

**ANALISIS *VIRAL LOAD* VIRUS HEPATITIS B DAN HEPATITIS C PADA
DARAH PENDONOR DI UNIT TRANSFUSI DARAH PALANG MERAH
INDONESIA KOTA MAKASSAR MENGGUNAKAN METODE *REAL TIME
POLYMERASE CHAIN REACTION* TAHUN 2023**

Tesis

NASRULLAH TAMRIN

P062202028



**PROGRAM MAGISTER ILMU BIOMEDIK
SEKOLAH PASCA SARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2023**

HALAMAN JUDUL

**ANALISIS *VIRAL LOAD* VIRUS HEPATITIS B DAN HEPATITIS C PADA
DARAH PENDONOR DI UNIT TRANSFUSI DARAH PALANG MERAH
INDONESIA KOTA MAKASSAR MENGGUNAKAN METODE REAL TIME
POLYMERASE CHAIN REACTION TAHUN 2023**

TESIS

**Diajukan sebagai salah satu syarat menyelesaikan
Program Studi Ilmu Biomedik dan mencapai gelar Magister Biomedik**

DISUSUN DAN DIAJUKAN OLEH:

NASRULLAH TAMRIN

P062202028

PEMBIMBING

1. dr. Rizalinda Sjahril, M.Sc, Ph.D, Sp.MK, Subsp.Vir (K)
2. Prof. dr. Mochammad Hatta, Ph.D, Sp.MK, Subsp. Bakt (K)

**KONSENTRASI MIKROBIOLOGI
PROGRAM STUDI ILMU BIOMEDIK
SEKOLAH PASCASARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2023**

LEMBAR PENGESAHAN TESIS

**ANALISIS VIRAL LOAD VIRUS HEPATITIS B DAN HEPATITIS C PADA
DARAH PENDONOR DI UNIT TRANSFUSI DARAH PALANG MERAH
INDONESIA KOTA MAKASSAR MENGGUNAKAN METODE *REAL TIME*
POLYMERASE CHAIN REACTION TAHUN 2023**

Disusun dan diajukan oleh

**NASRULLAH TAMRIN
Nomor Pokok : P062202028**

Telah dipertahankan dihadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka
Penyelesaian Studi Program Magister Program Studi Ilmu Biomedik Sekolah

Pascasarjana Universitas Hasanuddin

pada tanggal 18 Januari 2024

dan telah dinyatakan memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui,

Pembimbing Utama

dr. Rizalinda Sjahril, M.Sc., Ph.D., Sp.MK(K)
NIP. 196909181996032001

Pembimbing Pendamping

Prof. dr. Mochammad Hatta., Ph.D., Sp.MK
NIP. 195704161985031001

Ketua Program Studi Ilmu Biomedik

Prof.dr. Rahmawati Minhajat, Ph.D., Sp.PD, K-HOM
NIP. 196802181999032002

Dekan Fakultas/Sekolah Pascasarjana



Prof.dr. Budu., Ph.D., Sp.MK(K).M.Med ed,
NIP. 196612311995031009

Daftar Isi

HALAMAN JUDUL	ii
DAFTAR ISI	iv
DAFTAR GAMBAR	vii
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR ARTI LAMBANG DAN SINGKATAN	ix
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	xi
PRAKATA	xii
BAB I	1
PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Rumusan Masalah	5
C. Tujuan Penelitian	5
a Tujuan Umum	5
b Tujuan Khusus.....	6
D. Manfaat Penelitian	6
a Manfaat Teoritis	6
b Manfaat Aplikatif	6
BAB II	8
TINJAUAN PUSTAKA	8
A. Tinjauan Teori	8
a. Definisi Hepatitis	8
b. Struktur Virus	9
c. Patogenesis	17
d. Perjalanan infeksi	21
e. Pencegahan dan pengobatan.....	32
f. Metode pemeriksaan	37
B. Kerangka teori.....	48

C. Kerangka Konsep.....	49
BAB III.....	50
METODE PENELITIAN	50
A. Jenis dan Desain Penelitian	50
B. Variabel penelitian.....	50
a. Variabel independen.....	50
b. Variabel dependen.....	50
c. Variabel penghubung.....	50
C. Definisi Operasional	50
D. Waktu dan Tempat Penelitian	51
E. Populasi dan Sampel	51
a. Populasi.....	51
b. Sampel	52
F. Teknik pengumpulan data.....	53
G. Instrumen Penelitian	53
a. persiapan alat	53
b. Persiapan bahan.....	54
c. Prosedur penelitian.....	55
H. Alur Penelitian.....	58
I. Pengelolaan dan Analisa Data.....	59
J. Etika penelitian.....	59
BAB IV.....	61
HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	61
A. Hasil Penelitian	61
a. Deskriptif Pendonor Reaktif	61
b. Karakteristik <i>Viral Load</i> HBV dan HCV	63
B. Pembahasan.....	67
BAB V.....	75

KESIMPULAN DAN SARAN.....	75
A. Kesimpulan	75
B. Saran	76
DAFTAR PUSTAKA.....	77

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Struktur virus Hepatitis B	10
Gambar 2. Struktur genom DNA HBV.....	12
Gambar 3. Ilustrasi diagram virus hepatitis C.....	12
Gambar 4. Aktivitas replikasi virus hepatitis pada ko-infeksi.....	23
Gambar 5. Prinsip kerja CLIA	31

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Pola serologis pada ko-infeksi.....	49
Tabel 4.1 Profil pendonor yang reaktif HBsAg dan anti-HCV	56
Tabel 4.2 <i>Viral load</i> HBV dan HCV pada pendonor ko-infeksi.....	57

DAFTAR ARTI LAMBANG DAN SINGKATAN

Lambang/singkatan	Arti dan penjelasan
A	Adenin
AIDS	<i>Acquired Immunodeficiency Syndrome</i>
Asp	<i>Aspartic acid</i>
Bp	<i>base pair</i>
BSA	<i>Bovine Serum Albumin</i>
C	Citosin
CDC	Centers for Disease Control
dATP	Deoksi adenin trifosfat
dCTP	Deoksi sitosin trifosfat
dGTP	Deoksi guanin trifosfat
DNA	<i>Deoksiribonucleic acid</i>
dNTP	Deoksiribonukleotida trifosfat
Dttp	<i>Deoxythymine triphosphate</i>
E/EMB	Etambutol
EtBr	<i>Ethidium Bromida</i>
F	<i>Forward</i>
G	Gram
Gly	<i>Glycine</i>
HbsAg	Hepatitis B surface antigen
HBV	Hepatitis B Virus
HCV	Hepatitis C Virus
His	<i>Histidine</i>
HIV	<i>Human Immunodeficiency Virus</i>
HUM RC	Hasanuddin University Medical Research Center
KCl	Kalium klorida
Mg ²⁺	Magnesium
MgCl ₂	Magnesium klorida
MIC	Minimum Inhibitory Concentration
mL	Mililiter
mM	<i>Mikromol</i>
mRNA	<i>Messenger ribonucleic acid</i>
NPN	Nilai prediksi negatif
NPP	Nilai prediksi positif
PBS	Phosphate Buffer Saline
PCR	Polymerase Chain Reaction

pH	<i>Potential of Hydrogen</i> (derajat keasaman)
R	<i>Reverse</i>
RNA	<i>Ribonucleic acid</i>
RNAP	<i>Ribonucleic acid polymerase</i>
RRDR	<i>Rifampicin Resistance Determining Region</i>
RSP	Rumah Sakit Pendidikan
RT-PCR	<i>Real Time Polymerase ChainReaction</i>
S/STR	Streptomisin
Ser	<i>Serine</i>
T	Timin
TBE	<i>Tris-Borate EDTA</i>
Tris HCl	Tris Hidroklorida
Tyr	<i>Tyrosine</i>
U	Urasil
V	Volt
Val	<i>Valine</i>
WHO	World Health Organization
XDRTB	<i>Extensively Drug Resistant Tuberculosis</i>
Z/PZA	Pirazinamid
A	Alfa
B	Beta
β'	Beta aksen
M	Mikro
MI	Mikro liter

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : NASRULLAH TAMRIN

NIM : P062202028

Judul :

ANALISIS *VIRAL LOAD* VIRUS HEPATITIS B DAN HEPATITIS C PADA DARAH PENDONOR DI UNIT TRANSFUSI DARAH PALANG MERAH INDONESIA KOTA MAKASSAR MENGGUNAKAN METODE *REAL TIME POLYMERASE CHAIN REACTION* TAHUN 2023

dengan ini menyatakan dengan sebenarnya bahwa karya ini benar merupakan hasil saya sendiri, dan bukan merupakan hasil karya orang lain. Jika di kemudian hari terbukti bahwa karya ini adalah hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas tindakan tersebut.

Makassar, Desember 2023



NASRULLAH TAMRIN

P062202028

PRAKATA

Puji dan syukur kami panjatkan ke hadirat Allah SWT atas segala nikmat dan rahmat-Nya, yang telah melimpahkan berkah dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penyusunan tesis ini dengan judul " **Analisis *Viral Load* virus Hepatitis B dan Hepatitis C pada darah pendonor di Unit Transfusi Darah Palang Merah Indonesia Kota Makassar menggunakan Metode Real Time Polymerase Chain Reaction Tahun 2023.**

Penelitian ini merupakan hasil dari kerja keras, dedikasi, serta dukungan berbagai pihak yang tidak bisa kami lupakan. Melalui kesempatan ini, penulis ingin mengucapkan rasa terima kasih yang tulus kepada semua yang telah memberikan bantuan, dukungan, serta kontribusi dalam perjalanan penelitian ini.

Dalam penulisan tesis ini, terdapat banyak kesulitan, namun karena adanya bimbingan dan do'a yang diberikan dari berbagai pihak kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis ini. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terima kasih kepada :

1. **Yth. Prof. Dr. Ir. Jamaluddin Jompa, M.Sc** selaku Rektor Universitas Hasanuddin Makassar dan **Yth. Prof. Dr. Budu, M.Med.Ed, Sp.M(K), Ph.D** selaku Dekan Sekolah Pasca Sarjana Universitas Hasanuddin.
2. **dr. Rizalinda Sjahril, M.Sc, PhD, Sp.MK, Subsp.Vir (K)** selaku pembimbing utama atas bimbingan dan arahannya.
3. **Prof. dr. Mochammad Hatta, Ph.D, Sp.MK, Subsp. Bakt(K)** selaku pembimbing pendamping atas bimbingan dan arahannya.

4. **Tim penguji : Prof. dr. David Handojo Mulyono, PhD, SpPD, Prof. dr. Muh. Nasrum Massi Ph.D, Sp.MK, dr. Firdaus Hamid, Ph. D, Sp. MK, dr. Firdaus Hamid, Ph. D, Sp. MK** selaku penguji yang telah memberi kesediaan waktu, masukan, serta arahan sejak masa penelitian, penyusunan hingga seminar penelitian.
5. **Handayani Halik, S.Si, M.Kes** selaku pendamping peneliti HUM RC FK UNHAS atas bimbingan dan bantuannya selama penelitian
6. Tidak lupa pula rasa terima kasih kepada tim UTD PMI Kota Makassar atas kerjasama dan izin yang diberikan dalam pengumpulan sampel darah serta data yang sangat berharga untuk penelitian ini.
7. Kedua Orang tua, mertua serta istri penulis Risma Dewi, yang selalu memberikan dukungan dan doanya.

Akhir kata, penulis menyadari bahwa tesis ini jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu, kritik dan saran yang membangun sangat diharapkan guna perbaikan penelitian di masa yang akan datang.

Makassar, 15 Januari 2024

Penulis

Nasrullah Tamrin

ABSTRAK

Nasrullah Tamrin. Analisis *Viral Load* Hepatitis B Virus dan Hepatitis C Virus pada darah pendonor di Unit Transfusi Darah Palang Merah Indonesia Kota Makassar menggunakan Metode Real Time Polymerase Chain Reaction Tahun 2023 (dibimbing oleh **Rizalinda Sjahril dan Mochammad Hatta**).

