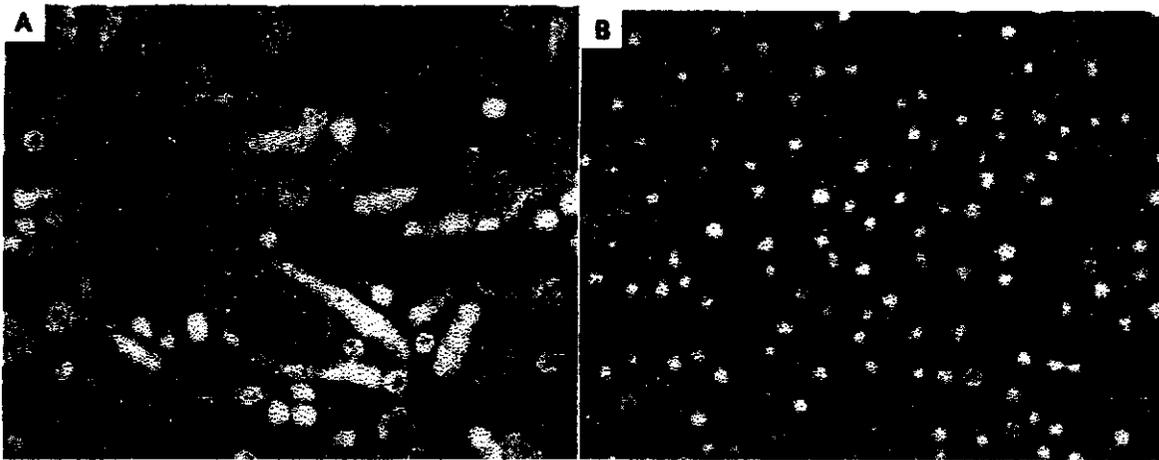


## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Struktur dan Genom Virus Hepatitis B

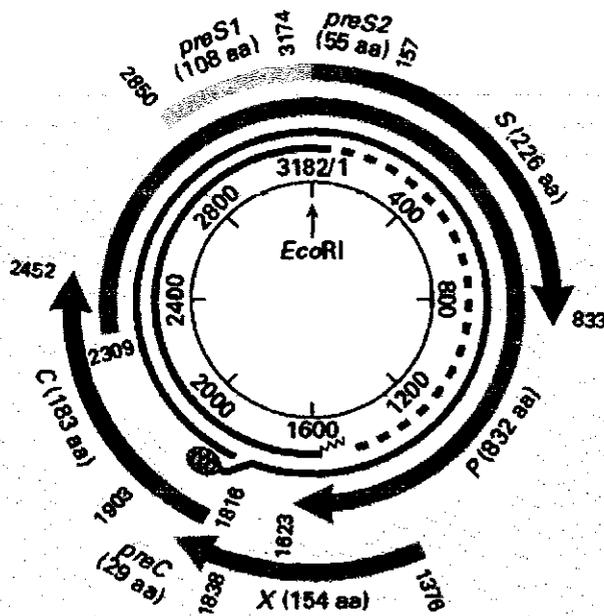
Hepatitis B virus adalah virus DNA dari famili *Hepadnaviridae* yang terutama menyerang hati dan sebagian kecil dapat menyerang ginjal, pankreas, dan sel mononuklear. Mikroskop elektron pada serum HBsAg positif menunjukkan 3 bentuk morfologis (Gambar 1). Yang paling banyak adalah partikel sferis berdiameter 32 nm. Partikel kecil ini dibuat khusus oleh HBsAg-sesuai dengan bentuknya yang tubular atau filamentous dimana mempunyai diameter yang sama tetapi dapat mempunyai panjang lebih dari 200 nm dan dihasilkan karena produksi berlebihan dari HBsAg. Sedangkan virion yang besar, sferis (juga dinamakan partikel Dane) lebih jarang ditemukan. Permukaan luar, atau *envelope*, mengandung HBsAg dan mengelilingi inti nukleokapsid bagian dalam (27 nm) yang mengandung HBcAg. Regio untai tunggal pada genom DNA sirkuler yang mempunyai panjang bervariasi ini merupakan partikel yang heterogen secara genetik (Flint, 2000. Brooks, 2004).<sup>9,10</sup>



