5. Penentuan genotipe dan subtipe VHB	48
4.6.6. Pemeriksaan mutasi CP dan PC.....	55
4.6.7. Pemeriksaan SNP gen TNF- α dan IL-10	57
4.7. Metode Analisis Data.....	62

4.8. Etik Penelitian.....	64
4.9. Batasan Operasional	65
4.10. Alur Penelitian	67
BAB V. HASIL PENELITIAN	68
5.1. Karakteristik dan Jumlah Subjek Penelitian.....	68
5.2. Faktor Virus pada HBK	70
5.2.1. Identifikasi mutasi region CP dan PC VHB pada HBK	70
5.2.2. Hubungan antara kadar DNA VHB, ALT dan AST dengan mutasi CP dan PC pada HBK.....	74
5.2.3. Genotipe dan sub tipe VHB pada HBK	78
5.2.4. Hubungan antara genotipe dan sub tipe VHB dengan kadar DNA, ALT dan AST	79
5.2.5. Pengaruh mutasi CP dan PC VHB terhadap perjalanan alamiah HBK	80
5.3. Faktor Pejamu	80
5.3.1. Polimorfisme gen TNF- α	88
5.3.2. Polimorfisme gen IL-10	89
5.3.3. Sebaran polimorfisme TNF- α dan IL-10 pada fase HBK	92
5.3.4. Pengaruh polimorfisme TNF- α dan IL-10 pada Fase HBK	93
BAB VI. PEMBAHASAN.....	98
6.1. Karakteristik Subjek HBK.....	99
6.2. Mutasi CP dan PC VHB pada HBK	99
6.3. Hubungan Mutasi CP dan PC VHB dengan Kadar DNA VHB, ALT dan AST pada HBK.....	101
6.4. Genotipe dan Sub tipe VHB pada HBK dan Hubungannya dengan Kadar DNA VHB, ALT dan AST	102
6.5. Peranan Mutasi CP dan PC VHB terhadap Perjalanan Alamiah HBK	103
6.8. Keterbatasan Penelitian	127
6.9. Ringkasan Hasil Penelitian	128
BAB VII. KESIMPULAN, KEBARUAN DAN SARAN	131
7.1. Kesimpulan.....	131
7.2. Aspek Kebaruan (<i>Novelty</i>).....	132
7.3. Saran.....	133

DAFTAR PUSTAKA.....	134
LAMPIRAN.....	148

DAFTAR TABEL

Tabel 5.1 Karakteristik subjek penelitian berdasarkan fase hepatitis B kronis (HBK)	69
Tabel 5.2 Prevalensi titik <i>hotspot</i> mutasi CP dan PC VHB	72
Tabel 5.3 Hubungan <i>hotspot</i> mutasi CP dan PC terhadap kadar DNA VHB, ALT dan AST	77
Tabel 5.4 Korelasi genotipe dan sub tipe VHB terhadap fase HBK	79
Tabel 5.5 Pengaruh mutasi CP dan PC VHB terhadap perjalanan alamiah HBK secara berurutan	83
Tabel 5.6 Pengaruh mutasi CP dan PC VHB terhadap perjalanan alamiah HBK secara tidak berurutan	85
Tabel 5.7 Perhitungan nilai OR interaksi mutasi A1762T/G1764A dan G1896A ..	86
Tabel 5.8 Analisis mutasi CP dan PC VHB.....	86
Tabel 5.9 Subjek penelitian yang berhasil dilakukan pemeriksaan SNP.....	87
Tabel 5.10 Sebaran genotipe dan alel SNP -308 TNF- α	88
Tabel 5.11 Sebaran genotipe dan alel SNP -1082 IL-10	90
Tabel 5.12 Sebaran genotipe dan alel SNP -592 IL-10	92
Tabel 5.13 Pengaruh usia, jenis kelamin, dan SNP IL-10 A-592C terhadap perubahan fase HBK.....	95
Tabel 5.14 Hubungan faktor pejamu dan virologi dengan perubahan fase dalam perjalanan alamiah hepatitis B kronis (HBK)	97

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Peta penyebaran hepatitis B di dunia	14
Gambar 2.2 Komposisi gen virus pada genom VHB	16
Gambar 2.3 Siklus hidup virus hepatitis B	17
Gambar 2.4 Skema mRNA gen <i>surface</i> yang menyandi HBsAg	19
Gambar 2.5 Ekspresi dan translasi HBeAg dan HBcAg dari gen <i>precore/core</i>	22
Gambar 2.6 Peta sebaran genotipe VHB di dunia.....	26
Gambar 2.7 Perjalanan alamiah infeksi hepatitis B kronis.....	33
Gambar 3.1 Kerangka teori penelitian	40
Gambar 3.2 Kerangka konsep penelitian	42
Gambar 4.1 Diagram alur penelitian.....	67
Gambar 5.1 Frekuensi dan proporsi ke-24 <i>hotspot</i> mutasi CP dan PC VHB yang ditemukan pada subjek HBK.....	70
Gambar 5.2 Korelasi mutasi CP dengan kadar DNA VHB pada HBK	75
Gambar 5.3 Korelasi mutasi CP dan PC dengan kadar ALT dan AST pada HBK	76
Gambar 5.4 Korelasi antara genotipe dan subtipe VHB dengan kadar DNA, ALT dan AST pada HBK.....	80
Gambar 5.5 Deteksi polimorfisme gen sitokin TNF- α pada titik -308	89
Gambar 5.6 Deteksi polimorfisme gen sitokin IL-10 pada titik -1082	90
Gambar 5.7 Deteksi polimorfisme gen sitokin IL-10 pada titik -592	91
Gambar 6.1 Pengaruh mutasi CP dan PC VHB terhadap perjalanan alamiah HBK secara berurutan	108
Gambar 6.2 Pengaruh mutasi CP dan PC VHB terhadap perjalanan alamiah HBK secara tidak berurutan	111
Gambar 6.3 Posisi basa berpasangan 1858–1896 pada region PC yang dapat merestriksi munculnya mutasi G1896A.....	113
Gambar 6.4 Pengaruh faktor pejamu dan polimorfisme SNP (IL-10-592) terhadap perjalanan alamiah HBK	117
Gambar 6.5 Pengaruh bersama faktor virus dan faktor pejamu terhadap perjalanan alamiah HBK	123

DAFTAR SINGKATAN

A	: Adenin
AOR	: <i>Adjusted odds ratio</i>
ALT	: <i>Alanine aminotransferase</i>
Anti-HBe	: Antibodi terhadap HBeAg
APC	: <i>Antigen presenting cell</i>
AST	: <i>Aspartate aminotransferase</i>
B	: Basa C, G, T (selain A)
BCP	: <i>Basal core promoter</i>
cccDNA	: <i>Covalently closed circular DNA</i>
DNA	: <i>Deoxyribonucleic acid</i>
C	: Sitosin
C	: <i>Core</i>
CI	: <i>Confidence interval</i>
COV	: <i>Cut-off value</i>
CP	: <i>Core promoter</i>
CTL	: <i>Cytotoxic T lymphocyte</i>
D	: Basa selain C (A, G atau T)
EDTA	: <i>Ethylenediaminetetraacetic acid</i>
ELISA	: <i>Enzyme linked immunosorbant assay</i>
Enh	: <i>Enhancer</i>
ENH	: <i>e-negative hepatitis B</i>

G	: Guanin
HBcAg	: Antigen <i>core</i> hepatitis B
HBeAg	: Antigen 'e' hepatitis B
HBK	: Hepatitis B kronis
HBsAg	: Antigen 's' hepatitis B
HBxAg	: Antigen 'x' hepatitis B
HLA	: <i>Human leukocyte antigen</i>
HWE	: <i>Hardy-Weinberg Equilibrium</i>
IC	: <i>Immune clearance</i>
IFN	: Interferon
IFN- γ	: Interferon gamma
IL-10	: Interleukin-10
IQR	: <i>Interquartile range</i>
IT	: <i>Immune tolerant</i>
K	: Lisin (asam amino)
kDa	: Kilo Dalton
KHS	: Karsinoma hepatoseluler
LHBsAg	: Antigen 's' hepatitis B ukuran besar (<i>large</i>)
LR	: <i>Low/non replicative</i>
M	: Marker (penanda) DNA
MHBsAg	: Antigen 's' hepatitis B ukuran menengah (<i>medium</i>)
MHCI	: <i>Major histocompatibility complex class I</i> (MHCI)

MHCII	: <i>Major histocompatibility complex class II (MHCII)</i>
mRNA	: <i>Messenger RNA</i>
NTCP	: <i>Sodium taurocholate cotransporting polypeptide</i>
OD	: <i>Optical density</i>
OR	: <i>Odds ratio</i>
ORF	: <i>Open reading frame</i>
P	: <i>Polimerase</i>
P/RT	: <i>Polymerase/reverse transcriptase</i>
PC	: <i>Precore</i>
pgRNA	: <i>Pregenome ribonucleic acid</i>
PCR	: <i>Polymerase chain reaction</i>
PCR-RFLP	: <i>PCR-restriction fragment length polymorphisms</i>
PreS	: <i>Region hulu gen surface</i>
qRT-PCR	: <i>Quantitative real-time PCR</i>
R	: <i>Arginin (asam amino)</i>
RNaseH	: <i>Ribonuclease H</i>
RT	: <i>Reverse transcriptase</i>
RT-PCR	: <i>Real-time PCR</i>
rcDNA	: <i>Relaxed circular DNA</i>
Riskesdas	: <i>Riset kesehatan dasar</i>
RdDp	: <i>RNA dependent DNA polymerase</i>
S	: <i>Surface</i>

S	: Basa C atau G
SHBsAg	: Antigen 's' hepatitis B ukuran menengah (<i>small</i>)
SGOT	: <i>Serum glutamic oxaloacetic transaminase</i> , (=AST)
SGPT	: <i>Serum glutamic pyruvic transaminase</i> , (=ALT)
SNP	: <i>Single nucleotide polymorphism</i>
T	: Timin
TNF- α	: <i>Tumor necrosis factor alpha</i>
URR	: <i>Upper regulatory region</i>
V	: Basa selain T (A, C atau G)
VHB	: Virus hepatitis B
WHO	: <i>World Health Organization</i>
Y	: Pirimidin (basa C atau T)

BAB I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit hepatitis B masih menjadi masalah kesehatan dunia dengan perkiraan lebih dari 296 juta orang merupakan pengidap hepatitis B kronis (HBK=infeksi hepatitis B Kronis) dengan risiko lebih tinggi terjadinya sirosis hati dan kanker hati (karsinoma hepatoseluler, KHS) dan sekitar 820 000 orang pertahun 2019 meninggal terkait HBK. Sekitar 60 juta kasus HBK berada di Asia Tenggara, dan 180 ribu orang meninggal setiap tahunnya karena penyakit hati terkait infeksi virus hepatitis B (VHB) (WHO, 2021). Sebagian besar pengidap hepatitis B kronis berada di wilayah Asia termasuk Indonesia (Khan *et al.*, 2004). Meskipun vaksin untuk hepatitis B telah tersedia, namun ternyata insiden hepatitis B masih tinggi di Indonesia, yaitu 7,1% berdasarkan prevalensi *hepatitis B surface antigen* (HBsAg) positif pada Riskesdas tahun 2013 (Muljono, 2017)

Hepatitis B kronis didefinisikan sebagai nekroinflamasi kronis penyakit hati yang disebabkan oleh persisten infeksi VHB, sedangkan infeksi virus hepatitis B kronis adalah HBsAg positif lebih dari 6 bulan (Sarin *et al.*, 2016).