Hepatitis B atau C dapat terjadi tanpa gejala (asimtomatik). Pembawa virus yang tidak bergejala dapat dideteksi melalui skrining darah. Hepatitis B dan C kronis dapat menyebabkan kanker hati dan sirosis hati terutama pada kasus ko-infeksi HBV dan HCV. Penelitian ini bertujuan mengidentifikasi profil HBV dan HCV baik mono infeksi maupun ko-infeksi pada pendonor, serta menganalisis nilai viral loadnya dengan menggunakan metode Real Time Polymerase Chain Reaction (RT PCR). Pada penelitian ini diantara 35.082 sampel donor darah yang diperiksa dengan metode Chemiluminescent Immunoassay (CLIA) untuk mengetahui keberadaan Hepatitis B surface antigen (HBsAg) dan anti-HCV, ditemukan 0,92 % reaktif HBsAg dan 0,26 % yang reaktif anti-HCV sedangkan reaktif HBsAg dan anti-HCV sebanyak 0,002%. DNA HBV terdeteksi pada semua sampel reaktif HBsAg 86,6% diantaranya mempunyai viral load <2.000 IU/mL dan 13.3% nilai viral load >2.000 IU/mL. Sedangkan pada yang anti-HCV reaktif 80% diantaranya tidak terdeteksi RNA HCV. Pada pendonor yang reaktif HBsAg dan anti-HCV (N=2 sampel) pada satu sampel ditemukan DNA HBV dengan nilai viral load 7.824 IU/mL dan satu sampel tidak ditemukan DNA HBV maupun RNA HCV. Tidak ada korelasi yang bermakna antara titer rate positif HBsAg dengan viral load HBV DNA begitupun antara titer anti-HCV dengan viral load HCV RNA. Berdasarkan hasil penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa sampel HBsAg reaktif, anti-HCV reaktif maupun HBsAg dan anti-HCV reaktif memiliki nilai viral load yang bervariasi.

Kata kunci : *HBsAg, Anti-HCV, Viral Load, Pendonor*

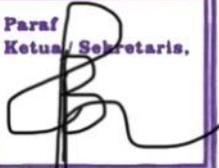
 GUGUS PENJAMINAN MUTU (GPM) SEKOLAH PASCASARJANA UNHAS	
Abstrak ini telah diperiksa.	Paraf Ketua / Sekretaris.
Tanggal : _____	

ABSTRACT

Nasrullah Tamrin. Viral Load Analysis of Hepatitis B and Hepatitis C Virus in donor blood at the Indonesian Red Cross Blood Trans-fusion Unit of Makassar using Real Time Polymerase Chain Reaction in 2023 (*supervised by Rizalinda Sjahril and Mochammad Hatta*).

Hepatitis B or C can be asymptomatic and asymptomatic carriers of the virus can be detected through blood screening. Chronic hepatitis B and C can lead to liver cancer and liver cirrhosis especially in cases of HBV and HCV co-infection. This study aimed to identify the profile of HBV and HCV both mono-infection and co-infection in donors, and analyse the viral load value using RT PCR method. In this study, 35,082 blood donor samples were screened using Chemiluminescent Immunoassay (CLIA) method to determine the presence of Hepatitis B surface antigen (HBsAg) and anti-HCV. There was 0.92% HBsAg reactive and 0.26% anti-HCV reactive, while both reactive HBsAg and anti-HCV was 0.002%. HBV DNA was detected in all HBsAg reactive samples, of which 86.6% had viral load <2,000 IU/mL and 13.3% >2,000 IU/mL. Meanwhile among anti-HCV reactive samples 80% HCV RNA were not detected. In samples reactive to both HBsAg and anti-HCV (N=2 samples), one of the samples showed viral load 7,824 IU/mL and no HCV RNA was detected. There was no significant correlation ($P>0.05$) between HBsAg titer rate positive with HBV DNA viral load. And neither was between anti-HCV titer rate positive with HCV RNA viral load. It can be concluded that samples reactive to Hepatitis B or to Hepatitis C, or reactive to both have varying viral load values

Keywords: HBsAg, Anti-HCV, Viral Load, Donors

 GUGUS PENJAMINAN MUTU (GPM) SEKOLAH PASCASARJANA UNHAS	
Abstrak ini telah diperiksa.	Paraf Ketua/ Sekretaris.
Tanggal : _____	

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Virus hepatitis merupakan virus yang dapat menginfeksi hati, sejauh ini dikenal beberapa jenis virus hepatitis, yaitu: virus hepatitis A (HAV), virus hepatitis B (HBV), virus hepatitis C (HCV), virus hepatitis D (HDV), virus hepatitis E (HEV) dan virus hepatitis G (HGV) (Razavi 2020).

Pada tahun 2019, 30,4 juta orang (10,5% dari semua orang dengan kemungkinan infeksi HBV) pernah terinfeksi, sementara itu 6,6 juta (22%) dari mereka yang di diagnosis pernah terinfeksi dan sedang menjalani pengobatan. Menurut perkiraan WHO terbaru, proporsi anak di bawah 5 tahun dengan infeksi HBV kronis turun menjadi lebih rendah dari 1% pada 2019, dari 5% pada 1980-an, yakni saat sebelum vaksinasi HBV ditemukan. Hingga akhir 1990-an 58 juta orang di seluruh dunia menderita infeksi virus hepatitis C kronis, dan sekitar 1,5 juta infeksi baru terjadi setiap tahun (WHO 2019).

Meskipun Indonesia dengan jumlah penduduk lebih dari 250 juta jiwa memiliki prevalensi HBsAg sebesar 7,1% dan tergolong negara endemik katagori sedang untuk infeksi HBV (Riskesmas 2013), pada data primer tahun 2022 PMI Kota Makassar tercatat prevalensi pendonor reaktif HBsAg 1,041%, reaktif anti-HCV 0,37% dan reaktif terhadap keduanya 0.010% dari total 37.639 donor di UTD PMI kota Makassar (UTD PMI Makassar 2023).

WHO memperkirakan sekitar 290.000 orang meninggal akibat HCV pada tahun 2019, terutama akibat sirosis hati dan karsinoma hepatoseluler (kanker hati primer). Obat antivirus dapat menyembuhkan lebih dari 95 persen orang dengan infeksi HCV, tetapi akses ke diagnosis dan pengobatan tetap buruk, dan belum ada vaksin yang efektif untuk hepatitis C.

Virus hepatitis C (HCV) adalah penyakit virus yang merupakan masalah serius kedua di dunia setelah virus hepatitis B. Prevalensi infeksi HCV adalah sekitar 3%, yang berarti sekitar 130-170 juta orang terinfeksi HCV di seluruh dunia. Di sebagian besar negara maju, prevalensi HCV kurang dari 1%, tetapi lebih tinggi di negara-negara Asia (Pracoyo et al. 2018).

Infeksi HBV atau HCV dapat terjadi tanpa gejala (asimtomatik). Infeksi kronis dapat menyebabkan kanker hati dan sirosis hati (Iannacone and Guidotti 2022) sehingga penting untuk melakukan skrining terhadap virus-virus ini serta memberikan edukasi mengenai pencegahan dan pengobatan untuk mencegah penyebaran penyakit ini (Naully and Nursidika 2019).

HBV adalah virus hepatotropik non sitopatik yang dapat menyebabkan infeksi yang menetap. Kerusakan hati sebagian besar disebabkan oleh upaya berulang kali dari respons kekebalan tubuh inang untuk mengendalikan infeksi. Penelitian menunjukkan bahwa strategi replikasi unik yang diadopsi oleh HBV memungkinkannya untuk bertahan hidup di dalam hepatosit yang terinfeksi sementara interaksi virus dan inang yang kompleks memastikan

virus dapat memenuhi persyaratan replikasi, namun tetap dapat menghindari respons imun bawaan antivirus inang yang penting (Dandri and Locarnini 2012).

Respon imun adaptif memediasi pembersihan virus dan juga penyakit hati, dan sel T CD8+ berperan penting dalam proses ini. Integrasi HBV ke dalam genom inang sering kali berfungsi untuk ekspresi hepatitis B surface antigen (HBsAg) pada infeksi kronis, yang mungkin memicu respons sel T tidak berfungsi dan mendukung persistensi virus.

Virus hepatitis C (HCV) adalah agen etiologi utama dari hepatitis non-A, non-B. Perubahan patologis pada hepatitis C ditandai dengan tiga serangkaian histologis agregat limfoid di saluran portal, kerusakan epitel saluran empedu kecil, dan steatosis mikro dan makro vesicular. Antigen HCV dapat dideteksi dalam sitoplasma hepatosit yang terinfeksi dengan pewarnaan imunohistokimia dengan antibodi mono atau poliklonal, terutama bila menggunakan jaringan beku. Deteksi sekuens RNA HCV pada jaringan hati dengan hibridisasi merupakan metode yang lebih sensitif daripada pewarnaan *imunohistokimia* (Haruna et al. 2001).

HCV memiliki masa inkubasi virus sekitar 8 minggu. Meskipun jarang, ketika bergejala, infeksi HCV akut cenderung muncul sebagai penyakit yang ringan, dengan tingkat aminotransferase yang jarang lebih tinggi dari 1.000 U/L. HCV dapat ditularkan secara parenteral, perinatal, dan seksual, dan

melalui paparan perkutaneus dari darah dan plasma yang terinfeksi (Naga, Swetha 2023).

Transfusi darah adalah prosedur medis yang dilakukan untuk menyelamatkan nyawa dan pengobatan. Dalam hal mendonor darah, yang harus diperhatikan seperti persyaratan donor, pengujian darah, dan cara penyimpanan (Rambe et al. 2022). Ketika transfusi darah dilakukan, diperlukan kontrol yang ketat terhadap darah yang digunakan, karena darah dapat menularkan penyakit berbahaya dan kronis seperti hepatitis B, hepatitis C, human immunodeficiency virus (HIV) dan sifilis. Kegiatan ini juga dikenal sebagai pengujian pra-serah terima (Shittu, Olawumi, and Adewuyi 2014).

Konsentrasi DNA HBV serum mencerminkan tingkat replikasi virus hepatoseluler. Ada korelasi yang kuat antara tingkat cccDNA, tingkat DNA HBV total intraseluler dan dalam serum. cccDNA dapat terdeteksi pada sel hati pasien HBsAg-negatif. *Viral load* yang tinggi ($>10^5$ copy/mL) pada infeksi tahap awal telah terbukti meningkatkan risiko kematian. Perbaikan histologis dikaitkan dengan serokonversi HBeAg/anti-HBe dan kadar DNA HBV $\leq 1 \times 10^5$ menjadi 1×10^6 copy/mL. Sebuah studi menunjukkan bahwa DNA HBV serum $\leq 1 \times 10^5$ copy/mL juga dapat menyebabkan sirosis hati dan meningkatkan resiko karsinoma hepatoseluler (Wursthorn, Manns, and Wedemeyer 2008).

Menurut Belopolskaya et al (2015) terdapat korelasi antara kadar HBsAg dan *viral load* Hepatitis B pada pasien hamil dengan infeksi HBV. Faktanya, ada sejumlah besar pasien dengan kadar HBsAg tinggi namun kadar DNA HBV rendah. Pada kadar HBsAg yang rendah hampir selalu dikaitkan dengan kadar DNA HBV yang rendah, dan sebaliknya hanya 2 dari 85 pasien (kurang dari 2,4%) yang memiliki tingkat HBsAg rendah namun *viral load* yang relatif tinggi. Oleh karena itu, disimpulkan bahwa kadar HBsAg yang rendah berkorelasi dengan kadar DNA HBV yang rendah. Sebaliknya, kadar HBsAg yang tinggi tidak dapat digunakan untuk memprediksi kadar DNA HBV.