Gambar 1 : Struktur VHB. Melalui pemeriksaan mikroskop elektron pada serum penderita hepatitis B kronis dapat ditemukan 3 struktur VHB yaitu virion VHB yang disebut partikel Dane (A) berukuran 40-42 nm dengan 2 lapis selubung protein di bagian luar dan nukleokapsid atau *core* dibagian dalam. Nukleokapsid mengandung genom VHB berukuran 3,2 kb dan polimerase yang berperan dalam sintesis DNA di dalam sel yang terinfeksi. Selain itu VHB menghasilkan 2 macam subvirion yaitu yang berbentuk filamentosa (A) dan sferis dengan diameter 20 nm.<sup>11</sup>

Genom viral (Gambar 2) mengandung sebagian DNA untai ganda sirkular yang mempunyai panjang 3200 bp. Isolat VHB yang berbeda-beda mengandung sekitar 90-98% urutan nukleotida yang homolog. DNA *full-length* untai minus (untai L atau *long*) adalah komplementer dengan semua mRNA VHB; untai positif *strand* (S atau untai *short*) adalah bermacam-macam dan panjangnya antara 50 dan 80% unit.<sup>9</sup>

Terdapat 4 *open reading frame* yang mengkode 7 polipeptida, yaitu protein struktural pada permukaan virion dan inti; transaktivator transkripsional kecil (X), dan protein polimerase besar (P) yang mengandung DNA polimerase, *reverse transcriptase*, dan aktivitas Rnase H. Gen S mempunyai *three in-frame* kodon inisiasi dan mengkode HBsAg mayor, juga polipeptida mengandung tambahan urutan pre-S2 atau urutan pre-S1 dan pre-S2. Gen C mempunyai *two in-frame* kodon inisiasi dan mengkode HbcAg dan protein Hbe yang akan diproses menjadi HbeAg yang terlarut.<sup>10</sup>



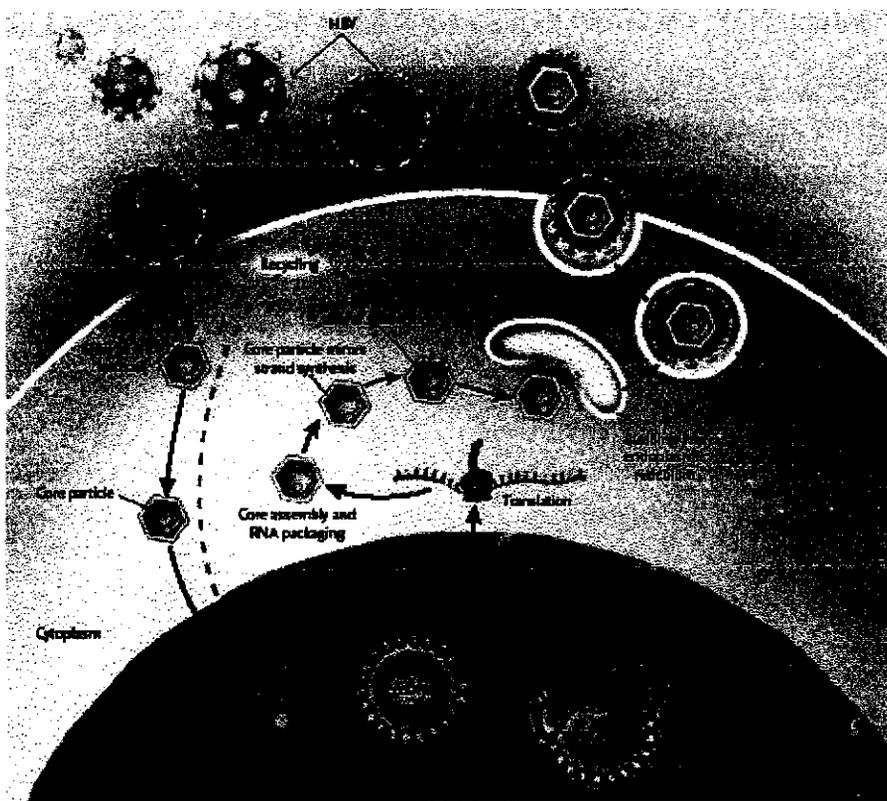
Gambar 2 : Genom HVB. Struktur genom VHB berbentuk DNA sirkular untai ganda parsial. Untai yang lengkap mengkode 7 protein dengan 4 *open reading frame* (ORF) yang tumpang tindih (protein HBsAg, core, polimerase dan X). Jumlah residu asam amino diperlihatkan di dalam kurung, dimana aa menunjukkan asam amino.<sup>1</sup>