Penyebaran infeksi VHB pada daerah dengan endemisitas tinggi seperti Indonesia terjadi melalui dua cara, yaitu transmisi vertikal dari ibu ke anak saat proses melahirkan dan transmisi horizontal dari pengidap ke individu yang bukan pengidap melalui darah atau cairan tubuh, baik secara langsung misalnya hubungan seksual, penggunaan alat-alat yang terkontaminasi darah/cairan tubuh

pengidap (misalnya alat suntik, tattoo, tindik telinga, pisau cukur, akupuntur, atau pemakaian bersama alat-alat terkontaminasi cairan tubuh atau darah pengidap. Pada usia kanak-kanak dapat terjadi karena kontak erat dengan pengidap hepatitis B. Semakin muda usia pengidap saat infeksi VHB terjadi, maka semakin besar kemungkinan infeksi VHB tersebut berlanjut menjadi kronis (Wu and Chang, 2015). Infeksi VHB yang terjadi pada masa bayi atau balita memiliki kemungkinan sekitar 90% untuk berkembang menjadi infeksi hepatitis B kronis (HBK) (McMahon, 2009).

Virus hepatitis B yang disebut juga dengan partikel “Dane” mempunyai dua selubung yaitu selubung luar yang disusun oleh HBsAg dan selubung dalam yang merupakan selubung nukleokapsid. Nukleokapsid berisi DNA VHB dan enzim yang digunakan untuk replikasi virus. Saat proses replikasi terjadi, dihasilkan berbagai komponen utama virus yaitu: HBsAg yang menyusun selubung luar, protein *core* yang menyusun selubung dalam, protein polimerase yang digunakan pada proses pembentukan genom VHB, protein X yang belum diketahui secara pasti peranannya dan protein *precore* yang diekskresikan dalam bentuk antigen “e” hepatitis B (HBeAg) (Beck & Nassal, 2007; Datta *et al.*, 2012).

Virus hepatitis B dapat diklasifikasikan ke dalam beberapa genotipe virus berdasarkan variasi genomnya. Sedikitnya ada 10 genotipe VHB yang telah diidentifikasi yaitu A-J, yang masing-masing memiliki sebaran spesifik secara geografik (Kramvis, 2014). Genotipe VHB yang tersebar di Indonesia adalah mayoritas genotipe B dan C (Mulyanto *et al.*, 2009). Genotipe VHB dilaporkan

berpengaruh pada manifestasi klinis dari infeksi VHB (Ayari *et al.*, 2012).

Beberapa penelitian telah melaporkan bahwa VHB genotipe C mempunyai prognosis penyakit yang lebih buruk dibandingkan dengan genotipe B, dengan laju replikasi virus yang tinggi, kadar ALT dan aktivitas histologi yang tetap tinggi, serta respon yang rendah terhadap obat antiviral golongan analog nukleos(t)ida. Namun, hasil penelitian i mengenai pengaruh genotipe VHB terhadap serokonversi HBeAg masih bersifat kontroversial (Sunbul, 2014), dan pengaruh genotipe VHB pada perjalanan HBK hingga saat ini juga masih belum begitu jelas.

Perjalanan alamiah HBK merupakan hasil interaksi yang kompleks antara pejamu, VHB sebagai agen penyakit dan lingkungan. Berdasarkan hasil interaksi tersebut, perjalanan alamiah HBK dapat dibagi ke dalam beberapa fase, yaitu

fase *immune tolerant* (IT) dan *immune clearance* (IC), yang ditandai dengan penanda HBeAg positif, fase *low/non replicative* (LR) dan *e-negative hepatitis B*

(ENH), yang ditandai dengan penanda HBeAg negatif (Yapali *et al.*, 2014). Keempat fase tersebut tidak selalu terjadi secara berurutan (Nguyen *et al.*, 2010) dan tidak semua pasien HBK mengalami semua fase tersebut (Yapali *et al.*, 2014).

Pembagian fase HBK dilakukan berdasarkan status HBeAg, kadar DNA VHB dan kadar ALT pasien (Lampertico *et al.*, 2017; Sarin *et al.*, 2016; Terrault *et al.*, 2016). Fase IT ditandai dengan HBeAg positif, kadar ALT rendah dan kadar DNA VHB yang umumnya tinggi. Fase IC ditandai dengan HBeAg positif, kadar ALT tinggi dan kadar DNA VHB yang juga masih tinggi. Fase LR ditandai dengan

HBeAg negatif dan kadar DNA VHB dan ALT yang rendah. Sementara itu, fase ENH ditandai dengan peningkatan kadar DNA VHB dan/atau kadar ALT dan HBeAg negatif. Dalam perjalanan alamiah infeksi HBK, hilangnya HBeAg yang disertai dengan timbulnya anti-HBe (disebut juga sebagai serokonversi HBeAg) memiliki peranan penting dalam perjalanan infeksi VHB kronis karena dianggap sebagai petanda kesembuhan (Sarin *et al.*, 2016). Serokonversi HBeAg telah dikaitkan dengan menurunnya laju replikasi VHB dalam hepatosit terinfeksi yang diikuti dengan menurunnya risiko timbulnya gagal hati. Namun, penelitian terbaru telah mengungkapkan bahwa HBeAg negatif tidak selalu berarti petanda kesembuhan pada HBK, dan pada beberapa kasus, bahkan pasien HBK dengan HBeAg negatif justru memiliki prognosis yang memburuk dan sulit untuk diobati (Leung *et al.*, 2001; Alexopoulou & Karayiannis, 2014). Jumlah pasien HBK yang masuk kategori ENH dengan risiko perburukan prognosis makin meningkat pada dua dekade terakhir (Nguyen *et al.*, 2010; Turyadi *et al.*, 2013).

HBeAg merupakan protein yang dihasilkan pada proses replikasi namun bukan merupakan bagian struktural dari VHB. Keberadaan HBeAg dikaitkan dengan aktivitas replikasi virus yang sedang berlangsung, namun adanya mutasi yang terjadi pada region *core promoter* (CP) dan *precore* (PC) VHB dapat menyebabkan HBeAg tidak diproduksi atau menjadi negatif. Hal ini dapat mengganggu interpretasi pada pasien HBK karena selama ini serokonversi HBeAg telah dikaitkan dengan penurunan replikasi VHB dan perbaikan fungsi hati (Feld *et al.*, 2007). Mutasi region PC yang sering berpengaruh pada produksi

HBeAg selama replikasi virus adalah mutasi G1896A. Mutasi tersebut mengubah kodon ke-28 yang seharusnya menyandi asam amino triptofan menjadi kodon *stop* sehingga menyebabkan kegagalan produksi HBeAg karena protein prekursor gagal dibentuk (Tong *et al.*, 2007).

Mutasi *basal core promoter* (BCP) yang berkaitan dengan produksi HBeAg adalah mutasi ganda A1762T/G1764A. Beberapa penelitian telah melaporkan bahwa kedua mutasi tersebut menyebabkan penurunan produksi HBeAg, namun juga menyebabkan peningkatan laju replikasi VHB sehingga dapat meningkatkan risiko terjadinya kerusakan hati lebih lanjut (Miyakawa *et al.*, 1997; Kim *et al.*, 2016).

Berdasarkan hasil penelitian kami sebelumnya, 57% dari 152 pasien HBK di Jakarta ditemukan memiliki HBeAg negatif, dan dari kelompok HBeAg tersebut hanya 39,1% diantaranya yang betul-betul mengalami serokonversi HBeAg yang diikuti dengan penurunan kadar DNA VHB. Pasien yang tersisa memiliki HBeAg negatif namun mengalami peningkatan kadar DNA VHB sehingga dikategorikan ke dalam fase ENH HBK (Turyadi *et al.*, 2013). Pasien HBK pada fase ENH tersebut juga ditemukan memiliki proporsi mutasi BCP A1762T/G1764A dan PC G1896A serta jumlah kasus sirosis hati yang paling tinggi dibandingkan fase HBK lainnya (Turyadi *et al.*, 2013).

Penelitian lain pada pasien HBK di Makassar juga menunjukkan proporsi mutasi BCP A1762T/G1764A dan PC G1896A yang lebih banyak ditemukan pada kelompok pasien HBK dengan sirosis dan kanker hati (Daud *et al.*, 2015).

Hasil dari kedua penelitian tersebut menguatkan asumsi bahwa kedua mutasi BCP dan PC tersebut dapat meningkatkan risiko terjadinya sirosis dan kanker hati pada pasien HBK.

Kadar DNA VHB pada pasien HBK diketahui berkorelasi kuat dengan kadar HBsAg terutama pada pasien dengan HBeAg positif. Namun, korelasi yang sama tidak ditemukan pada pasien HBK dengan HBeAg negatif (Turyadi *et al.*, 2013). Hasil tersebut menunjukkan bahwa pemeriksaan kadar HBsAg yang diharapkan dapat bertindak sebagai pengganti pemeriksaan kadar DNA VHB tidak dapat digunakan pada kelompok pasien HBK dengan HBeAg negatif. Hasil senada ditemukan juga pada penelitian ibu hamil dengan HBsAg positif di Makassar, dimana korelasi antara kadar HBsAg dan DNA VHB hanya ditemukan pada kelompok ibu hamil dengan HBeAg positif dan tidak pada kelompok HBeAg negatif (Fujiko *et al.*, 2015).

Disamping faktor virus, beberapa factor pejamu telah diketahui berperan terhadap perjalanan penyakit HBK . Usia, jenis kelamin, dan beberapa faktor genetik. Dari penelitian kohort hepatitis B kronis jangka panjang yang diikuti dari bayi dan anak kecil hingga dewasa, tingkat serokonversi HBeAg spontan rendah (1,70%) sebelum usia 10 tahun, meningkat pada dekade kedua (3,78%) dan pada dekade ketiga (4,02). Dari aspek jenis kelamin, serokonversi lebih banyak terjadi pada wanita remaja dengan haid pertama yang terjadi dini, dan pada pria remaja dan dewasa yang memiliki kadar enzim steroid 5-alpha reductase type II (SRD5A2) yang tinggi (Wu and Chang, 2015).

Disamping hal-hal diatas, beberapa penelitian telah menunjukkan adanya korelasi polimorfisme genetik gen penyandi sitokin regulator tertentu dengan perjalanan infeksi VHB kronis. Sitokin regulator dan sitokin proinflamasi termasuk interleukin-10 (IL-10) dan interferon gamma (IFN- γ) diketahui dapat mempengaruhi perjalanan infeksi VHB kronis. Mutasi G menjadi A pada titik -592 (G-592A) pada promotor gen IL-10 diketahui menyebabkan peningkatan kerentanan terhadap infeksi VHB, namun sebaliknya mutasi A menjadi G pada titik -1082 (G-1082A) dapat menurunkan kerentanan terhadap VHB. Selain itu, mutasi pada titik G-592A juga telah dikaitkan dengan radang pada hati, yang ditandai dengan peningkatan kadar *alanine aminotransferase* (ALT) pada saat proses eliminasi VHB oleh pejamu sehingga diduga berpengaruh besar pada keberhasilan proses eliminasi VHB (Gao *et al.*, 2016). Adanya polimorfisme pada region promotor gen IL-10 telah dilaporkan sebagai salah satu faktor predisposisi terjadinya sirosis hati pada penderita infeksi VHB (Moudi *et al.*, 2016).

Sitokin lain yang diduga kuat berperan pada perjalanan alamiah HBK adalah *tumor necrosis factor alpha* (TNF- α). TNF- α merupakan sitokin proinflamasi yang mempunyai peranan penting pada gejala klinis berbagai penyakit infeksi. TNF- α yang bersifat sitotoksik diproduksi oleh sel T, makrofag dan monosit (Parslow *et al.*, 2001). Kadar TNF- α pada infeksi VHB ditemukan meningkat dan telah dikaitkan dengan gejala yang lebih berat (Kao *et al.*, 2010). TNF- α juga berperan penting dalam menentukan respon imun tubuh terhadap VHB termasuk dalam proses eliminasi VHB. Penelitian sebelumnya telah

menunjukkan bahwa individu dengan infeksi VHB akut mempunyai kadar TNF- α dalam plasma yang lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol, yang mungkin disebabkan oleh adanya mutasi -308 G>A pada promotor gen TNF- α (Somi *et al.*, 2006).