B. Rumusan Masalah

Saat melakukan transfusi darah, diperlukan kontrol yang ketat terhadap darah yang digunakan, karena darah dapat menularkan penyakit berbahaya dan kronis seperti HBV dan HCV, maka dirumuskan masalah apakah pada darah pendonor yang tanpa gejala yang terbukti secara serologi reaktif HBsAg, dan/atau anti-HCV masih dapat terdeteksi adanya DNA atau RNA virus?

C. Tujuan Penelitian

a. Tujuan Umum

Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui *viral load* HBV dan HCV pada pendonor yang reaktif HBsAg atau antiHCV, atau reaktif terhadap keduanya.

b. Tujuan Khusus

1. Menganalisa level DNA HBV pada pendonor yang tanpa gejala yang terbukti secara serologi reaktif HBsAg.
2. Menganalisa level RNA HCV pada pendonor yang tanpa gejala yang terbukti secara serologi reaktif anti-HCV.
3. Menganalisa level DNA HBV dan RNA HCV pendonor yang tanpa gejala yang terbukti secara serologi reaktif HBsAg dan anti-HCV.
4. Mengevaluasi korelasi antara level rate positif HBsAg dengan nilai viral load HBV DNA
5. Mengevaluasi korelasi bermakna antara level rate positif anti-HCV dengan nilai viral load HCV RNA

D. Manfaat penelitian

a. Manfaat teoritis

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan pengetahuan teoritis, bagi ilmu kesehatan terutama ilmu tentang biomedik, dan untuk memperdalam ilmu kesehatan dalam bidang mikrobiologi.

b. Manfaat aplikatif

(1) Bagi peneliti

Sebagai tambahan pengetahuan bagi peneliti mengenai *viral load* HBV dan HCV.

(2) Bagi institusi

sebagai bahan referensi dan tambahan ilmu pengetahuan bagi mahasiswa khususnya Pascasarjana Ilmu Biomedik Unhas pada penelitian selanjutnya terkhususnya pada bidang Mikrobiologi.

(3) Bagi Masyarakat

Sebagai bahan pengetahuan masyarakat agar lebih menjaga kesehatan diri serta menjadi sumber informasi kepada masyarakat, akan bahaya resiko penularan HBV dan HCV dari transfusi darah.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tinjauan Teori

a. Definisi Hepatitis

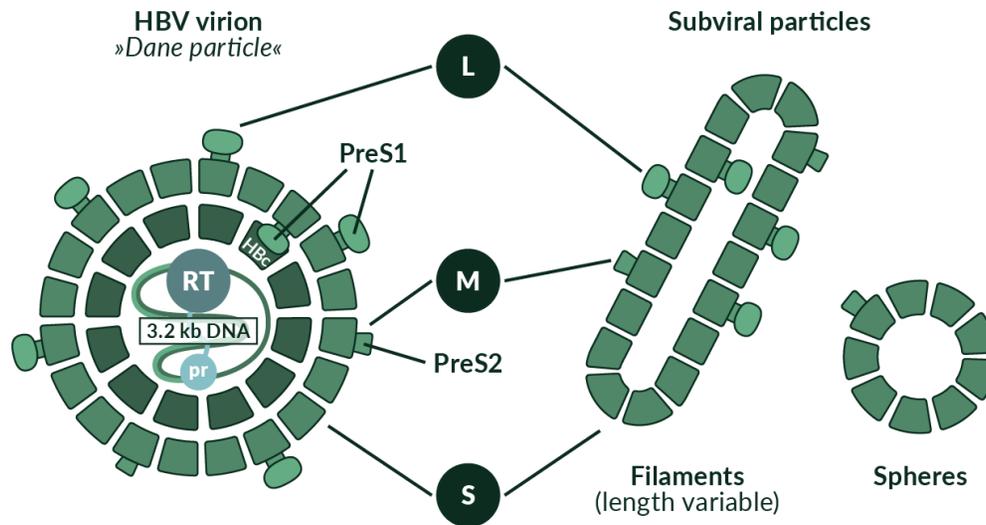
Hepatitis adalah penyakit sistemik yang menyerang hati. Sebagian besar kasus hepatitis virus akut pada anak-anak dan orang dewasa disebabkan oleh salah satu dari berikut ini: Virus hepatitis A (HAV) penyebab infeksi hepatitis A, virus hepatitis B (HBV) penyebab infeksi hepatitis B (hepatitis), virus hepatitis C (HCV), penyebab infeksi hepatitis C (penyebab umum hepatitis setelah mendapatkan transfusi darah), atau virus hepatitis E (HEV), yang menyebabkan hepatitis enterik. Virus hepatitis lain yang tidak termasuk dalam daftar patogen yang diketahui dan penyakit terkait disebut hepatitis non-A-E (Razavi 2020).

Virus lain yang dapat menyebabkan hepatitis sporadis, antara lain virus Yellow fever, cytomegalovirus, virus Epstein-Barr, virus herpes simpleks, virus rubella, dan enterovirus. Hepatitis virus menyebabkan hepatitis akut dan secara klinis dimanifestasikan oleh demam, gejala gastrointestinal seperti mual dan muntah, dan penyakit kuning. Terlepas dari jenis virus, lesi histopatologi identik telah diamati di hati selama penyakit akut (F.Brook 2007).

b. Struktur Virus

1. Struktur virus HBV

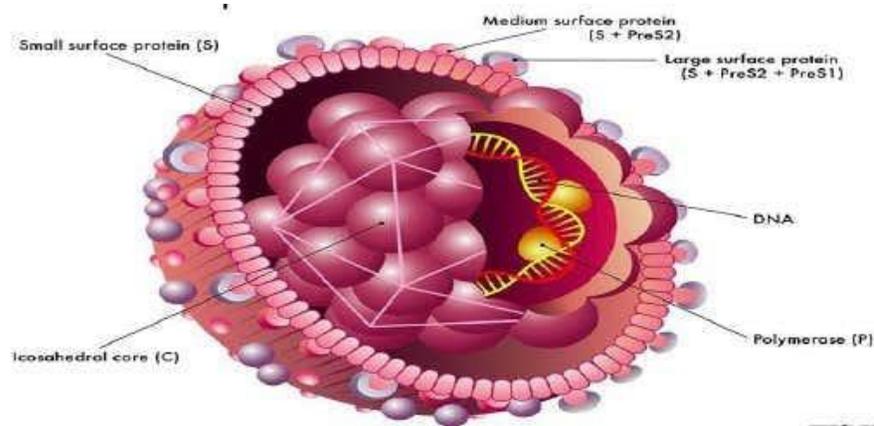
Partikel virus dalam serum infeksius dapat divisualisasikan dengan mikroskop electron yaitu virion infeksius dan partikel subvirus. Partikel virus yang menular yang disebut sebagai partikel Dane (Dane 1970), memiliki struktur bulat, bercangkang ganda berukuran 42-44 nm yang mengandung satu salinan genom DNA virus, yang secara kovalen terkait dengan protein terminal virus. Ciri khas infeksi HBV adalah adanya dua jenis partikel subvirus noninfeksius tambahan, yaitu bola dan filamen, yang terdiri dari protein surface hepatitis B dan lipid yang berasal dari inang, tetapi tidak mengandung kapsid dan genom HBV (Glebe and Urban 2007). Struktur bola berukuran sekitar 22 nm dengan diameter, sedangkan filamen memiliki lebar yang sama, tetapi dengan panjang yang bervariasi (Gambar 2.3)



Gambar 2.3: Representasi skematis dari virion HBV dan partikel subvirus kosong yang tidak menular (filamen dan bola). Di dalam nukleokapsid (HBcAg, ditunjukkan dalam warna hitam) digambarkan genom virus untai ganda parsial (rcDNA) yang secara kovalen terkait dengan protein terminal reverse transcriptase. Keberadaan dan distribusi tiga protein permukaan L (preS1 atau besar), M (preS2 atau tengah) dan S (kecil) ditunjukkan pada HBV dan partikel subviral (Sumber: Glebe 2007).

Membran virus mengandung tiga protein permukaan virus dan diakuisisi oleh virus selama masuk ke dalam endoplasma retikulum (ER), sedangkan jalan keluar HBV tampaknya terjadi melalui multivesikular body (MVB) (Hoffmann et al. 2013). Protein permukaan diberi nama L (besar atau preS1), M (tengah atau preS2) dan S (kecil) Protein permukaan diproduksi dalam jumlah yang sebagian besar melebihi jumlah yang dibutuhkan untuk perakitan virion HBV dan karena kemampuannya untuk merakit diri sendiri, protein ini disekresikan secara melimpah sebagai partikel subviral kosong (SVP). Seperti hampir semua virus yang terbungkus, partikel HBV dan SVP juga mengandung protein yang berasal dari inang (Urban et al. 2014).

Struktur virus hepatitis B terdiri dari HBsAg, HBcAg dan HBeAg. DNA polimerase dan DNA HBV seperti yang ditunjukkan di bawah ini :



Gambar 2.1 Struktur Virus Hepatitis B
Sumber : (imunologi & virologi 2015)

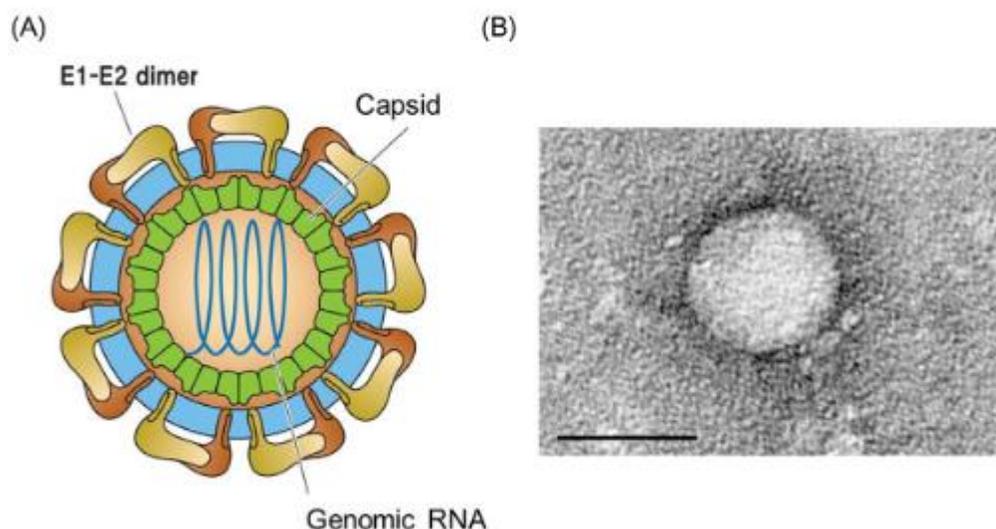
Beberapa virus hepatitis diklasifikasikan ke dalam antibodi yang berbeda, termasuk hepatitis B, yang termasuk dalam genus Hepadnavirus dan antibodi Hepadnaviridae. Virus terdiri dari bola pleomorfik dengan diameter 42 nanometer (nm). Genom virus ini terdiri dari sebagian DNA beruntai ganda dari 3200 pasangan basa. Antigen HBsAg adalah lapisan luar yang mengelilingi partikel inti. Inti mengandung antibodi virus DNA, antigen inti (HBsAg) dan antigen E (HBeAg) (Tsukuda and Watashi 2020).