Stabilitas HBsAg tidak selalu serupa dengan penyebab infeksiusnya. Tetapi keduanya stabil pada -20 derajat Celcius untuk lebih dari 20 tahun dan stabil pada proses pembekuan dan pencairan yang berulang. Virus juga stabil pada 37 derajat Celcius untuk 60 menit dan akan tetap hidup sesudah dikeringkan dan disimpan pada suhu 25 derajat Celcius untuk minimal 1 minggu.

VHB (tetapi bukan HbsAg) sensitif pada suhu tinggi (100 derajat Celcius untuk 1 menit) atau periode inkubasi yang lebih lama (60 derajat Celcius untuk 10 jam). HBsAg stabil pada pH 2,4 sampai 6 jam, tetapi infektivitas VHB-nya hilang. Sodium hipoklorit 0,5 % dapat menghancurkan antigenisitasnya dalam waktu 3 menit pada konsentrasi protein rendah, tetapi specimen serum yang tidak terdilusi membutuhkan konsentrasi yang lebih tinggi (5%). HBsAg tidak dapat dihancurkan oleh radiasi UV pada plasma atau produk darah lain, dan infektivitas viral akan tetap ada.<sup>9,10,12</sup>

## 2.2 Siklus Replikasi VHB

Virion melekat pada hepatosit (tahap 1) melalui pengenalan oleh reseptor permukaan sel (Gambar 3). Mekanisme pelepasan virus ke dalam sel (2) belum diketahui dan perbaikan *gapped* (+) DNA *strand* (3) dilakukan oleh enzim yang belum diketahui. DNA ditranslokasikan ke nukleus (4), dimana berada dalam bentuk sirkuler *closed* secara kovalen yang dinamakan CCC DNA. Negatif *strand* pada CCC DNA ini berperan sebagai templat untuk transkripsi oleh RNA polimerase II seluler (5) untuk genom yang lebih panjang daripada panjang RNA yang dinamakan pregenom dan yang lebih pendek (transkrip subgenomik) (Gambar 6), semuanya berperan sebagai mRNA. mRNA viral ditranspor ke nukleus (6). mRNA viral yang lebih pendek ditranslasikan di ribosom pada retikulum endoplasma (ER) (7), dan protein yang dihasilkan akan menjadi antigen permukaan (HBsAg) pada *envelope* viral yang akan memasuki jalur *secretory*. Pregenom RNA ditranslasikan pada efisiensi rendah (8) untuk menghasilkan protein polimerase 90-kDa, P, yang berperan dalam aktivitas *reverse transcriptase*.<sup>9</sup>



Gambar 3 : Siklus replikasi VHB.<sup>11</sup>

Protein ini lalu berikatan dengan situs spesifik pada ujung 3' pada transkripnya sendiri, dimana sintesis DNA viral dimulai. Pregenom RNA juga berperan sebagai mRNA untuk protein kapsid (9). Bersamaan dengan pembentukan kapsid, kompleks RNA-protein P dikemas (10) dan transkripsi balik dimulai dengan sintesis DNA (-) *strand* (11). Pada masa awal infeksi, DNA akan disirkulasi kembali ke nukleus (12), dimana proses ini akan berulang sehingga dihasilkan akumulasi 10-30 molekul CCC DNA dan bersamaan dengan naiknya konsentrasi mRNA viral. Beberapa waktu kemudian, mungkin sebagai konsekuensi dari akumulasi protein viral tertentu tersebut, nukleokapsid matur akan terbentuk(13). Struktur ini membutuhkan *envelope* dengan cara *budding* ke ER, dimana morfogenesis viral akan dilengkapi (14). *Envelope* virion progeni lalu dilepaskan dari sel melalui eksositosis (15).<sup>9</sup>