Peranan faktor-faktor imunogenetik pejamu pada pasien HBK masih perlu dikaji lebih lanjut sehingga potensi penggunaannya untuk dijadikan sebagai target intervensi baru untuk penanganan pasien HBK menjadi lebih optimal. Oleh karena itu, penelitian ini difokuskan untuk mengidentifikasi mutasi region CP dan PC VHB pada hepatitis B kronis dan juga mengidentifikasi peranan SNP -308 promotor gen TNF- α dan SNP -592 dan -1082 promotor gen IL-10 pada perjalanan alamiah infeksi hepatitis B kronis.

1.2 Rumusan Masalah

Serokonversi HBeAg pada perjalanan alamiah infeksi hepatitis B kronis (HBK) dianggap sebagai penanda yang positif dan dikaitkan dengan menurunnya replikasi VHB dan perbaikan prognosis. Namun, hasil dari penelitian kami, dan laporan lainnya menunjukkan adanya mutasi VHB, terutama pada region CP dan PC, yang dapat menyebabkan terganggunya ekskresi HBeAg. Mutasi-mutasi tersebut selain mengganggu produksi HBeAg juga berkaitan erat dengan manifestasi klinis dan komplikasi penyakit hati akibat VHB termasuk sirosis dan kanker hati. Pada dua dekade terakhir, dominasi HBeAg negatif pada pasien HBK ditemukan makin meningkat.

Selain faktor virologi, terdapat laporan bahwa faktor pejamu seperti usia dan jenis kelamin, serta imunogenetik seperti SNP pada promotor gen TNF- α dan IL-10 juga berperan terhadap perjalanan penyakit HBK dan implikasinya.

Di Indonesia, sampai saat ini laporan mengenai peran faktor pejamu dan faktor virologi penderita infeksi VHB masih sangat terbatas, padahal faktor-faktor tersebut berkaitan dengan kerentanan terhadap infeksi VHB, perjalanan penyakit HBK serta berbagai implikasinya, seperti terjadinya sirosis hati pada penderita infeksi VHB kronis.

1.3 Pertanyaan Penelitian

1. Apakah tidak terdeteksinya HBeAg pada kelompok pasien HBK fase ENH (hepatitis HBeAg-negatif) disebabkan oleh replikasi virus yang menurun atau karena adanya mutasi, dan bagaimana pola mutasinya?
2. Apakah ada pengaruh mutasi di region CP dan PC VHB terhadap kadar DNA VHB dan terhadap radang hati yang dicerminkan oleh kadar ALT dan AST?
3. Apakah genotipe dan sub tipe VHB berpengaruh pada kadar DNA, ALT dan AST?
4. Apakah mutasi CP dan PC VHB berpengaruh pada perjalanan alamiah HBK?
5. Apakah ada faktor pejamu yang ikut berperan dalam perjalanan infeksi VHB kronis?

1.4 Tujuan Penelitian

1.4.1 Tujuan umum

Mengidentifikasi dan mengetahui peran faktor virologi dan faktor pejamu pada perjalanan alamiah infeksi hepatitis B kronis.

1.4.2 Tujuan khusus

1. Mengidentifikasi mutasi-mutasi CP dan PC VHB pada HBK.
2. Mengetahui hubungan antara kadar DNA VHB, ALT dan AST dengan mutasi pada region CP dan PC pada HBK.
3. Mengetahui sebaran genotipe dan sub tipe VHB pada HBK.
4. Mengetahui hubungan antara genotipe dan sub tipe VHB dengan kadar DNA VHB, ALT dan AST pada HBK.
5. Mengetahui pengaruh mutasi CP dan PC VHB terhadap perjalanan alamiah HBK.
6. Mengetahui sebaran SNP G-308A promoter gen TNF- α dan SNP G-1082A dan SNP A-592C pada promoter gen IL-10 serta pengaruhnya pada perjalanan alamiah HBK.
7. Mengetahui pengaruh bersama faktor virus (mutasi) dan pejamu (SNP) pada perjalanan alamiah HBK

1.5 Manfaat Penelitian

1.5.1 Manfaat ilmiah

Data mengenai peranan berbagai faktor yang berperan pada HBK yang meliputi (a) mutasi pada region CP dan PC VHB, (b) genotipe dan sub tipe VHB dan (c) kadar DNA VHB; dan faktor imunogenetik pejamu yang meliputi SNP pada promotor gen (a) TNF- α dan (b) IL-10 pada fase-fase perjalanan hepatitis B kronis, yang dikaitkan dengan usia dan jenis kelamin pada subjek dari Indonesia, diharapkan dapat melengkapi pengetahuan dalam memahami peranan faktor-faktor tersebut pada perjalanan alamiah infeksi hepatitis B kronis.

1.5.2 Manfaat klinis

Data mengenai peranan berbagai faktor pejamu dan faktor virus pada perjalanan alamiah infeksi hepatitis B kronis dapat menjadi bahan pertimbangan pada tata laksana pengobatan pasien hepatitis B kronis. Berdasarkan data tipe mutasi VHB yang diperoleh, diharapkan dapat disusun suatu algoritme penanganan pasien HBK untuk mengantisipasi terjadinya perburukan penyakit pada penderita hepatitis B kronis.

1.5.3 Manfaat untuk kesehatan masyarakat

Data mengenai peranan berbagai faktor pejamu dan faktor virus pada perjalanan alamiah infeksi hepatitis B kronis dapat membuka peluang untuk

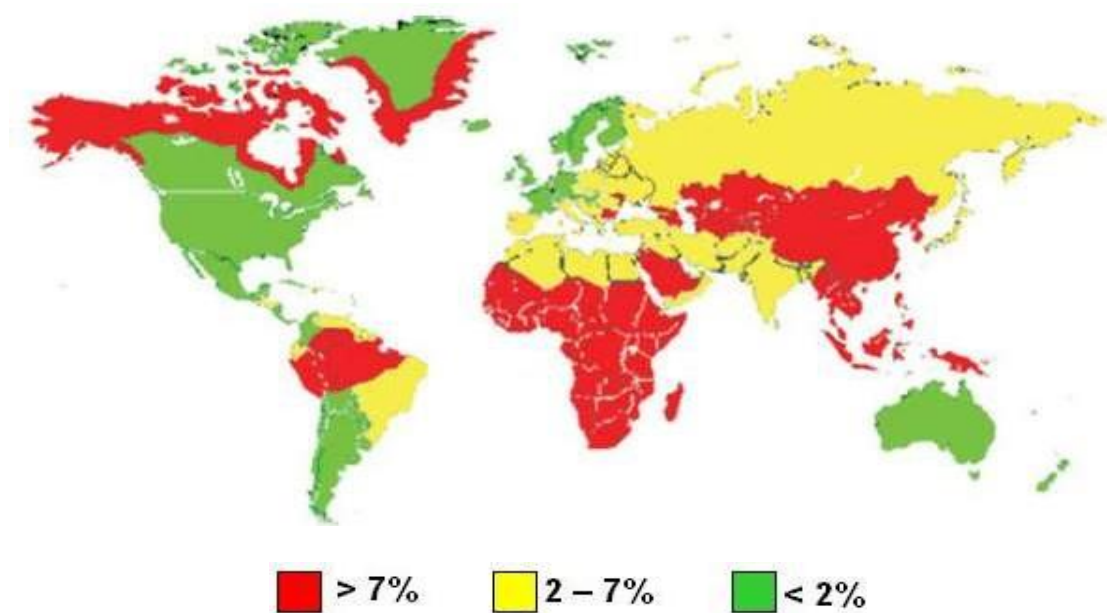
mendapatkan indikator yang dapat memprediksi kemungkinan terjadinya komplikasi lebih lanjut pada pengidap VHB kronis di masyarakat.

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Epidemiologi Virus Hepatitis B

Hepatitis B adalah penyakit yang disebabkan oleh infeksi virus hepatitis B (VHB). Diperkirakan lebih dari 2 miliar penduduk dunia pernah terinfeksi VHB dan sekitar 296 juta di antaranya merupakan pengidap HBK dengan kematian sekitar 820 000 orang meninggal per tahun 2019 terkait HBK. Sebagian besar pengidap HBK, sekitar 60 juta orang, berada di wilayah Asia Tenggara termasuk Indonesia. Berdasarkan laporan tahun 2019, diperkirakan terdapat sekitar 180 ribu pasien hepatitis B kronis meninggal dunia pada tahun 2019 di Asia Tenggara dikarenakan penyakit hati terkait VHB (WHO, 2021).

Data Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) tahun 2013 melaporkan bahwa Indonesia memiliki rata-rata prevalensi hepatitis B sebesar 7,1% (berdasarkan data HBsAg positif) sehingga secara umum dikategorikan sebagai daerah dengan endemisitas VHB sedang hingga tinggi (Schaefer, 2007; Muljono, 2017; Razavi-Shearer *et al.*, 2018; WHO, 2021), seperti terlihat pada Gambar 2.1.



Gambar 2.1 Peta penyebaran hepatitis B di dunia (Carter & Saunders, 2007).

2.2. Klasifikasi Virus Hepatitis B

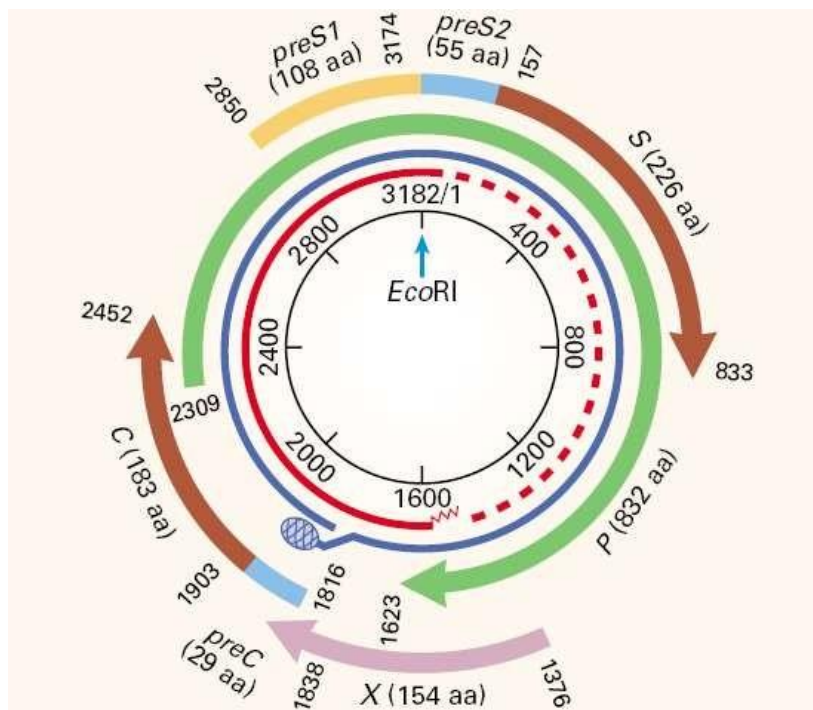
Berdasarkan pada kriteria genom, organisasi genom, strategi dalam proses replikasi, dan jenis pejamunya, VHB dimasukkan ke dalam famili Hepadnaviridae. Famili Hepadnaviridae mempunyai dua genera yaitu orthohepadnavirus yang umum menginfeksi mamalia dan avihepadnavirus yang menginfeksi unggas. VHB digolongkan ke dalam genus orthohepadnavirus bersama dengan *woodchuck hepatitis virus* (WHV), *ground squirrel hepatitis virus* (GSHV), *arctic squirrel hepatitis virus* (ASHV) dan *woolly monkey hepatitis virus* (WMHV). Kelompok avihepadnavirus meliputi *duck hepatitis B virus* (DHBV), *heron hepatitis B virus* (HHBV), *Ross's goose hepatitis B virus* (RGHBV), *snow*

goose hepatitis B virus (SGHBV), *stork hepatitis B virus* (STHBV) dan *crane hepatitis B virus* (HBKV) (Schaefer, 2007; Seeger & Mason, 2015).