Genom HBV DNA untai ganda sebagian yang terdiri dari untai minus (-) dan plus (+), dalam konfigurasi melingkar oleh daerah ujung kohesifnya yang berisi dua pengulangan langsung (Direct repeat atau

DR) dari 11 nukleotida disebut DR1 dan DR2, yang terletak di ujung '5 dari dua untai DNA. Kedua DR berperan dalam pergantian templat selama sintesis DNA virus, dan keduanya penting untuk replikasi virus (Gambar 2.2). Pengkodean untai DNA (-) (3,2 kb) terjadi pada seluruh genom, sedangkan wilayah DNA untai nonkoding (+) yang sebagian terjadi pada sekitar dua pertiga dari panjang genom. DNA untai (-) secara kovalen dihubungkan oleh ikatan fosfotirosin ke polimerase virus. Ini juga mengandung redundansi terminal kecil, nukleotida-panjang, disebut "r," pada kedua ujung 5 dan 3 yang sangat penting untuk pembentukan sintesis rcDNA. Setelah sintesis DNA untai (-), oligomer RNA pendek residual yang berasal dari pgRNA ujung 5 tetap terikat secara kovalen dengan ujung 5 DNA untai (+) untuk berfungsi sebagai cetakan untuk sintesis DNA untai (-) (Gambar 2.2).

2. Struktur virus HCV

Virus HCV adalah partikel envelop dengan diameter 40-60 nm (homodimer glikoprotein selubung E1 dan E2 sengaja disematkan dalam lapisan lipid ganda, glikoprotein E2 bertanggung jawab untuk mengenali reseptor CD81 dalam sel hati. Nukleokapsid, yang mengandung RNA genomik virus, tertutup di dalam amplop virus (Ryu 2017).



Gambar:2.3 ilustrasi diagram HCV

(A).Tampilan Virus HCV. Dimer glikoprotein amplop E1-E2 pada amplop lipid, dan kapsid di dalam amplop lipid dilambangkan. RNA genomik virus dikemas di dalam kapsid (B) Mikrograf elektron HCV dimurnikan dari kultur sel. Skala Bar adalah 50 nanometer.(Sumber: Ryu 2017)

Genom HCV RNA untai positif (9,6 kb). Ini mengkodekan satu poliprotein besar yang terdiri dari 3010 residu asam amino. RNA virus

berfungsi sebagai mRNA saat masuk ke dalam sel. RNA genomik HCV tidak memiliki struktur tutup di ujung dan tidak memiliki ekor poli (A) di ujung. Seperti picornavirus, HCV mengandung elemen internal ribosome entry site (IRES) di elemen noncoding region (NCR), yang memfasilitasi terjemahan cap-independen. Wilayah X di 3' NCR sangat terkonservasi dan sangat penting untuk replikasi RNA virus yang efisien (Ryu 2017).

HCV adalah virus RNA untai tunggal berinti satu yang termasuk dalam famili Flaviviridae. Genom HCV berukuran ~9,6 kb dan mengkode poliprotein panjang dengan lebih dari 3000 asam amino yang diproses secara proteolitik untuk menghasilkan 10 protein virus yang matang. Protein struktural virus dikodekan oleh sepertiga pertama dari poliprotein dan termasuk protein inti atau kapsid (C) dan glikoprotein amplop E1 dan E2. p7 (viroporin) dan protein non-struktural, yang dikodekan oleh dua pertiga terminal C dari poliprotein, memainkan berbagai peran dalam perakitan virus dan replikasi RNA (Steinmann and Pietschmann 2013).

Partikel HCV yang diduga terdiri dari nukleokapsid yang mengandung genom virus, diselubungi oleh lipid bilayer yang berasal dari retikulum endoplasma (ER), di mana E1 dan E2 berkumpul sebagai heterodimer. Namun, struktur unit infeksius HCV kemungkinan

lebih kompleks karena beberapa bukti menunjukkan bahwa HCV bersirkulasi dalam aliran darah sebagai partikel lipovirus hibrida (LVP) (Bartenschlager et al. 2011).

Mayoritas RNA virus dalam plasma yang terinfeksi manusia bergabung dengan lipoprotein densitas sangat rendah (VLDL), yang ukurannya berkisar antara 30 hingga 80 nm. Selain itu, hubungan HCV dengan lipoprotein ini dapat menjelaskan densitas apung yang biasanya rendah (<1,10 g/mL) untuk bahan yang paling menular. Partikel HCV menunjukkan profil densitas yang luas, berkisar antara 1,03 hingga 1,2 g/mL. Fraksi dengan densitas yang lebih tinggi kurang menular dan sering kali dapat diendapkan oleh IgG anti-human, yang menunjukkan adanya kompleks imun. Sebaliknya RNA HCV dalam fraksi dengan densitas rendah dapat ditangkap oleh antibodi terhadap komponen protein VLDL dan LDL, dan sering menunjukkan infektivitas yang lebih tinggi untuk infeksi simpanse dan kultur sel (Lindenbach 2013). Dalam hal ini, masuknya HCV secara mencolok terkait dengan lipoprotein dan reseptornya. HDL meningkatkan infektivitas HCV, mungkin dengan mengeksploitasi fungsi transfer lipid dari Scavenger receptor kelas B tipe I (SR-BI), sebuah reseptor untuk HDL dan HCV (Zeisel 2013).

c. Patogenesis

1. Patogenesis HBV

Virus hepatitis B ditularkan melalui intravena dan mukokutaneus atau melalui kontak dengan cairan tubuh yang infeksius. Penularan melalui feses mungkin terjadi tetapi sangat jarang. (Tripathi and Mousa 2023).

Patogenesis infeksi HBV melibatkan respons imun humoral dan selular. HBV yang bereplikasi di dalam hepatosit tidak bersifat sitopatik. Kerusakan sel hati dan manifestasi klinis infeksi HBV bukan disebabkan oleh virus yang menyerang hepatosit tetapi oleh karena respon imun yang dihasilkan oleh tubuh. Respon antibodi terhadap antigen permukaan berperan dalam eliminasi virus, sedangkan respon sel T terhadap selubung, nukleokapsid, dan antigen polimerase berperan dalam proses eliminasi sel yang terinfeksi.

Patogenesis infeksi HBV melibatkan respons imun humoral dan selular. HBV yang bereplikasi di dalam hepatosit tidak bersifat sitopatik. Kerusakan sel hati dan manifestasi klinis infeksi HBV bukan disebabkan oleh virus yang menyerang hepatosit tetapi oleh karena respon imun yang dihasilkan oleh tubuh. Respon antibodi terhadap antigen permukaan berperan dalam eliminasi virus, sedangkan respon sel T terhadap selubung, nukleokapsid, dan antigen polimerase berperan dalam proses eliminasi sel yang terinfeksi. Disamping itu

mekanisme cedera juga terjadi pasca transplantasi hati pasien yang menjalani terapi immunosupresan. Pola histologis yang terjadi akibat infeksi ini disebut sebagai hepatitis kolestatik fibrosis dan diduga terkait dengan paparan HBsAg yang berlebihan (Chisari, Isogawa, and Wieland 2010).

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa HBV tidak secara langsung bersifat sitopatik terhadap hepatosit yang terinfeksi. Hasil klinis dari infeksi tergantung pada interaksi yang kompleks antara replikasi HBV dan respons imun inang (Dandri and Locarnini 2012). Respons imun yang terlalu agresif dianggap sebagai penyebab infeksi HBV fulminan, dan eksaserbasi penyakit kronis dengan peningkatan konsentrasi alanin aminotransferase dimediasi oleh Beberapa kasus lainnya disertai dengan penurunan sementara konsentrasi DNA HBV, yang menunjukkan pembersihan kekebalan yang tidak efektif.

Peningkatan alanin aminotransferase yang berulang meningkatkan risiko sirosis dan karsinoma hepatoseluler. Selain manifestasi hati yang dimediasi oleh respons imun seluler, manifestasi ekstrahepatik terutama Glomerulonefritis dan vaskulitis termasuk *polyarteritis nodosa* dapat berkembang sebagai akibat dari ketidakseimbangan respons humoral yang menghasilkan kompleks imun yang bersirkulasi (Trépo, Chan, and Lok 2014).

2. Patogenesis HCV

HCV adalah virus non-sitopatik yang memasuki sel hati dan mengalami replikasi secara simultan yang menyebabkan nekrosis sel melalui beberapa mekanisme termasuk sitolisis yang diperantarai oleh kekebalan tubuh di samping berbagai fenomena lain seperti steatosis hati, stress oksidatif, dan resistensi insulin. Protein/peptida yang dikodekan oleh daerah sub-genomik yang berbeda dari genom HCV dan quasi spesiesnya mempengaruhi mekanisme diatas, dan dengan demikian, memiliki peran yang signifikan dalam patogenesis HCV dan penyebab penyakit (Irshad, Mankotia, and Irshad 2013).

Banyak infeksi HCV akut tidak menunjukkan gejala, maka sulit untuk menentukan masa inkubasi yang tepat. Namun, kinetika relatif dari tingkat virus, enzim hati, kemunculan antibodi, dan gejala dapat dijelaskan berdasarkan penelitian observasional pada manusia dan infeksi eksperimental pada simpanse. Pada simpanse, RNA HCV biasanya terdeteksi dalam darah dalam waktu 2 minggu setelah inokulasi HCV (Major et al. 2004).

Kadar virus kemudian dengan cepat meningkat hingga timbulnya hepatitis dan aktivasi respon imun inang, ketika kadar virus dapat menurun, berfluktuasi, atau menjadi positif secara intermiten hingga pembersihan virus secara menyeluruh tercapai atau hewan

berkembang menjadi infeksi kronis. Setelah kronisitas terbentuk, kadar virus tetap relatif stabil. Pola yang sama terlihat pada infeksi HCV pada manusia, meskipun kadar virus mungkin memiliki fluktuasi yang lebih luas. Setelah terpapar HCV, pasien mungkin mengalami viremia tingkat rendah secara intermiten untuk jangka waktu yang dapat berlangsung selama 2 bulan tetapi biasanya sekitar 2 minggu (Glynn et al. 2005).

Pada fase lonjakan yang akan berlangsung selama 8 hingga 10 hari di mana kadar virus meningkat dengan cepat secara eksponensial dengan waktu penggandaan 11 jam. Kadar virus kemudian mencapai puncak titer tinggi selama sekitar 40 hingga 60 hari. Kadar ALT serum, yang menandai kerusakan hati, meningkat selama fase plateau, biasanya mencapai puncaknya 7 hingga 8 minggu setelah infeksi. Gejala dan penyakit kuning dapat muncul pada saat itu, meskipun umumnya peningkatan ini tidak bergejala sehingga sering terlewatkan. Antibodi terhadap HCV muncul tak lama setelah ALT mulai meningkat dan kemunculannya bertepatan dengan penurunan viremia dan baik resolusi atau perkembangan kronisitas (Koh, Li, and Liang 2016).

d. Perjalanan infeksi

1. Perjalanan infeksi HBV

Timbulnya gejala selama infeksi HBV akut dan hasilnya tergantung pada usia saat infeksi. Bayi dan anak-anak sebagian besar tidak menunjukkan gejala, sedangkan sekitar 70% orang dewasa mengalami hepatitis subklinis atau anikterik dan 30% mengalami hepatitis ikterik. Kurang dari 1% infeksi HBV akut pada orang dewasa berkembang menjadi hepatitis fulminan, yang memiliki angka kematian sekitar 80% tanpa transplantasi hati. HBsAg muncul dalam serum 2-10 minggu setelah terpapar HBV, sebelum timbulnya gejala dan peningkatan aminotransferase, dan biasanya menghilang dalam waktu 4-6 bulan. Anti-HBs dapat muncul beberapa minggu sebelum atau setelah *seroclearance* HBsAg pada orang yang sembuh. Persistensi HBsAg lebih dari 6 bulan digunakan untuk mencegah perkembangan menjadi infeksi kronis. Ketika infeksi HBV didapat pada masa bayi atau anak usia dini, fase awal infeksi kronis ditandai dengan HBeAg positif, DNA HBV yang sangat tinggi ($>10^7$ IU/mL) dan konsentrasi alanin aminotransferase normal, serta inflamasi dan nekrosis minimal pada histologi (Hui et al. 2007).