### 2.3 Genotipe VHB

Berdasarkan perbandingan susunan genom lengkap, VHB dapat dikelompokkan menjadi 8 genotipe yaitu genotipe A, B, C, D, E, F, G, dan H. Genotipe VHB ditentukan berdasarkan susunan genom sama dengan atau lebih dari 8 % sedangkan perbedaan gen S antar genotipe adalah 4,1 % atau 4 %.<sup>3,6,13</sup>

Genotipe VHB mempunyai distribusi geografis tertentu di seluruh dunia. Genotipe A sering ditemukan di negara-negara Eropa Utara, Eropa Tengah, Amerika Utara, dan Afrika Sub-Sahara. Genotipe B dan C hanya ditemukan di Asia. Genotipe D terdistribusi di seluruh dunia tetapi paling sering ditemukan di negara-negara Mediterania. Genotipe E terutama ditemukan di Afrika Barat. Genotipe F merupakan genotipe yang paling berbeda diantara genotipe VHB dan hanya ditemukan pada populasi aborigin di Amerika. Genotipe G baru ditemukan di Amerika dan Prancis. Genotipe H merupakan genotipe VHB yang baru saja berhasil diidentifikasi dan telah ditemukan di Nikaragua, Meksiko, dan California.<sup>2,3,6,13</sup>

### 2.4 Subtipe VHB

Subtipe VHB dibedakan berdasarkan perbedaan antigenisitas HBsAg pada permukaan VHB. Semua virus mempunyai determinan antigenik utama dan merupakan epitope dominan dari HBsAg, yaitu a. Selain itu, terdapat 2 pasang determinan subtipe lain yaitu d/y dan w/r sehingga terdapat 4 subtipe VHB yang utama yaitu adw, ayw, adr, dan ayr. Determinan d/y ditentukan dari asam amino urutan ke-122, yaitu lisin (d) atau arginin (y), sedangkan determinan w/r ditentukan dari asam amino urutan ke-160, yaitu lisin (w) atau arginin (r). Selanjutnya, variasi pada urutan asam amino yang lain menghasilkan 9 subtipe VHB yang sudah teridentifikasi yaitu ayw1, ayw2, ayw3, ayw4, ayr, adw2, adw4, adrq+, dan adrq-.<sup>13</sup>

### 2.5 Patogenesis dan Imunitas

Setelah masuk ke dalam darah, virus menginfeksi hepatosit dan antigen virus meliputi permukaan sel. Selanjutnya terjadi proses pertahanan tubuh dari sel T sitotoksik yang menyebabkan inflamasi dan nekrosis. Patogenesis hepatitis B mungkin merupakan hasil dari proses ini, karena VHB sendiri tidak menyebabkan efek sitopatik. Kompleks antigen dan antibodi

menyebabkan gejala awal berupa arthralgia, arthritis dan urtikaria, serta komplikasi kronik seperti glomerulonefritis, krioglobulinemia dan vaskulitis.<sup>10</sup>

Infeksi oleh VHB menyebabkan tiga hal yaitu :

- Infeksi akut yang diikuti dengan masa pemulihan dan terjadinya imunitas terhadap reinfeksi (Lebih dari 90% kasus)
- Hepatitis fulminan, menyebabkan kegagalan hati dan angka kematiannya hampir mencapai 90 % (Kurang dari 1% kasus)
- Infeksi kronis, menyebabkan banyaknya *carrier* bagi virus ini