2.3. Virologi Virus Hepatitis B

Virus Hepatitis B, yang juga disebut sebagai partikel "Dane", berukuran sekitar 42-47 nm, dan terdiri atas lapisan paling luar yaitu selubung atau *surface* atau *envelope*, yang di dalamnya terdapat selubung dalam berupa kapsid atau *core*. Bagian paling dalam partikel virus adalah genom VHB berupa DNA sirkuler tidak lengkap yang mengikat enzim polimerase. Kapsid dan materi genom serta enzim polimerase di dalamnya secara keseluruhan disebut sebagai nukleokapsid (Seeger & Mason, 2015).

Genom VHB berukuran sekitar 3,2 kilo basa (kb) dalam bentuk sirkuler yang tidak lengkap. Genom VHB memiliki empat *open reading frame* (ORF) yang saling tumpang tindih yaitu: *surface* (S) atau *envelope* yang menyandi protein selubung, *core* (C) yang menyandi protein *core*, *polymerase* (P) yang menyandi protein polimerase dan X yang menyandi protein X (Lee, 2011; Datta *et al.*, 2012). Sistem penomoran basa DNA pada genom VHB umumnya dimulai dari titik pemotongan genom VHB oleh enzim restriksi *EcoRI* (Jalali & Alavian, 2006). Tata letak masing-masing gen pada genom VHB ditampilkan pada Gambar 2.2.

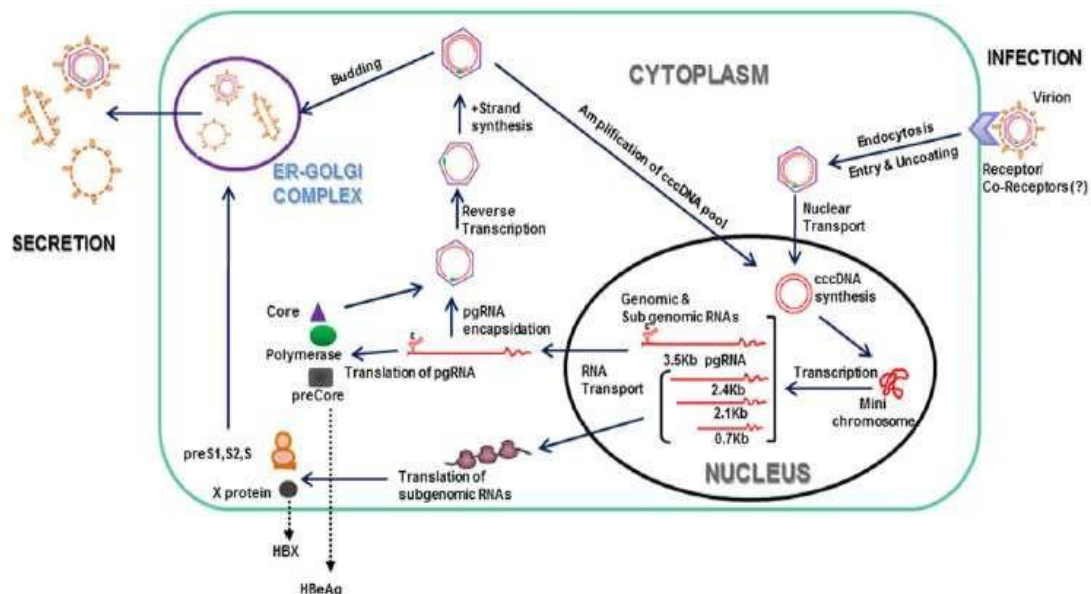


Gambar 2.2 Komposisi gen virus pada genom VHB (Lee, 1997).

2.4. Siklus Hidup Virus Hepatitis B

Virus hepatitis B bersifat hepatotropik, hanya menginfeksi dan berkembang di dalam hepatosit yang terinfeksi. Infeksi hepatitis B terjadi ketika VHB masuk ke dalam aliran darah, virus akan menuju organ hati kemudian masuk ke dalam hepatosit melalui suatu reseptor sel sebagai pintu gerbang yaitu *sodium taurocholate cotransporting polypeptide* (NTCP). Bagian dari virus yang mengenali reseptor tersebut adalah protein pada selubung permukaan, tepatnya protein preS1 (Sarin *et al.*, 2016; Yan *et al.*, 2015). Proses siklus hidup VHB ditampilkan pada Gambar 2.3.

Saat berada dalam sitoplasma hepatosit, VHB akan melepaskan selubung virus dan melepaskan genomnya ke dalam inti sel. Genom VHB yang berbentuk sirkuler tidak penuh yang disebut sebagai *relaxed circular DNA* (rcDNA) mengalami pemanjangan pada bagian yang belum penuh hingga menjadi sirkuler penuh dengan menggunakan perangkat sintesis DNA yang ada dalam inti hepatosit. Genom VHB yang telah berubah menjadi sirkuler penuh kemudian disebut sebagai *covalently closed circular DNA* (cccDNA), membentuk kromosom mini dan menjadi cetakan dalam proses transkripsi semua RNA yang diperlukan dalam proses replikasi VHB (Moolla *et al.*, 2002; Beck & Nassal, 2007).

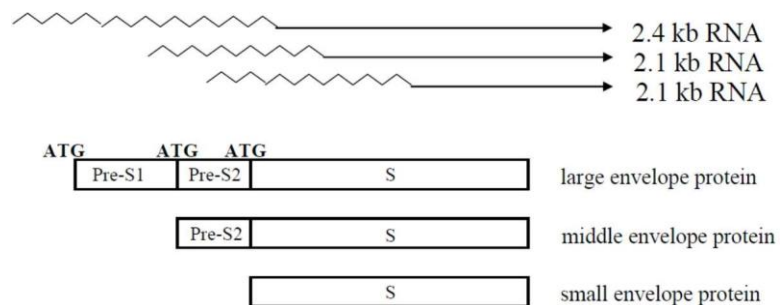


Gambar 2.3 Siklus hidup virus hepatitis B. Virus masuk ke dalam hepatosit melalui reseptor sel dan memasuki nukleus untuk melengkapkan cccDNA yang bersifat untai ganda dari *relaxed circular DNA* (rcDNA). Transkripsi cccDNA digunakan untuk menghasilkan berbagai mRNA virus, termasuk *pregenomic RNA* (pgRNA), yang akan ditranslasi membentuk subpartikel VHB yang baru. Genom baru dibentuk dari transkripsi balik pgRNA (Datta *et al.*, 2012).

cccDNA VHB, dengan memanfaatkan perangkat yang ada dalam inti hepatosit, ditranskripsikan oleh enzim RNA polimerase II untuk menghasilkan 4 jenis mRNA, yaitu mRNA pregenom berukuran sekitar 3,5 kb, mRNA *preS1* dengan ukuran 2,4 kb, mRNA *preS2/S* dengan ukuran 2,1 kb dan mRNA *X* dengan ukuran 0,7 kb. Semua mRNA tersebut mengalami proses *capping* pada ujung 5' serta poliadenilasi pada ujung 3' sebelum dibawa keluar inti menuju sitoplasma hepatosit untuk ditranslasi menghasilkan protein-protein yang dibutuhkan dalam pembentukan virus baru. mRNA *PreS1* menyandi protein *large hepatitis B surface antigen* (LHBsAg), sementara mRNA *PreS2/S* menyandi *middle hepatitis B surface antigen* (MHBsAg) dan *small hepatitis B surface antigen* (SHBsAg), yang akan digunakan untuk menyusun protein selubung VHB (HBsAg). mRNA *preS2/S* memiliki variasi ukuran pada ujung 5' yang menentukan jenis protein yang akan disandi oleh mRNA tersebut, MHBsAg atau SHBsAg (Block, 2008). mRNA pregenom menyandi tiga protein berbeda yaitu protein polimerase (P), protein *precore* dan protein *core*. mRNA pregenom juga akan mengalami transkripsi balik untuk menghasilkan genom virus baru. Genom baru bersama-sama dengan polimerase akan dilingkupi oleh protein *core* kemudian diselubungi oleh HBsAg dan keluar sel menjadi partikel VHB yang baru. Protein *precore* tidak digunakan untuk penyusunan partikel virus baru, namun mengalami modifikasi dan dikeluarkan sebagai protein HBeAg (Moolla *et al.*, 2002).

2.5. Pembentukan Protein Surface VHB

Protein *surface* VHB yang disandi oleh ORF gen S terdiri dari 3 jenis yaitu SHBsAg atau *small envelope*, MHBsAg atau *middle envelope* dan LHBsAg atau *large envelope*. Protein S (SHBsAg) disandi oleh region S, protein MHBsAg disandi oleh PreS2 dan S, sementara LHBsAg disandi oleh PreS1, PreS2 dan S, pada kodon *start* yang berbeda pada gen S VHB dalam kerangka baca yang sama (*inframe*) (Tong *et al.*, 2005). Ketiga protein selubung VHB tersebut dibentuk dalam retikulum endoplasma, dengan komposisi didominasi oleh SHBsAg. Setelah terbentuk, protein-protein HBsAg akan membentuk selubung dan menyelubungi dan membentuk nukleokapsid VHB dalam proses pembentukan partikel virus baru. Jika tidak digunakan dalam pembentukan selubung partikel virus baru, maka akan dihasilkan protein HBsAg berbentuk sferis atau filamen yang dalamnya kosong, yang selanjutnya akan keluar sebagai sub partikel virus yang tidak bersifat infeksius (Block, 2008). Skema translasi protein *surface* VHB ditunjukkan pada Gambar 2.4



Gambar 2.4 Skema mRNA gen *surface* yang menyandi HBsAg (Tong *et al.*, 2005).

2.6. Pembentukan Protein Polimerase VHB

Protein P disandi oleh mRNA pregenom yang ditranskripsikan dari cccDNA dalam proses awal replikasi VHB. Translasi dari ORF polimerase, yang menempati hampir 80% dari genom VHB, menghasilkan peptida polimerase berukuran 90-94 kDa dengan panjang 845 asam amino (Lanford *et al.*, 1999; Datta *et al.*, 2012). Protein P terbagi menjadi 4 regio/domain yaitu terminal protein (TP) (asam amino (aa) 1–182), *spacer* (aa 184–348), Polimerase/RT (aa 349–691) dan RNaseH (aa 692–845). Region polimerase/*Reverse Transcriptase* (P/RT) yang dijadikan sebagai target pengobatan antiviral VHB, dibagi lagi menjadi 4 bagian yaitu A, B, C dan D. Mutasi-mutasi yang terjadi pada region P/RT telah dikaitkan dengan resistensi terhadap beberapa obat-obatan antiviral (Sharon & Chu, 2008).

Saat proses replikasi VHB, protein P/RT melakukan transkripsi balik mRNA pregenom menjadi DNA VHB yang baru, yang lalu akan menempel pada genom virus baru tersebut dan menjadi bagian dari nukleokapsid. RNaseH polimerase berfungsi untuk membuang sisi RNA pada proses transkripsi balik, sehingga hanya menyisakan DNA untai tunggal yang akan menjadi cetakan pada sintesis untai lainnya dan menghasilkan DNA untai ganda yang tidak penuh (Datta *et al.*, 2012).

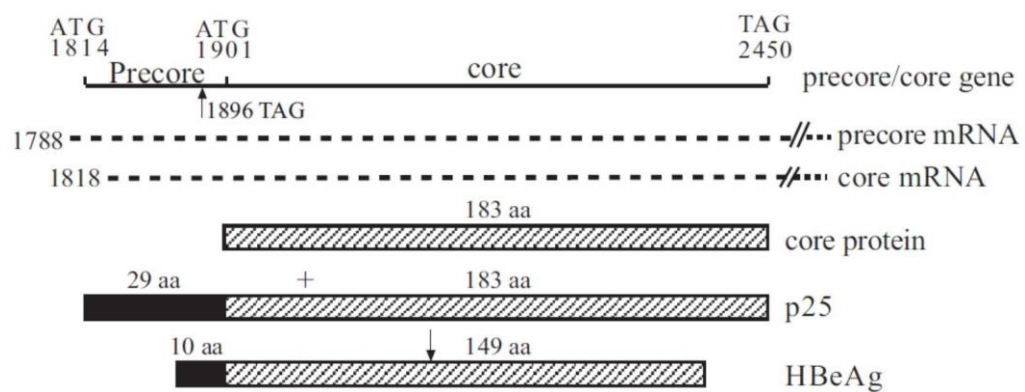
2.7. Pembentukan Protein HBxAg VHB

Antigen “x” hepatitis B (HBxAg) disandi oleh mRNA paling pendek (0,7 kb) yang ditranskripsikan dari gen X. HBxAg merupakan polipeptida berukuran 17 kDa yang terdiri dari 154 asam amino yang mayoritas bersifat hidrofobik (Block, 2008). HBxAg dapat dideteksi dalam serum pada saat terjadi peningkatan replikasi virus. Hal tersebut menunjukkan bahwa HBxAg diekskresikan keluar hepatosit pada saat VHB aktif melakukan proses replikasi (Zhang *et al.*, 2009).