Perjalanan alami infeksi HBV kronis terdiri dari beberapa fase, ditandai dan didiagnosis berdasarkan serologi HBeAg/anti-HBe,

DNA HBV serum, tingkat ALT dan histologi hati. Infeksi kronis yang didapat pada masa perinatal atau bayi memiliki tiga fase: fase *immune tolerant*, fase *immune clearance*, dan fase *residual inaktif*. Dalam fase *inaktif*, dengan dimediasi oleh respon imun HBV dapat aktif kembali dan memicu cedera hati. Fase reaktif ini dianggap varian dari fase pembersihan sistem imun. Pada infeksi kronis yang didapat pada saat dewasa, biasanya tidak ada atau fase toleran imun awal yang sangat singkat. Perjalanan klinis pada dasarnya sama seperti yang terlihat pada pasien dengan infeksi yang didapat secara perinatal. Fase awal infeksi HBV kronis ditandai dengan adanya HBeAg dan kadar DNA HBV serum yang sangat tinggi (biasanya $> 2 \times 10^7$ copy/mL atau $> 10^8$ copy/mL) tingkat ALT normal dan perubahan histologis normal atau minimal dengan ekspresi hepatitis B core Antigen (HBcAg) intrahepatik secara difus dan terutama di nukleus. Biasanya tidak ada perkembangan penyakit atau hanya gejala ringan selama kadar ALT serum tetap normal dan tetap pada fase toleransi sistem imun (Burns and Thompson 2014).

2. Perjalanan infeksi HCV

Diantara mereka yang terinfeksi HCV akut hanya 20-30% dapat membersihkan virus, dan sebagian besar dapat menjadi infeksi

kronis, yang menyebabkan peradangan hati, fibrosis, dan sirosis (Catanese et al. 2013).

HCV bereplikasi *in vivo* pada pasien manusia dan menghasilkan sekitar 10 virion per hari dan tingkat HCV yang tinggi ini mengaktifkan sistem kekebalan bawaan lebih awal selama infeksi. Infeksi HCV akut pada simpanse menginduksi profil ekspresi interferon-stimulated genes (ISG) di hati yang konsisten dengan respons interferon (IFN) tipe I. Lebih lanjut, RNA HCV adalah penginduksi kuat IFN tipe I, yang dimediasi oleh keterlibatan HCV dari pattern recognition receptor (PRR) (Horner and Gale 2009).

Diagnosis CHC didasarkan pada deteksi serum anti-HCV dan HCV RNA, peningkatan nilai serum aminotransferase setidaknya selama enam bulan dan nekroinflamasi serta fibrosis pada jaringan hati. Skrining untuk mendeteksi anti-HCV dalam serum diindikasikan untuk orang dengan riwayat penggunaan obat intravena, atau berbagi perlengkapan untuk penggunaan obat intranasal, akupunktur, tindik badan atau tato, orang yang menerima darah, produk darah atau organ padat sebelum tahun 1992, pasien hemodialisis, anak-anak yang lahir dari ibu yang terinfeksi HCV, pasien dengan infeksi virus hepatitis B (HBV) dan pasien dengan infeksi human immunodeficiency virus (HIV).

Subjek yang anti-HCV-positif harus menjalani tes serum HCV RNA, tes konfirmasi infeksi HCV yang sedang berlangsung (Coppola et al. 2015).

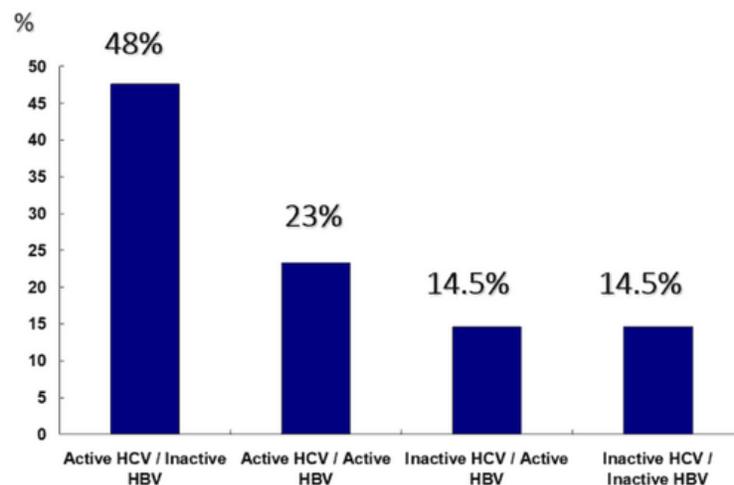
Identifikasi infeksi lazim oleh virus hepatitis C (HCV) didasarkan pada deteksi serologis dengan mendeteksi imunoglobulin G anti-HCV, menggunakan immunoassay, tes imunoblot, dan, yang terbaru, tes cepat berbasis imunokromatografi. Tidak ada yang membedakan antara infeksi HCV yang aktif dan yang sudah diatasi. Tes untuk mendeteksi RNA HCV mengidentifikasi infeksi HCV aktif tetapi mahal. Tes serologis untuk antigen HCV telah dikembangkan dan menunjukkan potensi untuk diagnosis infeksi HCV aktif, dan karakteristik kinerjanya sedang dievaluasi. Diagnosis infeksi HCV akut tanpa bukti serokonversi masih sulit dipahami. Tidak seperti infeksi virus hepatitis B akut, di mana antibodi imunoglobulin M (IgM) terhadap antigen inti hepatitis B adalah diagnostik infeksi akut dan mendahului munculnya IgG, untuk infeksi HCV, respons antibodi IgM terdeteksi secara bervariasi pada fase akut dan kronis (Kamili et al. 2012).

3. Ko-infeksi HBV dan HCV

Prevalensi hepatitis B surface antigen (HBsAg) di antara orang dengan hepatitis C kronis diperkirakan 2-10 % .Ada variasi geografis yang signifikan mulai dari yang terendah 3% di AS hingga >15% di India, Taiwan, Jepang, dan Mediterania. (Miyamura 2016).

Prevalensi ko-infeksi HBV/HCV di seluruh dunia tidak diketahui dan mungkin diremehkan dengan fenomena infeksi HBV yang tidak diketahui Occult hepatitis B virus infection (OBI). Superinfeksi HCV pada pasien dengan infeksi HBV kronis adalah gambaran klinis ko-infeksi yang paling umum di negara-negara Asia Pasifik. Lebih lanjut, sebagian besar, tetapi tidak semua, pengamatan klinis menunjukkan bahwa gangguan antara kedua virus lebih sering ditandai dengan penghambatan replikasi HBV yang diberikan oleh HCV. Dibandingkan dengan pasien yang mono infeksi, pasien ko-infeksi HBV/HCV cenderung mengalami cedera hati yang lebih parah, kemungkinan sirosis hati dan dekompensasi hati yang lebih tinggi, serta insiden karsinoma hepatoseluler yang lebih tinggi evaluasi serologis dan virologis yang terperinci diperlukan untuk pasien ko-infeksi sebelum memulai terapi antivirus (Chu and Lee 2008).

Dalam kebanyakan kasus ko-infeksi, hanya HCV aktif yang diamati sementara HBV tidak aktif. Namun, ada juga kasus ketika kedua virus aktif berkembang biak. Aktivitas virus ini juga bisa berubah. Terkadang saat aktivitas satu virus ditekan, aktivitas virus lain dapat diaktifkan. Dibawah ini adalah rasio aktivitas virus pada ko-infeksi HBV dan HCV (Raimondo et al. 2006).



Gambar 2.4 Aktivitas Replikasi Virus Hepatitis pada Ko-infeksi

Sumber: Raimondo, 2006

Inaktivasi HBV dari HCV diperkirakan terjadi melalui tiga mekanisme. 1) Protein inti HCV mengikat polimerisasi HBV menjadikannya tidak aktif. 2) miRNA menghambat replikasi HBV dan menstimulasi replikasi HCV. 3) HCV merangsang produksi IFN, yang merupakan antivirus terhadap HBV (Suryani 2019).

Ada empat profil serologis yang terlihat pada ko-infeksi: kodominan, dominan HCV, dominan HBV, dan tidak ada yang replikasi. Serologi untuk masing-masing tercantum dalam Tabel 1. Profil serologis dapat berkembang dari waktu ke waktu pada ko-infeksi dominan HCV, HCV secara aktif bereplikasi dan menekan replikasi HBV. Sebagian dari kasus dominan HCV mungkin memiliki infeksi HBV tersembunyi (Mavilia and Wu 2018).

Table 2.1 Pola serologis pada ko-infeksi HBV dan HCV

Codominant	HCV dominant		HBV dominant	Neitherreplicative
	HCV/Occult HBV	HCV/Overt HBV		
++ HCV RNA	+++ HCV RNA	+++ HCV RNA	— HCV RNA	— HCV RNA
++ HBV DNA	— HBV DNA	+ HBV DNA	+++ HBV DNA	— HBV DNA
+ Anti-HCV Ab	+ Anti-HCV Ab	+ Anti-HCV Ab	+ Anti-HCV Ab	+ Anti-HCV Ab
+ HbsAg	— HbsAg	+ HBsAg	+ HBsAg	— HBsAg
+ Anti-HBc	± Anti-HBc	+ Anti-HBc	+ Anti-HBc	+ Anti-HBc
+ Anti-HBs	± Anti-HBs	+ Anti-HBs	+ Anti-HBs	+ Anti-HBs

Sumber: Mavilia and Wu (2018)

Seperti yang dijelaskan sebelumnya, antibodi serum (protein surface anti-HBV dan protein core anti-HBV) biasanya positif pada infeksi OBI, tetapi 20% kasus negatif untuk semua penanda serum. Karena keterbatasan diagnostik ini, infeksi HBV tersembunyi sering terlewatkan, tetapi diperkirakan terjadi pada hingga 50% individu berisiko tinggi dengan HCV kronis.

Ko-infeksi dominan HBV lebih jarang terjadi, ditandai dengan sedikit atau tidak ada replikasi HCV sedangkan HBV bereplikasi aktif. HBV lebih mungkin menjadi virus yang dominan setelah superinfeksi HBV. Kasus yang sangat jarang terjadi yakni tidak ada virus HBV dan HCV yang secara aktif bereplikasi yang ditandai dengan serologi positif tetapi hasil PCR negatif. Keadaan ini dapat berubah seiring waktu, berubah menjadi infeksi aktif.

Sebuah penelitian longitudinal oleh Wiegand et al (2015) mengikuti serologi 85 pasien ko-infeksi selama periode 10 tahun. Mereka menemukan frekuensi setiap pola serologi adalah 18% kodominan, 47% dominan HCV, 14% dominan HBV, dan 21% tidak bereplikasi. Data ini dengan jelas menunjukkan bahwa dominasi HCV adalah yang paling umum dan konsisten dengan tren penekanan HBV seperti dibahas di atas. Namun, kelompok yang tidak bereplikasi tampaknya merupakan bagian yang signifikan.