Sekitar 5 % penderita infeksi VHB menjadi karier kronik, yaitu seseorang yang menunjukkan HBsAg positif pada darahnya selama sedikitnya 6 bulan. Karier kronik terjadi karena adanya infeksi persisten pada hepatosit yang menyebabkan adanya VHB dan HBsAg pada darah dalam waktu yang lama. Determinan utama yang menunjukkan bahwa seorang penderita telah bebas infeksi atau menjadi karier kronik adalah adekuat tidaknya respon sel T sitotoksik. DNA VHB terutama berada pada episom sitoplasma sel yang terinfeksi persisten, sedangkan sejumlah kecil *copy* DNA VHB berintegrasi ke DNA sel inang.<sup>10,12</sup>

Karier kronik lebih sering terjadi ketika infeksi terjadi pada bayi baru lahir dibandingkan pada waktu dewasa, kemungkinan karena sistem imun bayi neonatus kurang kompeten dibandingkan orang dewasa. Sekitar 90% neonatus terinfeksi menjadi karier kronik dan berisiko menjadi HCC.<sup>10,12</sup>

Imunitas dalam waktu yang lama terjadi sesudah infeksi alami dan diperantarai oleh antibodi humoral terhadap HBsAg. Antibodi terhadap HBsAg (HBsAb) adalah protektif karena berikatan dengan antigen permukaan virion dan akan mencegah interaksi dengan reseptor hepatosit. Antibodi terhadap antigen *core* (HBcAb) tidak bersifat protektif karena antigen *core* berada di dalam virion sehingga tidak dapat berinteraksi dengannya.<sup>10,12</sup>

## 2.6 Epidemiologi

VHB ditransmisi dalam darah dan cairan tubuh lainnya termasuk semen dan ASI. Bisa melalui hubungan seksual dan vertikal dari ibu ke bayinya. Transmisi yang lain bisa berasal dari jarum suntik, terutama pada orang-orang yang menyalahgunakan obat-obatan intra vena. Pemeriksaan skrining HBsAg pada darah transfusi menurunkan angka kejadian hepatitis B yang berhubungan dengan transfusi darah.

Hepatitis ditemukan di seluruh dunia. Prevalensinya dapat diperkirakan dari populasi orang dengan anti HBs atau HBsAg positif, yaitu:

- Prevalensi tinggi (10-20%) terdapat di Asia Timur dan Asia Tenggara, Kepulauan Pasifik dan Afrika.
- Prevalensi sedang (2-20%) terdapat di daerah CIS, subkontinen Indian, sebagian Afrika, Eropa Timur dan Tenggara serta sebagian Amerika Latin.
- Prevalensi rendah (<1%) terdapat di Eropa, Australia, New Zealand, Canada dan USA.

Diperkirakan 350 juta orang merupakan *carrier* VHB. Di Eropa, sekitar 950.000 kasus ditemukan setiap tahunnya, 90.000 orang menjadi *carrier*, 19.000 orang meninggal karena sirosis dan 5.000 orang meninggal karena kanker. Di USA insidensi Hepatitis B sekitar 200.000 dan berhubungan dengan angka mortalitas akibat sirosis dan kanker hepatoselular.

Insidensi hepatoma yang tinggi juga ditemukan di Asia, sehingga mengindikasikan VHB adalah virus yang bersifat onkogen pada manusia. Imunisasi di Taiwan berhasil menurunkan hepatoma pada anak-anak, menunjukkan vaksin VHB adalah vaksin pertama yang mencegah kanker pada manusia.<sup>10</sup>

## 2.7 Manifestasi Klinik

Banyak infeksi VHB asimtomatis dan hanya terdeteksi dengan adanya antibodi terhadap HBsAg. Periode inkubasi rata-rata untuk hepatitis B adalah 10-12 minggu dimana jauh lebih panjang dibandingkan pada hepatitis A (3-4 minggu). Gambaran klinis hepatitis B akut adalah mirip dengan hepatitis A. Tetapi pada hepatitis B cenderung untuk lebih berat dan dapat terjadi

hepatitis yang mengancam jiwa. Kebanyakan karier kronik asimtomatis, tetapi beberapa orang menderita hepatitis kronik aktif yang dapat menyebabkan sirosis dan kematian.<sup>12</sup>