2.8. Pembentukan Protein HBeAg dan HBcAg VHB

HBeAg dan HBcAg disandi oleh ORF *precore/core* yang proses transkripsinya dikendalikan oleh region *basal core promoter* (BCP). HBeAg ditranslasi dari mRNA *precore* yang dimulai dari basa 1788, sementara HBcAg ditranslasi dari mRNA *pregenom* yang dimulai dari basa 1818. Kodon *start* yang menyandi HBeAg berada pada posisi basa 1814–2452, sementara kodon *start* untuk HBcAg dimulai pada basa 1901, namun keduanya berakhir pada kodon *stop* yang sama. Protein *precore* disandi oleh posisi basa 1814 hingga basa 1901 (Yano, 2015), 87 basa lebih awal dibandingkan kodon *start* yang menyandi HBcAg. Oleh karena itu, prekursor HBeAg memiliki 29 aa tambahan pada ujung terminal N, dengan panjang total 212 aa dan berukuran 25 kDa. Tambahan 29 aa pada ujung terminal N akan mengarahkan polipeptida tersebut menuju retikulum endoplasma, dimana 19 dari 29 asam amino tersebut akan dipotong oleh signal peptidase. Polipeptida tersebut selanjutnya akan menuju badan golgi, dimana 34 aa tambahan pada bagian ujung terminal C yang kaya arginin akan

dipotong oleh endopeptidase, sebelum akhirnya dikeluarkan dari sel menuju aliran darah sebagai HBeAg. Setelah proses pasca-translasi, protein HBeAg menjadi lebih panjang 10 aa pada terminal N dan lebih pendek 34 aa pada terminal C, jika dibandingkan dengan protein *core*. Meski mayoritas urutan asam amino HBeAg dan HBcAg sama, namun adanya ikatan disulfida pada HBeAg menghasilkan protein dengan struktur yang berbeda dari HBcAg (Tong *et al.*, 2005).



Gambar 2.5 Ekspresi dan translasi HBeAg dan HBcAg dari gen *precore/core*. HBeAg dan HBcAg ditranslasi pada kerangka baca yang sama, tetapi pada kodon *start* yang berbeda (Tong *et al.*, 2005).

HBcAg disandi oleh mRNA pregenom yang ditranskripsikan mulai basa 1818. Translasi dimulai dari kodon *start* pada basa 1901 dengan posisi kodon *stop* pada titik 2452 yang menghasilkan protein HBcAg berukuran 183 aa. Saat proses replikasi virus, HBcAg melakukan kapsidasi genom mRNA VHB yang diubah menjadi genom DNA oleh enzim *reverse transcriptase*. Kapsid yang berisi genom dan protein polimerase akan dibawa keluar sel sebagai partikel VHB baru

setelah diselubungi oleh protein HBsAg yang dibentuk pada retikulum endoplasma. Namun, nukleokapsid juga bisa masuk lagi ke dalam inti sel hepatosit dan menyebabkan serangkaian kejadian yang sama seperti pada infeksi sebelumnya, dan juga menyebabkan timbulnya infeksi baru (Block, 2008).

Transkripsi mRNA pregenom diatur oleh *Enhancer II* (EnhII) yang letaknya tumpang tindih dengan region gen X dan region BCP, sehingga mutasi pada region BCP dapat mempengaruhi ekspresi RNA pregenom dan produksi selanjutnya dari HBeAg. Region BCP lokasinya membentang dari basa 1742–1849. Saat proses replikasi VHB, mRNA pregenom menghasilkan polipeptida *precore* dan *core* dengan kodon *start* yang berbeda, dimana kodon *start* untuk protein *core* berada pada posisi hilir sedangkan kodon *start* untuk protein *precore* berada pada posisi hulu (Tong, 2005; Ayari *et al.*, 2012) (Gambar 2.5).

Mutasi VHB yang umum ditemukan pada region BCP adalah mutasi ganda yang mengubah adenin menjadi timin pada posisi nukleotida (nt) 1762 (A1762T) dan guanin menjadi adenin pada posisi nt1764 (G1764A). Mutasi ganda tersebut telah dilaporkan dapat menyebabkan penurunan produksi HBeAg. Namun, mutasi ganda tersebut ternyata juga memiliki dampak lain yaitu meningkatkan laju replikasi virus serta meningkatkan risiko terjadinya kerusakan hati lebih lanjut pada pasien HBK (Miyakawa *et al.*, 1997). Mutasi VHB lain yang umum ditemukan pada region *precore* (PC) adalah mutasi pada posisi nt1896, perubahan guanin menjadi adenin (G1896A) yang berakibat pada perubahan translasi protein dari triptofan menjadi kodon *stop* yang lebih awal. Mutasi

G1896A mengakibatkan terhentinya translasi protein *precore* sebagai prekursor HBeAg dan menghentikan produksi HBeAg (Wright, 2006).

2.9. Genotipe dan Subtipe VHB

Virus hepatitis B merupakan virus DNA, namun demikian dalam siklus hidupnya mengalami fase RNA intermediat dimana genom DNA VHB baru terbentuk dari hasil proses transkripsi balik RNA pregenom VHB. Transkripsi balik tersebut melibatkan enzim transkriptase *RNA dependent DNA polymerase* (RdDp) yang tidak mempunyai kemampuan *proofreading*, dan hal tersebut menyebabkan laju mutasi VHB yang tinggi, sekitar 10 kali lipat lebih tinggi dibandingkan dengan virus DNA lainnya (Hunt *et al.*, 2000).

Mutasi VHB yang disebabkan oleh tidak adanya kemampuan *proofreading* dari enzim *reverse transcriptase* bersifat acak. Namun demikian, karena susunan gen pada genom VHB yang saling tumpang tindih, maka mutasi pada satu gen juga berpotensi berpengaruh pada gen yang lain, sehingga sebagian besar mutasi tersebut bersifat letal. Mutasi VHB yang dipertahankan adalah mutasi yang telah terseleksi bersifat menguntungkan bagi virus, yang memungkinkan virus dapat lolos dari respon imun pejamu dan lingkungannya. Sebagai akibatnya, pola mutasi VHB bersifat khas pada tiap kelompok etnik tertentu yang juga memiliki respon imun tertentu (Gao *et al.*, 2016).

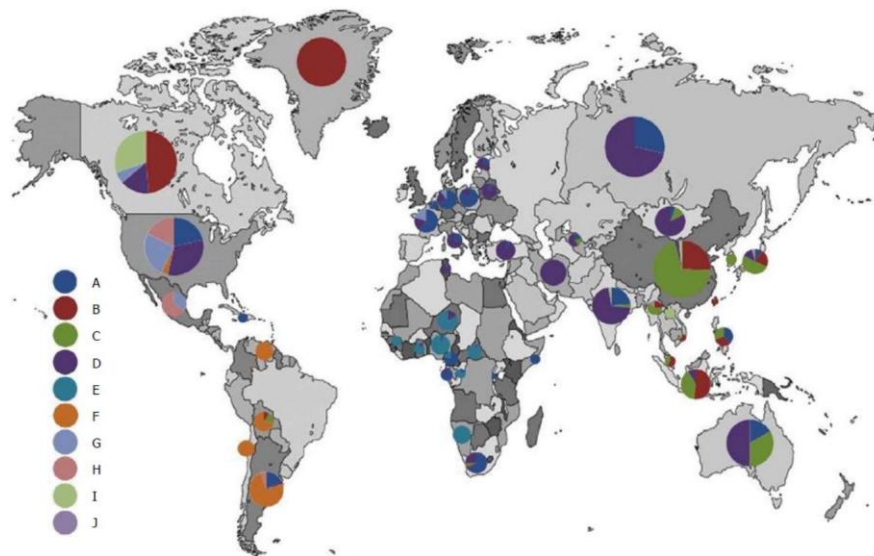
Secara umum, mutasi yang terjadi secara terus menerus menyebabkan timbulnya variasi genom pada VHB. Variasi tersebut kemudian dijadikan dasar

pengelompokan VHB ke dalam genotipe yang berbeda. Okamoto *et al.* (1988) memperkenalkan pengelompokan VHB berdasarkan perbedaan genom VHB $\geq 8\%$ dari genom lengkap, dan membagi VHB ke dalam 4 genotipe yaitu A, B, C dan D. Genotipe VHB selanjutnya dapat dikelompokkan lagi ke dalam beberapa subgenotipe berdasarkan perbedaan $\geq 4\%$ dari genom lengkap VHB dengan genotipe yang sama (Schaefer, 2007; Croagh, 2015).

Hingga saat ini telah diidentifikasi sebanyak 10 genotipe VHB yaitu genotipe A hingga J. Berdasarkan berbagai penelitian, genotipe A–H VHB tersebut terdistribusi secara geografis (Liu *et al.*, 2013; Kramvis, 2014). Genotipe A VHB umumnya mendominasi wilayah Eropa bagian barat laut serta Amerika Utara dan Selatan. Genotipe B dan C banyak ditemukan di wilayah Asia. Genotipe D tersebar di wilayah Eropa Timur dan Mediterania. Sementara itu, genotipe VHB yang lain ditemukan tersebar di wilayah Afrika Barat dan Selatan (genotipe E), Amerika Tengah dan Selatan (genotipe F dan H) dan Perancis dan Amerika Serikat (genotipe G) (Pujol *et al.*, 2009). Genotipe I dan genotipe J sendiri secara berturut-turut telah teridentifikasi pada sampel dari Asia Tenggara dan Jepang (Angounda *et al.*, 2016). Di Indonesia sendiri, genotipe yang mendominasi adalah genotipe B dan C (Mulyanto *et al.*, 2009; Thedja *et al.*, 2011). Sebaran genotipe VHB di dunia ditampilkan pada Gambar 2.6.

Selain sebagai bagian dari epidemiologi VHB yang berkaitan dengan etnik dan geografi pejamu, genotipe VHB diketahui juga mempunyai konsekuensi klinis dalam perjalanan penyakit VHB. Infeksi VHB genotipe C dilaporkan berisiko

lebih tinggi untuk berkembang menjadi sirosis dan kanker hati, terutama untuk pasien HBK di kawasan Asia (Pan & Zhang, 2005). Delesi pada ujung 3' preS1 atau ujung 5' preS2 banyak ditemukan pada VHB genotipe A1, B dan C yang mungkin disebabkan oleh masa replikasi virus yang berkepanjangan (Tong & Revill, 2016).



Gambar 2.6 Peta sebaran genotipe VHB di dunia. Genotipe VHB yang terdistribusi di Indonesia didominasi oleh genotipe B dan C (Shi *et al.*, 2013).

Mutasi pada region BCP dan PC yang berkaitan dengan pembentukan HBeAg pada proses replikasi VHB diketahui juga berkaitan dengan genotipe VHB. Mutasi BCP dan PC lebih banyak ditemukan pada pasien HBK dengan genotipe C dibandingkan pada genotipe B. Selain itu, ada keterkaitan antara tingginya angka mutasi BCP dan PC dengan angka kejadian sirosis dan kanker hati yang lebih tinggi pada VHB genotipe C. Sementara itu, pasien HBK dengan

VHB genotipe B diketahui mempunyai respon terhadap pengobatan berbasis interferon yang lebih baik dibandingkan genotipe C (Tong & Revill, 2016).