4. Interference HBV dan HCV

Interferensi virus adalah fenomena di mana sel yang terinfeksi oleh virus menjadi resisten terhadap infeksi kedua yang keluar dari virus super infeksi. Meskipun mekanisme lain

diketahui, dapat diasumsikan bahwa sebagian besar kasus gangguan virus yang terjadi dalam kondisi alami dimediasi oleh interferon, protein yang memiliki berat molekul rendah yang diproduksi oleh sel yang terinfeksi sebagai respons terhadap stimulus yang diberikan oleh asam nukleat virus. Interferon yang diproduksi oleh sel dapat bermigrasi ke sel lain yang belum terlibat oleh infeksi yang menyebar, mentransmisikan keadaan resisten antivirus kepada mereka. Bukti yang tersedia menunjukkan bahwa interferon bertindak dengan menginduksi produksi protein seluler kedua, yang disebut protein antivirus, yang secara langsung bertanggung jawab atas status antivirus melalui beberapa perubahan sistem proteosintesis seluler yang diarahkan oleh virus. Selain aktivitas antivirus, sistem interferon dapat mempengaruhi pertumbuhan beberapa organisme nonviral dan sel tumor efek yang agak kontroversial telah ditunjukkan juga pada respon imun mekanisme yang mendasari efek ini masih bersifat nuklir. Namun hubungan dengan sistem kekebalan spesifik disarankan juga oleh temuan bahwa interferon dapat dibebaskan oleh limfosit T yang tersensitisasi setelah stimulus antigenik. Aktivasi sistem interferon dapat dioperasikan secara in vitro dan in vivo juga oleh beberapa zat non-virus dari berbagai alam, seperti asam nukleat,

polisakarida, amina aromatik. Fakta ini, mengingat interferon telah terbukti memainkan peran penting tentang mekanisme pemulihan dari infeksi virus, dapat membuka perspektif baru untuk kemungkinan penggunaan profilaksis dan/atau terapeutik pada penyakit virus. Masalah ini dapat didekati juga dengan pemberian interferon eksogen (Hsu et al. 2017).

Ko-infeksi virus hepatitis B (HBV)/virus hepatitis C (HCV) sering terjadi karena rutinitas infeksi yang umum. Terlepas dari penghambatan timbal balik yang dilakukan oleh genom HBV dan HCV, ko-infeksi HBV dan HCV dikaitkan dengan bentuk penyakit hati yang lebih parah. Namun, kompleksitas gangguan virus dan mekanisme patologis yang mendasarinya masih belum diklarifikasi. Dengan tidak adanya bukti interaksi virus secara langsung, beberapa penelitian *in vitro* menunjukkan efek tidak langsung dari interaksi virus inang pada hasil dominasi virus. Keberadaan HCV secara signifikan menghambat replikasi HBV secara *in vitro* dan *in vivo* terlepas dari urutan ko-infeksi, sementara HBV tidak mempengaruhi replikasi HCV. Perubahan patologis secara kebetulan direproduksi pada tikus yang ko-infeksi. Selain partisipasi respons imun bawaan, keterlibatan HCV dalam meningkatkan respons imun spesifik HBV telah

dijelaskan untuk memfasilitasi pembersihan HBV. Secara parsial merekapitulasi ko-infeksi HBV / HCV dan mengungkap respons imun anti-virus adaptif yang belum pernah terjadi sebelumnya selama ko-infeksi, yang memperbaharui pengetahuan tentang sifat interaksi virus tidak langsung selama Ko-infeksi HBV/HCV (Liu et al. 2022)

Ko-infeksi dengan virus hepatitis B (HBV) dan virus hepatitis C (HCV) dikaitkan dengan penyakit hati yang parah dan sering berkembang menjadi sirosis dan karsinoma hepatoseluler. Bukti klinis menunjukkan penekanan replikatif timbal balik dari dua virus, atau gangguan virus. Namun, interaksi antara HBV dan HCV sulit dipelajari karena kurangnya model uji coba yang sesuai. Untuk menyelidiki interaksi antara HBV dan HCV digunakan *cell line* Huh-7 yang stabil mereplikasi HBV ditransfeksi dengan replika HCV atau terinfeksi dengan HCV. Dalam sistem ini, kedua virus ditemukan bereplikasi dalam sel yang sama tanpa gangguan yang nyata. Penghambatan spesifik dari satu virus tidak mempengaruhi replikasi dan ekspresi gen yang lain. Sel hati yang mengandung HBV yang bereplikasi dapat terinfeksi dengan HCV pada kultur sel, dengan alasan pengecualian superinfeksi. Akhirnya, sel-sel

yang menyimpan HBV yang bereplikasi mendukung produksi HCV menular yang efisien. HBV dan HCV dapat bereplikasi dalam sel yang sama tanpa bukti adanya interferensi langsung secara in vitro. Oleh karena itu, gangguan virus yang diamati pada pasien ko-infeksi mungkin disebabkan oleh mekanisme tidak langsung yang dimediasi oleh respon imun inang bawaan dan/atau adaptif (Bellecave et al. 2009).

e. Pencegahan dan pengobatan

I. Pencegahan

Pencegahan dan pengendalian Hepatitis B dan Hepatitis C berdasarkan Kemenkes RI (2020) melalui beberapa upaya di bawah ini:

1. Deteksi dini Hepatitis B dan Hepatitis C pada populasi
2. Pemeriksaan konfirmasi Hepatitis virus C dan pengobatan sampai sembuh.
3. Pencegahan penularan Hepatitis B dari ibu ke anak dengan pemberian hepatitis B immunoglobulin (HBIG) dan vaksin hepatitis B saat bayi baru lahir (HB0) pada bayi dari ibu yang terinfeksi Hepatitis B dalam 24 jam pertama.
4. Pencegahan penularan dari ibu ke anak meningkatkan pengendalian penularan HBV dengan melakukan skrining

HBV selama kehamilan dan pemberian imunoglobulin hepatitis B dalam waktu 12 jam setelah kelahiran bagi bayi yang lahir dari ibu yang terinfeksi HBV.

5. Pencegahan penularan melalui darah (transmisi horisontal). Pemerintah telah memulai kerjasama dengan Unit Transfusi Darah (UTD) PMI Pusat dengan, antara lain, berkolaborasi dalam penyusunan Pedoman Tatalaksana Infeksi Menular Lewat Transfusi Darah (IMLTD) untuk penapisan Hepatitis B dan Hepatitis C pada darah donor dan tindak lanjut rujukan bagi hasil penapisan yang reaktif.
6. Pembiayaan diagnosis dan pengobatan Hepatitis B dan Hepatitis.

II. Pengobatan

1. Pengobatan Hepatitis B

Tujuan utama pengobatan ini adalah untuk menyelamatkan nyawa dengan mengurangi kematian akibat kanker hati, transplantasi hati, memperlambat atau membalikkan perkembangan penyakit hati, dan infektivitas (Terrault et al. 2018). Saat ini, ada tujuh obat yang disetujui: dua formulasi IFN-standar dan *pegylated interferon* (Peg IFN), dan lima analog *nukleos(t)ide* (NUC): *lamivudine* (LAM), *telbivudine*, *entecavir* (ETV), *adefovir* (ADV), dan

tenofovir (TDF)(Lok et al. 2016). Pedoman menyarankan imunomodulator standar atau Peg IFN- α (IFN-a) seperti standar atau Peg IFN- α (IFN-a), atau NUC seperti LAM adefovir dipivoxil, ETV, TDF, atau telbivudine sebagai alternatif pengobatan untuk pasien *Chronic Hepatitis B* (CHB) (Manzoor et al. 2015).

IFN- α adalah pertahanan inang terhadap infeksi HBV oleh gen yang dirangsang oleh interferon (interferon-stimulated genes, ISG), yang memiliki fungsi antivirus yang tidak lazim terhadap berbagai macam virus. Beberapa penelitian telah menunjukkan bahwa pada 76-94% individu, respons pengobatan diperpanjang dan dikaitkan dengan hasil klinis yang lebih pasti dalam hal komplikasi terkait hati dan kelangsungan hidup (Liang et al. 2015).

IFN- α -2a/b adalah pilihan pengobatan bersertifikat pertama untuk infeksi CHB, dan menggantikan IFN- α -2b standar karena sifat farmakokinetiknya, pegilasi digunakan untuk meningkatkan waktu paruh interferon(Lok and McMahon 2009). Sebuah studi dilakukan oleh Cooksley et al. (2003) ini melaporkan bahwa persentase pencapaian pengobatan Pegasys adalah 24% dibandingkan dengan

12% interferon standar. LAM adalah NUC sitidin yang mencegah enzim reverse transcriptase HBV, namun tingkat resistensi akibat mutasi pada lokus tyrosine, methionine, aspartate, aspartate (YMDD) dari HBV polimerase cukup tinggi (Chan et al. 2007). Hepsera adalah nama umum untuk adefovirdipivoxil, dan ADV adalah NUC. Hepsera memiliki beberapa efek samping, termasuk ruam, pembengkakan tenggorokan, bibir, lidah, wajah, kesulitan bernapas, dan disfungsi tubulus ginjal proksimal (Ho et al. 2015). Meskipun ada efek samping, tingkat resistensi ADV lebih rendah dibandingkan dengan LAM, Baraclude atau ETV merupakan penghambat kuat enzim DNA polimerase HBV, dan resistensi jarang diamati (Lai et al. 2006).

2. Pengobatan Hepatitis C

Setelah viremia atau keberadaan virus dalam aliran darah dipastikan, penderita HCV yang dapat mematuhi terapi akan ditawarkan pengobatan dengan terapi Direct Acting Antiviral (DAA). Di masa lalu, banyak populasi yang tidak dilibatkan dalam pengobatan hepatitis C karena efek samping dari terapi berbasis interferon sebelumnya. Saat ini, populasi yang sulit diobati hanya sedikit yang memiliki kadar

virologi berkelanjutan (sustained virologic respon/SVR) yang tinggi yang dicapai pada mereka yang diobati dengan DAA pada pasien sirosis, ko-infeksi HIV/HCV, penyakit ginjal, dan populasi transplantasi. Selain itu, infeksi hepatitis C akut dapat diobati secara efektif dengan terapi DAA jangka pendek dan studi pemodelan menunjukkan bahwa pengobatan semua individu yang menderita hepatitis C akut dapat menghemat biaya (Bethea et al. 2018).

Terapi DAA yang paling banyak tersedia saat ini di seluruh dunia dapat dibagi menjadi terapi pangenotipik dan spesifik genotipe. Saat ini terdapat tiga terapi pangenotipik lini pertama yang disetujui untuk pengobatan hepatitis C, selain rejimen penyelamatan yang digunakan bagi mereka yang gagal mencapai respons berkelanjutan. Interaksi obat-obat harus dinilai sebelum memulai terapi tetapi hanya ada sedikit obat yang merupakan kontraindikasi mutlak terhadap pemberian terapi DAA dimana regimen alternatif tidak dapat ditemukan. Pemantauan terhadap mereka yang menjalani pengobatan HCV juga telah disederhanakan (Ghany and Morgan 2020).