Selain pembagian berdasarkan genotipe, VHB juga dapat dibedakan menurut sub tipe, yaitu tipe antigen permukaan yang dapat dibedakan secara serologi, sehingga sub tipe disebut juga sebagai serotipe. Antigen permukaan VHB (HBsAg) mempunyai tiga daerah antigen utama yaitu (1) antigen “a” yang spesifik untuk semua kelompok VHB, (2) antigen “d” atau “y” yang spesifik untuk sub tipe tertentu dan (3) antigen “r” atau “w” yang spesifik untuk sub tipe tertentu (Lai & Locarnini, 2002; Yano, 2015). Berdasarkan kombinasi dari ketiga antigen HBsAg tersebut, VHB dapat diklasifikasikan menjadi empat sub tipe utama, *adr*, *adw*, *ayr* dan *ayw* (Ben-Porath *et al.*, 1985). Penentuan sub tipe VHB tersebut dilakukan dengan melihat jenis asam amino pada posisi 122 dan posisi 160 dari protein S. Asam amino pada posisi 122 menentukan antigen kedua dalam pembagian sub tipe, *ad*- untuk lisin (K) dan *ay*- untuk arginin (R), sedangkan asam amino pada posisi 160 menentukan antigen ketiga pada sub tipe, *a-w* untuk lisin (K) dan *a-r* untuk arginin (R) (Lai & Locarnini, 2002).

Klasifikasi sub tipe VHB kini telah dikembangkan dari empat sub tipe menjadi sembilan sub tipe yaitu *ayw1*, *ayw2*, *ayw3*, *ayw4*, *ayr*, *adw2*, *adw4*, *adrq+* dan *adrq-*. Asam amino pada posisi ke 127 protein S digunakan untuk klasifikasi lebih lanjut pada sub tipe utama *adw* dan *ayw*. Antigen *w* dibedakan menjadi *w1/w2*, *w3* atau *w4*, jika asam amino pada posisi 170 berturut-turut merupakan prolin (P), treonin (T) atau leusin (L). Sementara itu, asam amino yang terletak

pada posisi 134, 143, 159, 161 dan 168 protein S digunakan untuk membedakan antara sub tipe *ayw1* dan *ayw2*. Sub tipe *ayw1* memiliki asam amino fenilalanin (F), T, alanin (A), tirosin (Y) dan valin (V), sedangkan *ayw2* memiliki asam amino Y, serin (S), glisin (G), F dan A pada kelima posisi tersebut. Sub tipe *adw2* mempunyai kesamaan asam amino dengan *ayw1* pada kelima posisi tersebut. Sub tipe *adrq+* dan *adrq-* dibedakan berdasarkan jenis asam amino pada posisi 159 dan 177, asam amino A dan V untuk *adrq+* serta V dan A untuk *adrq-* (Norder *et al.*, 1992).

2.10. Mutasi CP dan PC pada Infeksi Hepatitis B Kronis

Region *core promoter* (CP) VHB mengatur proses transkripsi mRNA pregenom dari VHB yaitu mRNA *precore* dan mRNA *core*. Region CP VHB terdiri dari 2 region yaitu *upper regulatory region* (URR) pada posisi basa 1613–1742 dan BCP pada posisi basa 1742–1849. Region CP tersebut memegang peranan penting dalam proses replikasi VHB dan juga dalam perjalanan infeksi VHB kronis. Mutasi yang terjadi pada region CP, baik tunggal maupun ganda, sangat berpotensi mempengaruhi proses transkripsi mRNA *precore* maupun mRNA pregenom, baik salah satu maupun keduanya. Mutasi CP juga dapat berdampak pada pembentukan kedua mRNA tersebut, baik berakibat pada peningkatan ataupun penurunan pembentukan kedua mRNA tersebut (Kitab *et al.*, 2012).

Beberapa mutasi CP telah dilaporkan dapat menurunkan ekspresi HBeAg pada tingkat transkripsi. Mutasi CP yang paling sering terjadi adalah mutasi ganda pada A1762T/G1764A, yang dapat menurunkan tingkat transkripsi HBeAg

hingga 50-70%, namun mutasi tersebut telah terbukti dapat meningkatkan replikasi VHB secara *in vitro* (Kitab *et al.*, 2012). Mutasi A1762T/G1764A juga telah dikaitkan dengan perkembangan penyakit hati yang lebih berat pada pasien HBK dan dapat meningkatkan virulensi serta meningkatkan risiko terjadinya gagal hati, sirosis dan kanker hati (Tu, 2015).

Mutasi VHB lain yang mempengaruhi produksi HBeAg adalah mutasi PC G1896A yang mengubah kodon ke-28 TGG yang menyandi asam amino triptofan (W) menjadi kodon *stop* TAG. Sebagai akibat dari mutasi G1896A, translasi yang seharusnya menghasilkan HBeAg mengalami interupsi setelah kodon ke-28, sehingga protein HBeAg menjadi tidak terbentuk. Mutasi G1896A juga telah dikaitkan dengan perkembangan penyakit pada infeksi VHB (Wright, 2006). Hasil penelitian terbaru menunjukkan bahwa mutasi VHB yang terjadi pada region CP, baik pada region URR maupun pada BCP, serta mutasi pada region PC banyak dikaitkan dengan prognosis penyakit pada infeksi VHB (Ren *et al.*, 2010; Al-Qahtani *et al.*, 2018; Gil-García *et al.*, 2019).

2.11. Perjalanan Alamiah Infeksi Hepatitis B Kronis

Perjalanan alamiah infeksi VHB merupakan manifestasi yang dipengaruhi oleh faktor agen (VHB), faktor pejamu dan faktor lingkungan. Usia penderita pada saat infeksi awal terjadi merupakan faktor penentu penting pada perjalanan infeksi VHB, dan dapat menentukan kronisitas dari infeksi VHB tersebut (Pan & Zhang, 2005). Infeksi VHB yang terjadi pada saat baru lahir atau 2 tahun pertama

kehidupan, sekitar 95% akan berlanjut menjadi infeksi VHB kronis. Sementara itu, infeksi VHB yang terjadi pada usia dewasa, dengan sistem imunitas yang sudah berkembang, hanya sekitar 1-5% yang akan berlanjut menjadi infeksi VHB kronis sedangkan sisanya menjadi infeksi VHB akut (Pungpapong *et al.*, 2007; Alexopoulou & Karayiannis, 2014). Infeksi VHB pada wilayah dengan prevalensi VHB tinggi seperti di kawasan Asia termasuk Indonesia, umumnya terjadi pada usia bayi atau kanak-kanak, sebagai akibat penularan secara vertikal dari ibu pengidap VHB maupun secara horizontal karena hidup bersama dengan pengidap VHB (Gunardi *et al.*, 2017).

2.11.1. Fase *Immune tolerant* (IT)

Sistem imun pada bayi atau kanak-kanak umumnya masih belum matang, sehingga jika infeksi VHB terjadi pada masa tersebut, keberadaan VHB umumnya akan ditoleransi oleh sistem imun yang belum matang tersebut. VHB tidak bersifat sitopatik, dan siklus replikasinya pun tidak merusak hepatosit. Hal tersebut menyebabkan tidak terjadinya gangguan hati yang ditandai dengan tetap normalnya kadar parameter fungsi hati, ALT dan AST, dan tidak adanya gejala infeksi VHB meskipun replikasi VHB tetap berlangsung (Pungpapong *et al.*, 2007). Fase IT ditandai dengan kadar VHB yang relatif tinggi namun dengan kadar ALT dan AST normal, yang mengindikasikan tidak adanya kerusakan atau adanya kerusakan minimal pada hati. Fase IT dapat berlangsung selama beberapa dekade, dan biasanya tergantung pada usia pejamu saat terinfeksi VHB pertama kali. Tidak adanya gejala yang timbul pada fase IT menyebabkan

banyak pengidap infeksi VHB kronis pada fase IT yang tidak mengetahui status infeksi. Sebagian besar pengidap HBK tersebut umumnya mengetahui status hepatitis B-nya pada saat cek kesehatan atau saat skrining menjadi donor darah. Pengidap VHB kronis pada wilayah dengan prevalensi VHB tinggi umumnya didominasi oleh fase (Alexopoulou & Karayiannis, 2014).

2.11.2. Fase *Immune clearance* (IC)

Dipicu oleh penyebab yang masih belum diketahui secara jelas, respon imun pejamu suatu saat akan mengenali bahwa VHB merupakan benda asing yang harus disingkirkan. Respon dari sistem imun terhadap keberadaan VHB tersebut mengakhiri fase IT dan menandai dimulainya fase selanjutnya yaitu fase *immune clearance* (IC). Sistem imun pejamu akan berusaha untuk melakukan eliminasi VHB dari hepatosit. Aktivitas respon imun tersebut dapat mengakibatkan kerusakan hepatosit, bahkan hingga menimbulkan kerusakan jaringan hati yang dapat menyebabkan gangguan fungsi hati. Hal tersebut ditandai dengan adanya kenaikan kadar ALT dan AST dalam darah sebagai parameter gangguan fungsi hati (Croagh, 2014). Jika respon imun tidak berhasil dengan sempurna, fase IC akan terus berlanjut dengan penanda HBeAg yang positif atau tidak konsisten (terkadang positif terkadang negatif), dengan kadar DNA VHB yang tetap meningkat. Fase IC yang berkepanjangan dan tidak efektif akan memicu terjadinya fibrosis hati bahkan sirosis hati pada pasien HBK (Chan *et al.*, 2009).

2.11.3. Fase *Low/non replicative* (LR)

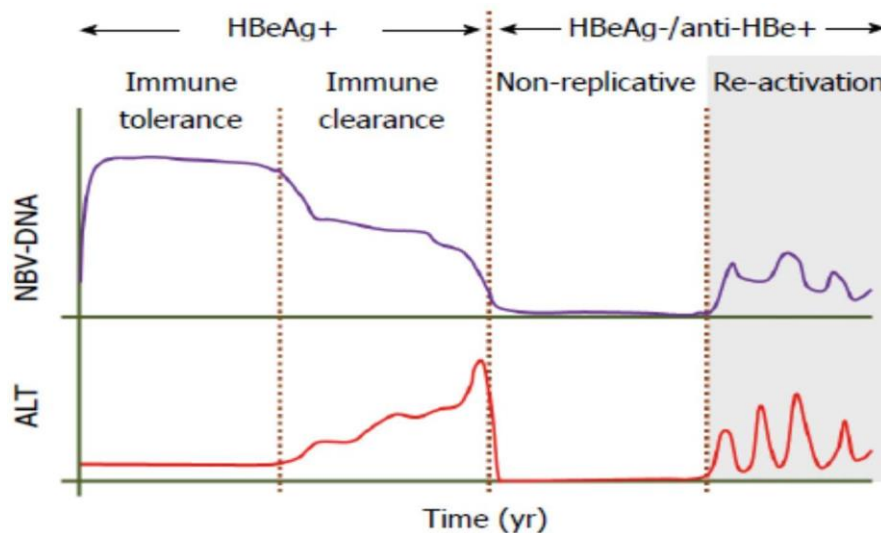
Fase *low/non replicative* (LR) ditandai dengan penurunan kadar DNA VHB, hingga mencapai kurang dari 2.000 IU/mL, sebagai akibat dari aktivitas respon imun yang juga diikuti dengan perbaikan fungsi hati yang ditandai dengan penurunan kadar ALT dan AST menuju kadar normal. Fase LR merupakan fase yang diharapkan untuk pasien HBK karena umumnya terjadi penurunan kadar VHB (Feld *et al.*, 2007). Peristiwa penting yang juga terjadi pada fase LR adalah serokonversi HBeAg, dari HBeAg positif dan anti-HBe negatif menjadi HBeAg negatif dan anti-HBe positif. Serokonversi tersebut dianggap sebagai petanda penurunan replikasi VHB dan perbaikan prognosis penyakit hepatitis B (Feld *et al.*, 2007). Keadaan tersebut umumnya diikuti dengan proses peradangan hati yang menjadi minimal, dan secara klinis penderita memasuki HBK asimtomatik (Chan *et al.*, 2009).