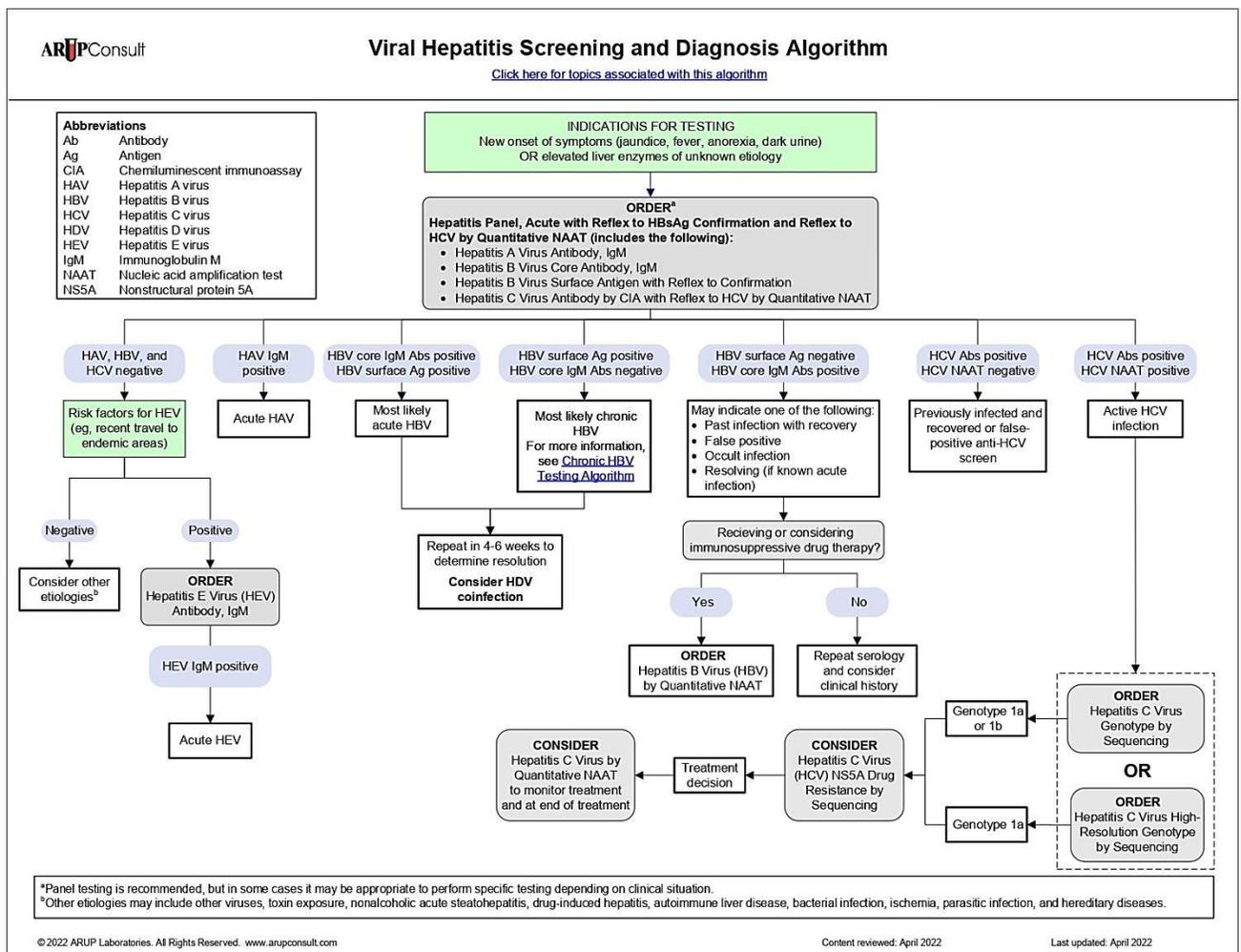
Sebelumnya tes hati, fungsi ginjal, hitung darah lengkap, dan kadar virus dipantau selama pengobatan untuk keamanan dan keefektifan pengobatan. DAA yang disetujui dan tersedia saat ini memiliki efikasi tinggi dan margin keamanan yang luas dengan sedikit pengecualian dan pemantauan dapat disesuaikan dengan interaksi obat yang signifikan, ko-infeksi dengan virus lain, dan pasien sirosis. Rekomendasi panduan praktik terbaru dan pendapat ahli telah menganjurkan algoritma pengobatan yang disederhanakan dengan terapi pangenotipik, dengan pemantauan minimal selama pengobatan dengan konfirmasi SVR 12 hingga 24 minggu setelah terapi selesai (Dieterich 2019).

Populasi yang mungkin memerlukan pemantauan yang lebih cermat termasuk mereka yang menderita sirosis, penyakit ginjal stadium akhir, ko-infeksi HCV/HIV atau HCV/virus hepatitis B (HBV), mereka yang menderita karsinoma hepatoseluler, dan mereka yang telah menjalani transplantasi organ.

f. Metode pemeriksaan

Pengujian laboratorium untuk virus hepatitis sesuai untuk skrining (misalnya, skrining prenatal untuk virus hepatitis B

[HBV] dan virus hepatitis C [HCV]) atau pengujian pada saat timbulnya gejala baru seperti penyakit kuning, anoreksia, atau urin berwarna gelap, atau setelah diketahui atau dicurigai terpapar virus hepatitis. Pada kebanyakan kasus, tes awal harus mencakup serologi untuk antibodi hepatitis A, B, dan C.



Gambar 2.5: Viral Hepatitis and Diagnosis Algorithm
(Sumber: arupconsult 2022.)

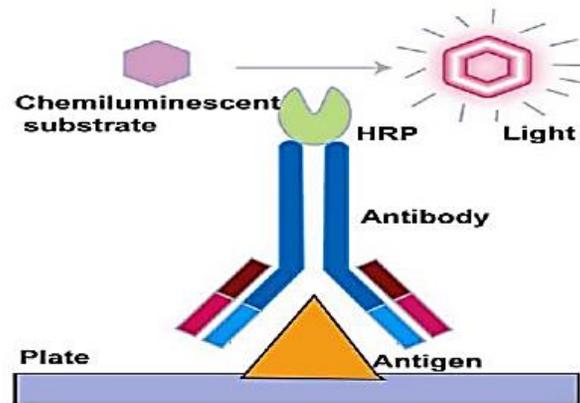
Pemeriksaan HBV dan HCV dapat dilakukan dengan beberapa cara salah satunya yaitu dengan menggunakan metode:

(a) *Chemiluminescent Immunoassay (CLIA)*

CLIA adalah teknik untuk menentukan konsentrasi sampel berdasarkan intensitas cahaya yang dipancarkan oleh bahan kimia dan reaksi biologis. Sistem chemiluminescence (CL) dan imunoreaksi digabungkan dalam CLIA. Beberapa bahan kimia telah digunakan sebagai label CL, dan sistem menghasilkan chemiluminescence ketika substrat CL ditambahkan, memungkinkan sampel yang akan diukur. Substrat CL yang paling sering termasuk luminol, turunannya, alkali fosfatase (ALP), peroksidase, dan senyawa ester asidinium. Dalam CLIA, itu enzim juga digunakan untuk penandaan protein target. ALP dan lobak peroksidase banyak digunakan untuk enzim pelabelan CLIA telah diterapkan di berbagai bidang, termasuk diagnosis klinis, pemantauan lingkungan, farmasi analisis, dan keamanan pangan. CLIA menawarkan manfaat CL tinggi sensitivitas tinggi dan spesifisitas imunoreaksi. Untuk mendeteksi molekul biologis kecil untuk immunoassay, antibodi berlabel enzim dan Ag digunakan. pendekatan ini bekerja berdasarkan gagasan bahwa Ag berikatan dengan Ab spesifik dalam imunologi.

Molekul Ag seperti hormon, peptida, dan protein dapat dideteksi dalam sampel cairan. Enzim yang digunakan dalam immunoassay mikropartikel chemiluminescent mengubah substrat menjadi produk reaksi, yang menghasilkan foto cahaya alih-alih menghasilkan warna yang berbeda. Ketika suatu bahan bertransisi dari keadaan tereksitasi ke keadaan dasar, ia memancarkan cahaya yang disebut luminescence (Khan et al. 2023).

Pertama, CLIA menggunakan antibodi yang diberi label dengan senyawa chemiluminescent seperti luminol, isoluminol, acridinium ester. Namun, pelabelan antibodi dengan senyawa *chemiluminescent* dibatasi oleh durasi cahaya yang relatif singkat. Oleh karena itu CLIA dikembangkan menggunakan label berupa enzim dan substrat berupa senyawa chemiluminescent. (Gambar 2.5)



Gambar 2.6 Prinsip kerja CLIA

(Sumber: Panduan Analisis Laboratorium Imunoserologi 2018)

Dengan cara ini, CLIA dapat memperpanjang umur lampu. Enzim mengubah substrat menjadi produk yang memancarkan foton cahaya untuk menciptakan warna. Pendaran adalah pancaran cahaya dari suatu zat karena lompatan elektron ke tingkat atau tingkat yang lebih rendah (Naully and Khairinisa 2018).

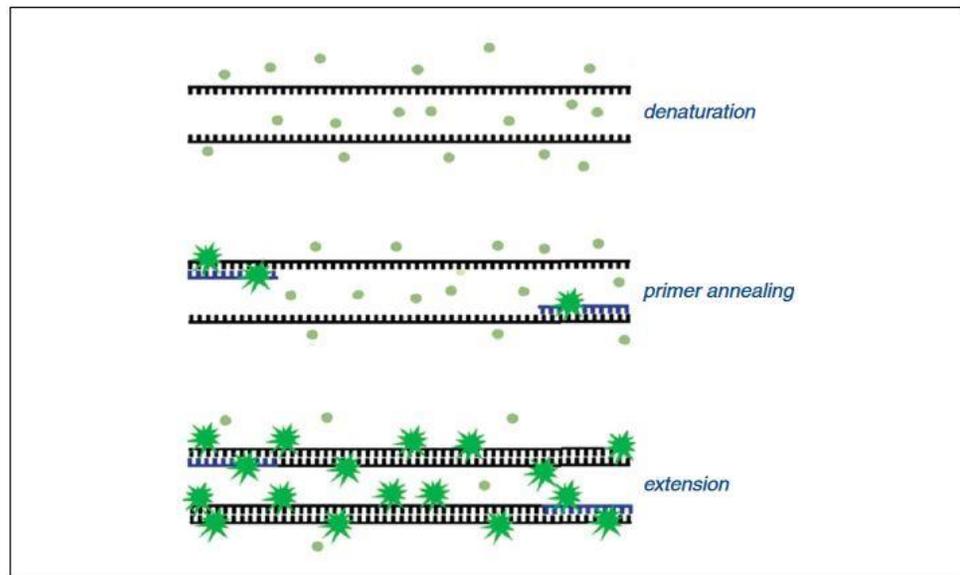
(b) *Real Time Polymerase Chain Reaction*

Teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR) pertama kali diperkenalkan oleh Kary Mullis. Setelah itu, kemajuan dalam reaksi PCR memunculkan teknik PCR yang lebih sensitif, yaitu PCR kuantitatif (qPCR: kuantitatif real-time polymerase reaction) yang menggunakan cDNA sebagai template. cDNA adalah DNA komplementer dari molekul RNA yang disintesis dari reaksi reverse transcriptase. Selama reaksi qPCR, pewarna atau probe mengikat dan dimasukkan ke dalam DNA untai ganda yang

diperkuat (dsDNA), bertindak sebagai reporter fluoresen selama amplifikasi. Dengan demikian, peningkatan sinyal fluoresen berbanding lurus dengan jumlah produk PCR yang disintesis dalam reaksi qPCR dikenal luas sebagai metode yang paling efektif untuk menganalisis modulasi dalam ekspresi gen karena efisiensinya untuk mendeteksi dan secara tepat mengukur gen target, bahkan pada tingkat ekspresi yang rendah (Rocha et al. 2016).

Real Time PCR adalah teknik yang digunakan untuk memonitor progres reaksi PCR pada waktu yang sama. RT-PCR juga dikenal sebagai quantitative PCR (qPCR). Jumlah produk PCR (DNA, cDNA atau RNA) yang relatif sedikit, dapat dihitung secara kuantitatif. Prinsip kerjanya didasarkan pada deteksi fluoresensi yang diproduksi oleh molekul reporter yang meningkat sejalan dengan berlangsungnya proses PCR. Hal ini terjadi karena akumulasi produk PCR pada tiap siklus amplifikasi. Molekul reporter dengan fluoresensi meliputi pewarna yang berikatan pada double-stranded DNA (menggunakan SYBR®Green atau EvaGreen®Reagents) atau menggunakan probe spesifik sekuens/sequence specific probes (Molecular Beacons or TaqMan® Probes)(Biosoft 2007).

Analisis menggunakan Real time PCR memiliki sensitivitas tinggi dan lebih spesifik untuk produk PCR tertentu. Real time PCR juga meliputi Real Time-RT PCR dimana PCR dilakukan secara Real Time menggunakan enzim *Reverse Transcriptase* secara langsung pada waktu yang bersamaan. Real Time-RT PCR memiliki tambahan siklus *Reverse Transcription* yang memacu perubahan molekul DNA dari molekul RNA. Real Time-RT PCR diperlukan karena RNA kurang stabil dibandingkan dengan DNA.