2.11.4. Fase "*e*"-negative hepatitis B (ENH)

Sebagian dari pasien HBK (20-30% dari fase LR) akan mengalami peningkatan replikasi VHB kembali, yang dapat mengakibatkan dua hal berbeda yaitu (1) progresi selanjutnya ke fase ENH dengan HBeAg yang tetap negatif namun kadar ALT dan DNA VHB yang meningkat (kadar VHB >2.000 IU/mL) atau (2) regresi kembali menjadi fase IC jika reaktivasi VHB diikuti dengan adanya seroreversi HBeAg (Fattovich *et al.*, 2008; Sarin *et al.*, 2016). Fase hepatitis B kronis HBeAg-negatif (e-CHB atau ENH) ini ditandai dengan meningkatnya replikasi aktif DNA VHB yang bermanifestasi pada berbagai

tingkat keparahan penyakit hati yang ditandai dengan nilai ALT yang bervariasi sebagai penanda proses peradangan hati dengan atau tanpa bukti histologis dari sirosis.

Kriteria pasien HBK pada fase ENH adalah HBsAg positif lebih dari 6 bulan, HBeAg negatif, anti-HBe positif, DNA VHB serum terdeteksi, penyakit hati aktif yang ditandai dengan kenaikan kadar AST atau ALT, dengan histologi yang menunjukkan adanya hepatitis kronis, dengan atau tanpa sirosis hati (Jalali & Alavian, 2006).



Gambar 2.7 Perjalanan alamiah infeksi hepatitis B kronis. Serokonversi HBeAg merupakan peristiwa yang sangat penting pada perjalanan infeksi HBK (Alexopoulou & Karayiannis, 2014).

Fase-fase dalam perjalanan VHB kronis tidak selalu terjadi secara berurutan dan tidak semua pengidap VHB kronis mengalami semua fase tersebut. Periode waktu untuk setiap fase pun tidak selalu sama pada tiap individu. Gejala infeksi VHB hanya muncul pada fase IC dan ENH, sehingga dalam tata laksana

penanganannya, infeksi VHB kronis dapat dibedakan menjadi VHB kronis dengan HBeAg positif dan HBeAg negatif. Pada awalnya, penderita hepatitis B kronis dengan HBeAg negatif jarang ditemukan, namun proporsi penderita ENH ditemukan makin meningkat dari keseluruhan penderita HBK (Feld *et al.*, 2007), terutama pada dua dekade terakhir, bahkan sekarang menjadi salah satu masalah baru pada infeksi VHB selain infeksi VHB tersamar. Skema perjalanan alamiah infeksi hepatitis B kronis dirangkum pada Gambar 2.7.

2.12. Respon Imun pada Infeksi VHB

Respon imun pejamu terhadap infeksi VHB merupakan suatu interaksi antara berbagai komponen sistem imun. Sel Kupffer sebagai *antigen presenting cell* (APC) residen di organ hati akan mengenali semua antigen asing yang masuk ke dalam hati termasuk VHB. Sel Kupffer akan menelan, mencerna dan mempresentasikan (sebagai antigen) VHB yang menginfeksi hepatosit melalui *major histocompatibility complex class II* (MHCII) pada membran hepatosit. Antigen pada MHCII tersebut kemudian akan dikenali oleh sel T CD4+ (*T helper*, Th) yang berakibat pada aktivasi sel Th tersebut. Sel Th teraktivasi akan menghasilkan sitokin yang lalu mengaktivasi sel-sel imun lain yaitu sel T CD8+ (*T cytotoxic*, Tc) dan sel B (Huang *et al.*, 2006). Sel Tc teraktivasi, dibantu oleh sel Th, akan mengenali hepatosit yang terinfeksi VHB melalui antigen spesifik yang dipresentasikan melalui *MHC class I* (MHCI). Presentasi antigen VHB melalui MHCI juga akan mengaktifkan lebih banyak populasi sel Tc. Sel Tc dapat

menghambat proses replikasi virus melalui dua cara yaitu dengan (1) memproduksi sitokin-sitokin antiviral yang dapat mengeluarkan VHB tanpa melisis hepatosit terinfeksi, atau (2) menyebabkan lisisnya hepatosit yang terinfeksi, yang umumnya lebih sering terjadi (Huang *et al.*, 2006).

2.12.1. Respon imun pada infeksi hepatitis B akut

Mekanisme eliminasi virus pada infeksi akut VHB telah banyak diteliti, baik pada penelitian klinis maupun eksperimental. Ratnam dan Visvanathan (2008) telah mengidentifikasi beberapa komponen sistem imun yang terlibat dalam proses eliminasi virus pada infeksi akut VHB yaitu sel Tc, sel Th, sel NK (*natural killer*) dan sel B. Sel Tc dapat mengenali hepatosit terinfeksi melalui ekspresi antigen virus pada permukaan selnya yang lalu memicu sel terinfeksi tersebut untuk lisis. Sel Th1 memproduksi sitokin-sitokin proinflamasi, seperti IFN, TNF, dan interleukin 12 (IL-12) yang mempunyai aktivitas antivirus dan dapat menekan reproduksi virus dalam hepatosit. Hepatosit terinfeksi VHB juga dapat dihancurkan oleh komponen imunitas bawaan, misalnya sel NK dan sel *natural killer* T (NKT), sedangkan sel B dapat memproduksi antibodi anti-HBs yang mampu menetralkan virus dan mencegah terjadinya infeksi baru pada hepatosit. Terjadinya lisis dan apoptosis pada hepatosit yang terinfeksi dapat memicu terjadinya proses proliferasi hepatosit yang normal (Ratnam & Visvanathan, 2008).

2.12.2. Respon imun pada infeksi hepatitis B kronis

Respon sel T sitotoksik (*cytotoxic T lymphocyte* = CTL) pada infeksi hepatitis B kronis umumnya lebih lemah dibandingkan respon yang terjadi pada infeksi akut, dan biasanya bersifat monospesifik atau oligospesifik. Beberapa faktor yang diketahui dapat menyebabkan persistensi infeksi VHB yaitu sel T, HBeAg, integrasi genom VHB, faktor genetik pejamu, mutasi pada PC dan defisiensi IFN. Laju replikasi virus pada awal infeksi hepatitis B sangat lambat jika dibandingkan virus lain seperti *human immunodeficiency virus* (HIV) dan *cytomegalovirus* (CMV). Hal tersebut mengakibatkan respon imun pejamu yang terpicu, terutama respon imun adaptif, menjadi lambat sehingga virus dapat bertahan lebih lama di dalam hepatosit terinfeksi (Lemon & Zuckerman, 2005).

VHB tidak bersifat sitotoksik. Kerusakan jaringan yang terjadi adalah akibat dari respon sistem imun, yang menyebabkan lisisnya sel-sel yang mengandung VHB, sebagai usaha inang dalam mengatasi infeksi VHB. Meskipun semua komponen sistem imun berperan penting dalam proses eliminasi VHB, sel Tc (CTL) telah diidentifikasi sebagai komponen imun utama dalam proses eliminasi VHB. Lemahnya respon imun CTL mengakibatkan infeksi VHB berkembang menjadi kronis. Kelemahan respon CTL tersebut dapat disebabkan oleh VHB sendiri, melalui adanya ketidakcocokan epitop pada antigen HBcAg virus dan HLA pejamu. Di samping itu, kelemahan respon imun tersebut dapat disebabkan oleh adanya defisiensi IFN, yang menyebabkan tidak efektifnya respon imun, sehingga terjadi infeksi kronis VHB. IFN yang bersifat

sebagai imunomodulator memegang peranan penting pada respon imun bawaan pada proses eliminasi virus. Tidak adanya aktivitas IFN yang memadai dapat menyebabkan VHB lolos dari respon imun bawaan (Lemon & Zuckerman, 2005).

Semakin tinggi nilai HBeAg menandai makin tinggi pula tingkat replikasi virus yang sedang berlangsung. Selain itu, HBeAg juga memegang peranan penting pada proses terjadinya infeksi kronis hepatitis B, karena bersifat tolerogen yang menyebabkan infeksi VHB menjadi persisten (Walsh & Locarnini, 2012). Hampir semua bayi yang terlahir dari ibu dengan HBeAg positif akan terinfeksi VHB, dan 90% diantaranya akan berkembang menjadi hepatitis B kronis (Lemon & Zuckerman, 2005). Mutasi pada region *precore* VHB diketahui dapat menyebabkan kegagalan produksi HBeAg. Meskipun serokonversi HBeAg biasanya dikaitkan dengan proses replikasi virus yang terkendali, namun adanya mutasi pada *precore* dapat menyebabkan meningkatnya replikasi VHB (Bertoletti, 2006).

Integrasi genom VHB ke dalam genom pejamu dapat terjadi pada infeksi VHB kronis, dan menyebabkan ekspresi HBsAg tanpa disertai dengan replikasi virus. Integrasi genom VHB tersebut lama-kelamaan dapat menyebabkan perubahan pada hepatosit. Hepatosit dengan genom VHB terintegrasi biasanya dapat lolos dari respon imun karena tidak mengekspresikan protein HBcAg maupun HBeAg (Lemon & Zuckerman, 2005).

2.13. *Tumor Necrosis Factor Alpha* (TNF- α) dan Interleukin-10 (IL-10)

Tumor necrosis factor alpha (TNF- α) merupakan sitokin proinflamasi yang mempunyai peranan penting pada gejala klinis berbagai penyakit infeksi. Secara umum, sitokin yang bersifat sitotoksik ini diproduksi oleh makrofag, monosit dan sel T (Nedwin *et al.*, 1985). Regulasi dan produksi TNF- α disandi oleh gen *TNF α* yang pada manusia berada pada lokus p21.3 kromosom 6, tepatnya terletak pada *major histocompatibility complex* (MHC) kelas III (Knight, 2007; Cereda *et al.*, 2012).

TNF- α diproduksi sebagai bentuk pertahanan imunologis awal pada saat terjadinya suatu infeksi. TNF- α dalam fungsinya melawan patogen yang masuk ke dalam tubuh memiliki spektrum yang luas (non-spesifik). Hal tersebut dapat mengakibatkan penyakit infeksi menjadi bertambah parah apabila TNF- α diproduksi terlalu banyak (Santos *et al.*, 2006).