Gambar 2.6 Proses *Real Time* PCR pada deteksi target non-spesifik
Sumber: (Fraga 2014)

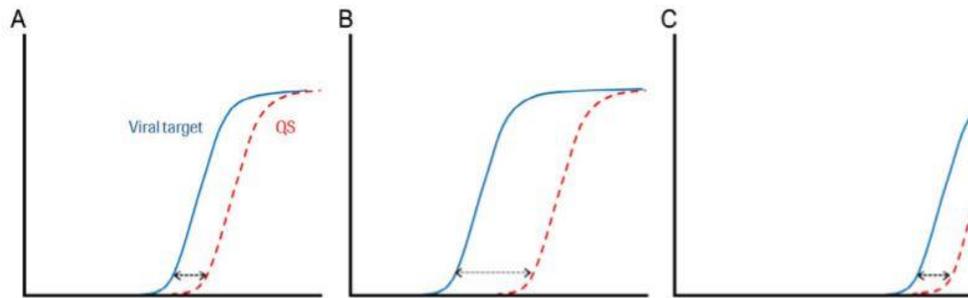
Pada prosedur Real Time PCR, molekul reporter dengan fluoresensi (pada Gambar 2.6 ditunjukkan dengan bagian berwarna hijau) digunakan untuk memonitor proses PCR.

Fluoresensi akan dipancarkan oleh molekul sebagaimana terakumulasinya produk PCR pada tiap siklus proses amplifikasi (Fraga, Meulia, and Fenster 2014).

Deteksi target spesifik Real Time PCR dilakukan menggunakan beberapa probe oligonucleotide yang dilabeli pada dua bagian reporter dengan label (pewarna) fluoresensi/fluorescent dye dan pewarna quencher/ quencher dye. Kuantitas mRNA dalam sel merupakan parameter jumlah gen yang terekspresi. Untuk menganalisa tingkat ekspresi gen, cDNA yang telah disintesis dari mRNA diuji secara kuantitatif menggunakan real time PCR. Analisis hasil real time PCR dapat dilakukan secara absolute quantification dan relative quantitation. Metode relative quantitation atau yang dikenal juga dengan *comparative threshold method* menghilangkan kebutuhan akan kurva standar yang digunakan dalam perhitungan absolute quantification dan menggunakan perhitungan secara matematika untuk mengukur tingkat kuantitatif relatif ekspresi dari gen target dengan menggunakan gen referensi dan kalibrator dari jaringan (Arya et al. 2005).

Melalui bantuan probe pensinyalan fluoresen untuk mengukur amplifikasi DNA pada setiap siklus PCR, pada titik akumulasi DNA eksponensial, PCR waktu nyata mampu

memberikan rentang dinamis linier yang lebih luas dan peningkatan kinerja pengujian yang ditentukan oleh sensitivitas, spesifisitas, presisi, dan reproduktifitas. Karena konsistensi dalam perubahan intensitas sinyal selama fase pertumbuhan eksponensial PCR, PCR juga mudah diadaptasi untuk pelaporan kuantitatif. Namun, ada tiga sifat yang secara unik terkait dengan PCR real-time kuantitatif: kuantifikasi, standardisasi, dan batas bawah yang dihasilkan. Akumulasi sinyal fluoresensi diukur pada setiap siklus reaksi PCR dan siklus di mana sinyal ini melebihi ambang batas fluoresensi latar belakang yang telah ditentukan selama fase logaritmik amplifikasi disebut sebagai cycle threshold, (CT). Nilai CT berbanding terbalik dengan jumlah salinan virus dalam spesimen, dan melalui perbandingan nilai ini dengan kurva kalibrasi eksternal atau standar kuantisasi internal, konsentrasi target asam nukleat awal dapat dihitung (Livak and Schmittgen 2001).



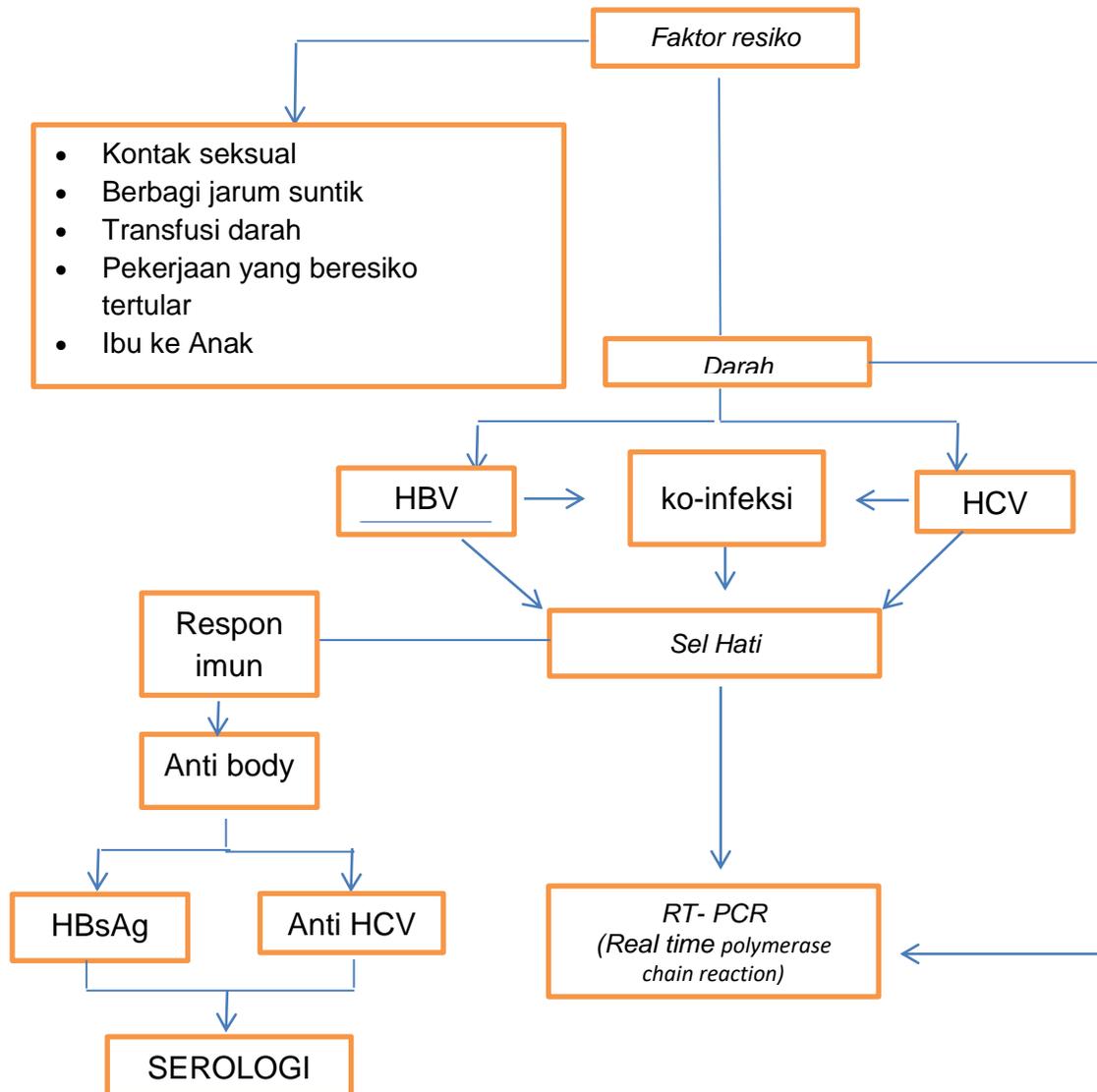
Gambar 2.7 Kuantisasi target virus menggunakan standar kuantisasi kompetitif (QS). Sumber: (Engstrom-Melnyk et al. 2015)

Kuantitas standar mengkompensasi efek penghambatan dan mengontrol proses persiapan dan amplifikasi, memungkinkan kuantisasi target virus yang lebih akurat di setiap spesimen. QS kompetitif berisi sekuens dengan situs pengikatan primer yang identik dengan target virus untuk memastikan efisiensi amplifikasi yang setara dan wilayah pengikatan probe unik yang membedakan kedua ampikon. QS kompetitif ditambahkan ke setiap spesimen dengan nomor salinan yang diketahui dan dibawa melalui langkah-langkah selanjutnya dari persiapan spesimen, reverse transkripsi (bila ada), amplifikasi PCR simultan, dan deteksi. Konsentrasi target virus dalam spesimen uji dihitung dengan membandingkan sinyal target virus (garis solid) dengan sinyal QS (garis putus-putus) untuk setiap spesimen dan kontrol (A, B). Dengan adanya inhibitor, baik QS maupun target virus sama-sama ditekan dan menghasilkan perhitungan viral load yang akurat (C) (Engstrom-Melnyk et al. 2015).

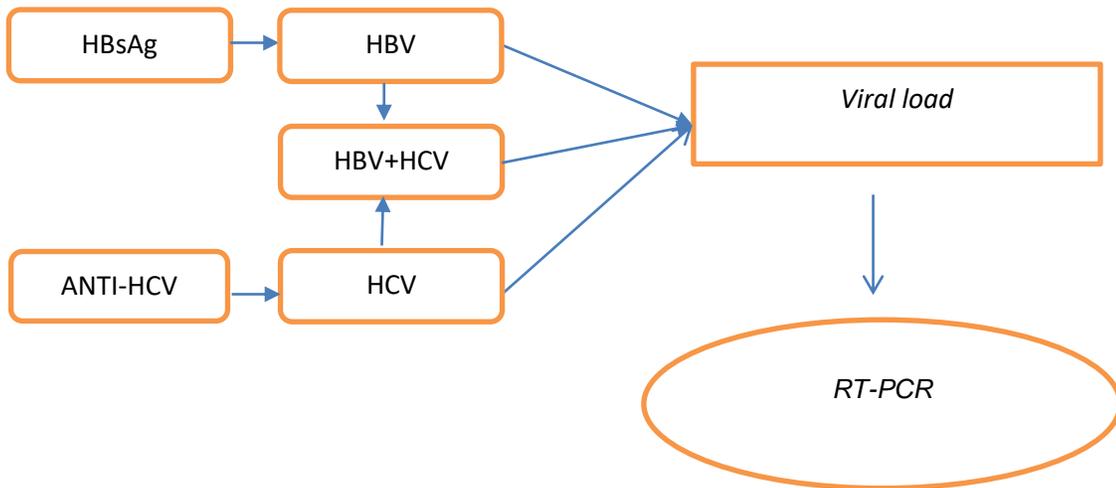
PCR konvensional dan PCR real-time (RT-PCR) adalah dua teknik yang berbeda dalam mendeteksi dan mengukur jumlah DNA atau RNA dalam sampel. PCR konvensional memerlukan tahap amplifikasi DNA secara terpisah dan memerlukan waktu lebih lama untuk mendapatkan hasil. Sementara itu, PCR real-time memungkinkan deteksi dan kuantifikasi DNA atau RNA secara real-time, sehingga memungkinkan pengguna untuk memantau reaksi amplifikasi secara langsung. PCR real-time juga lebih cepat dan lebih sensitif daripada PCR konvensional (Kurniawati, Sumaryam, and Hayati 2019).

Reaksi qPCR memungkinkan kita untuk mengukur tingkat ekspresi mRNA dalam berbagai jenis sampel. Meskipun demikian, uji qPCR yang berhasil memerlukan pendekatan normalisasi yang tepat, menghindari variasi nonspesifik diantara sampel cDNA. Dengan demikian, menggunakan qPCR dengan gen target yang digabungkan ke gen referensi adalah penentu untuk menghindari kemungkinan kesalahan dalam ekstraksi RNA atau kontaminasi selama manipulasi (Mariyani 2021).

B. Kerangka Teori



C. Kerangka Konsep



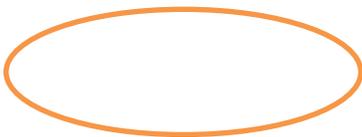
Keterangan:



Variabel penghubung



Variabel yang diteliti



Metode pemeriksaan