Single nucleotide polymorphism (SNP) nukleotida -308 yang mengubah G menjadi A (G-308A) pada daerah promotor TNF- α telah banyak dihubungkan dengan meningkatnya kerentanan terhadap berbagai penyakit infeksi (Knight, 2007). Kadar TNF- α yang ditemukan meningkat pada infeksi VHB telah dikaitkan dengan gejala penyakit hati yang lebih berat (Kao *et al.*, 2010). Selain itu, TNF- α juga berperan penting dalam menentukan respon imun terhadap VHB termasuk dalam proses eliminasi VHB. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa individu dengan infeksi VHB akut mempunyai kadar TNF- α dalam plasma

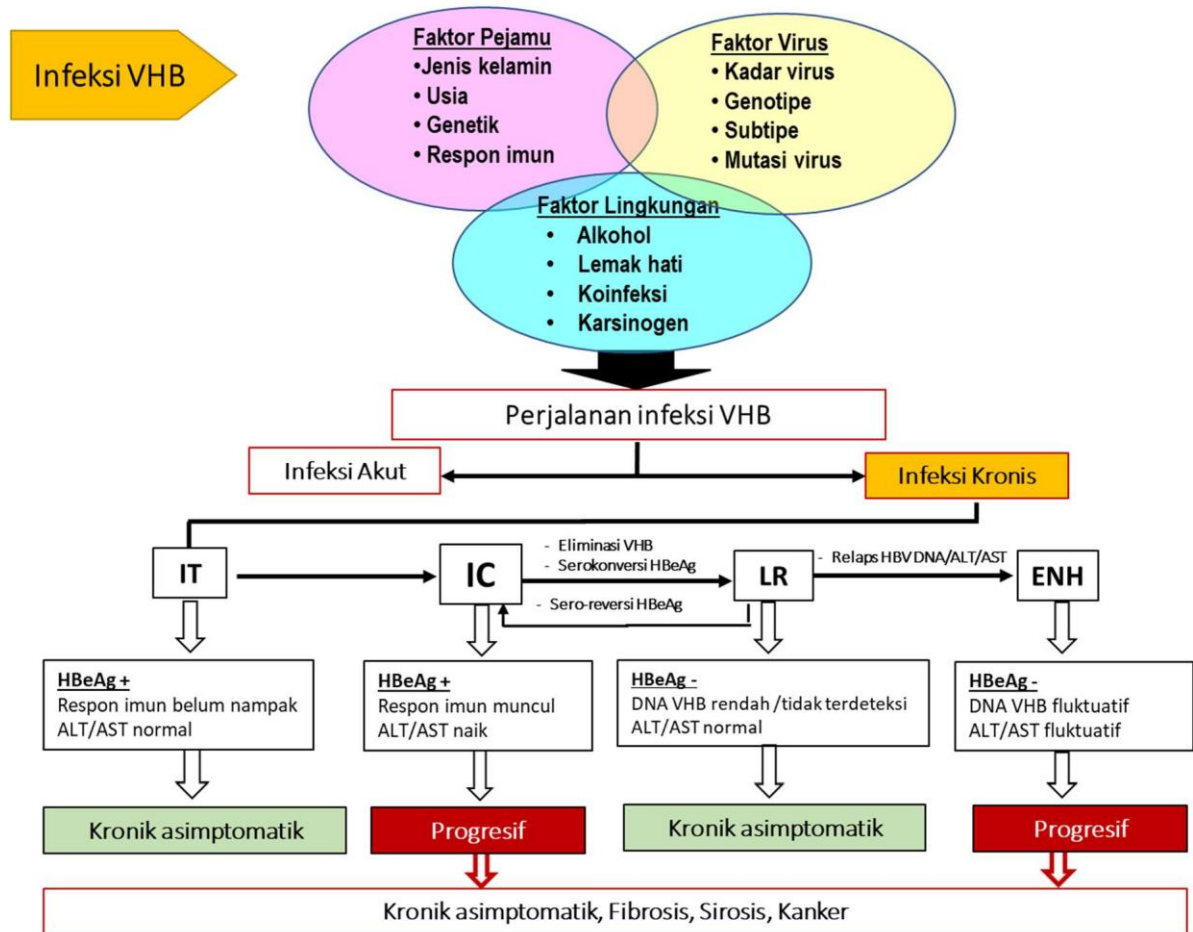
yang lebih tinggi dibanding kontrol, yang dikaitkan dengan adanya mutasi -308G>A pada promotor gen TNF- α (Somi *et al.*, 2006). Namun, kaitan antara mutasi -308G>A dengan menurunnya risiko terjadinya reaktivasi virus dari fase LR menuju ENH perlu dikaji lebih lanjut, dalam konteks perjalanan alamiah HBK.

IL-10 merupakan sitokin regulator dan sitokin anti-inflamasi yang dihasilkan oleh makrofag. IL-10 juga disekresikan oleh sel dendritik, sel T, sel B, netrofil, eosinofil dan sel *mast* (Cyktor & Turner, 2011; Wei *et al.*, 2011). Interleukin-10 merupakan kelompok sitokin T *helper* 2 (Th2), yang berfungsi melawan patogen ekstraseluler, namun juga telah dikaitkan dengan perkembangan penyakit yang disebabkan oleh patogen intraseluler (Cheong *et al.*, 2006). IL-10 disandi oleh gen *IL-10* yang terletak pada lengan panjang kromosom 1 (1q31-1q320). Mutasi G-1082A dan C-592A yang letaknya masing-masing pada titik 1082 dan 592 sebelah hulu titik transkripsi, dipercaya dapat mempengaruhi kapasitas produksi IL-10 (Wei *et al.*, 2011). Mutasi G-592A promotor gen IL-10 diketahui menyebabkan peningkatan kerentanan terhadap VHB, namun sebaliknya mutasi G-1082A justru menurunkan kerentanan terhadap VHB (Gao *et al.*, 2016). Mutasi G-592A juga telah dilaporkan berkaitan dengan peningkatan kadar ALT pada saat proses eliminasi VHB, dan diduga berpengaruh pada keberhasilan proses eliminasi VHB tersebut (Gao *et al.*, 2016).

BAB III. KERANGKA TEORI, KONSEP, DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1. Kerangka Teori dan Kerangka Konsep

3.1.1. Kerangka teori



Gambar 3. 1 Kerangka teori penelitian

Manifestasi pada infeksi VHB merupakan hasil interaksi yang kompleks antara pejamu, VHB dan lingkungan. Faktor dari pejamu meliputi usia, jenis kelamin, usia saat infeksi dan respon imun. Faktor virus meliputi genotipe,

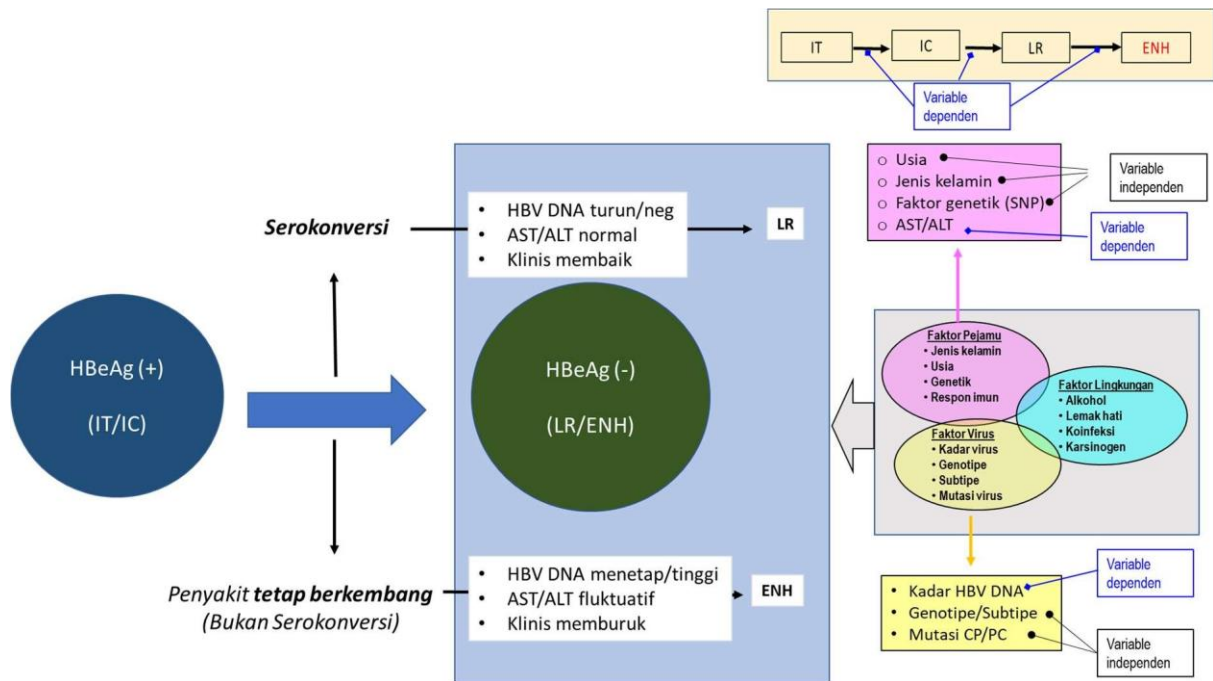
subtipe, kadar virus dan mutasi. Faktor lingkungan meliputi kadar lemak, alkohol dan ko-infeksi.

Berdasarkan interaksi pejamu-virus, perjalanan alamiah infeksi HBK dibagi menjadi beberapa fase. Fase pertama adalah IT saat infeksi belum mendapat reaksi imun dari pejamu. Fase ini berakhir ketika sistem imun mulai mengenali adanya VHB sebagai patogen dan perjalanan penyakit memasuki fase IC.

Fase IC ditandai dengan adanya sistem imun yang mengeliminasi VHB pada hepatosit terinfeksi yang menyebabkan radang hati. Aktivitas respon imun yang efektif akan menyebabkan penurunan kadar DNA VHB yang diikuti dengan penurunan radang hati dan terjadinya serokonversi HBeAg.

Hilangnya HBeAg merupakan petanda bahwa perjalanan HBK memasuki fase LR dengan penurunan kadar DNA VHB dan kadar ALT/AST, serta HBeAg yang negatif. VHB pada fase LR dianggap sedang tidak aktif. Namun, VHB dapat aktif kembali yang disebabkan karena sesuatu hal, sehingga kadar DNA VHB dalam darah naik yang diikuti dengan peningkatan radang hati. Reaktivasi VHB ini sebagian disertai dengan seroreversi HBeAg menjadi positif kembali, sedangkan sebagian lagi tetap dengan HBeAg negatif (ENH). Risiko terjadinya komplikasi penyakit hati meningkat pada fase ENH. Hal tersebut banyak dikaitkan dengan keberadaan mutasi-mutasi VHB yang banyak ditemukan pada fase ENH, terutama mutasi yang berkaitan dengan HBeAg.

3.1.2. Kerangka konsep



Gambar 3. 2 Kerangka konsep penelitian

Untuk mengetahui fase HBK subjek, dilakukan pemeriksaan HBeAg, kadar DNA VHB, ALT dan AST pada subjek dengan HBsAg positif. Berdasarkan ketiga parameter tersebut, ditentukan fase HBK masing-masing subjek. Kemudian dilakukan pemeriksaan mutasi CP dan PC dari VHB. Dari DNA pejamu dilakukan pemeriksaan SNP TNF- α dan IL-10. Data dari masing-masing fase selanjutnya dibandingkan dan dilakukan analisis pada tiap fase perjalanan alamiah HBK.

3.2. Hipotesis Penelitian

1. Terdapat hubungan antara kadar DNA VHB, ALT dan AST dengan mutasi CP dan PC pada HBK.
2. Terdapat pengaruh genotipe dan sub tipe VHB pada perjalanan alamiah HBK.
3. Terdapat hubungan antara kadar DNA VHB, ALT dan AST dengan genotipe dan sub tipe VHB pada HBK.
4. Terdapat pengaruh mutasi CP dan PC VHB pada perjalanan alamiah HBK.
5. Terdapat pengaruh faktor pejamu dan polimorfisme SNP G-308A gen TNF- α , SNP G-1082A dan A-592C gen IL-10 dengan perjalanan alamiah HBK.
6. Terdapat interaksi faktor virus dan pejamu pada perjalanan alamiah HBK.

BAB IV. METODE PENELITIAN

4.1. Jenis Penelitian

Penelitian akan dilakukan dengan metode *cross sectional* (potong lintang).

4.2. Populasi Penelitian

Populasi yang akan dilibatkan dalam penelitian ini adalah pengidap hepatitis B kronis yang datang ke Klinik Lembaga Eijkman, Jakarta dan pengidap hepatitis B kronis yang datang ke Poliklinik Hepatologi RSUP Wahidin Sudirohusodo, Makassar.

4.3. Subjek Penelitian

Subjek penelitian merupakan individu yang masuk dalam populasi penelitian dan memenuhi syarat inklusi dan eksklusi sebagai berikut:

Kriteria inklusi:

- a. HBsAg positif >6 bulan, atau HBsAg positif dengan anti-HBc IgM negatif.
- b. Usia minimal 17 tahun.

Kriteria eksklusi:

- a. Terdiagnosa ko-infeksi HCV
- b. Terdiagnosa ko-infeksi HIV
- c. Terdiagnosa alkoholisme
- d. Terdiagnosa perlemakan hati
- e. Pernah mendapatkan pengobatan antiviral.