Infeksi VHB dapat memberikan gambaran klinis yang bermacam-macam. Infeksi akut disertai gejala sampai menimbulkan gejala yang fatal disebut hepatitis fulminan. Kerusakan sel hati pada infeksi VHB pada umumnya bukan disebabkan tetapi akibat respon imun yang terbentuk di dalam tubuh inang melalui perantara sel limfosit T sitotoksik. Pada individu dengan status imun tubuh yang normal, biasanya dalam waktu 4-6 bulan setelah infeksi primer tidak ditemukan lagi antigen VHB di dalam darah. Sedangkan pada bayi baru lahir dan anak-anak, oleh karena sistem tubuhnya belum matang, jika terjadi infeksi VHB maka tubuh tidak mampu untuk memberikan respon imun yang adekuat. Akibatnya terjadi toleransi imun sehingga virus terus bermultiplikasi tanpa adanya kerusakan hati dan individu yang bersangkutan akan menderita hepatitis kronis. Kira-kira 30-40 % infeksi VHB akut pada anak-anak dan 98 % infeksi VHB akut pada bayi baru lahir akan berkembang menjadi hepatitis kronis, sedangkan pada orang dewasa hanya 10% saja yang berkembang menjadi hepatitis kronis. Kriteria hepatitis B kronis adalah infeksi VHB dengan reaksi peradangan dan nekrosis hati yang menetap, ditandai dengan adanya kelainan tes fungsi hati, kelainan histopatologis dan HBs Ag yang selalu positif dalam darah yang menetap selama 6 bulan atau lebih. Penderita hepatitis B kronis ini ada yang menunjukkan gejala kerusakan hati (simtomatis) dan ada yang tidak menunjukkan gejala kerusakan hati yang disebut sebagai pembawa (karier) hepatitis kronis sehat (asimtomatis). Kedua kelompok ini sama-sama merupakan sumber penularan VHB yang potensial.<sup>14</sup>

## 2.8 Diagnosis Laboratorik

Penanda serologis VHB terdiri dari beberapa macam pemeriksaan yang biasanya dilakukan untuk mengetahui apakah seseorang pernah terinfeksi VHB atau tidak, dan apakah saat ini sedang mengidap infeksi tersebut. Selain itu, penanda serologis VHB juga dapat dipakai untuk memantau perjalanan penyakit infeksi VHB. Penanda serologis VHB antara lain : HBsAg, anti-HBs, anti-HBc, HBeAg dan anti Hbe.<sup>14</sup>

Metode pemeriksaan yang biasa dipakai untuk mendeteksi penanda serologis infeksi VHB dapat berupa RIA (*Radio Immuno Assay*), ELISA (*Enzyme Linked Immuno Absorbent Assay*), RPHA (*Reversed Passive Haemagglutination Assay*), dan PHA (*Passive Haemoagglutination*

*Assay*). RIA adalah metode yang paling sensitif dan spesifik, sedangkan metode RPHA/PHA kurang sensitif bila dibandingkan dengan ELISA. Namun untuk pemeriksaan semikuantitatif yang paling praktis dan murah adalah RPHA. Akhir-akhir ini banyak digunakan kit dengan hasil yang lebih cepat seperti *dipstick* atau *immunochromatography* dengan kepekaan yang hampir sama dengan RPHA.<sup>15</sup>

Karier HBeAg positif berisiko paling tinggi untuk menjadi HCC, tetapi karier dengan anti-Hbe antibodi juga berisiko menderita kanker. Oleh karena itu, pada penderita hepatitis kronis sebaiknya dilakukan skrining dengan memeriksa serum alpha fetoprotein atau ultrasonografi hati atau keduanya.<sup>11</sup>

## 2.9 Metode Analisis Genetik VHB

Sampai saat ini terdapat beberapa metode analisis variasi genetik VHB, yaitu sekuensing, uji hibridisasi, *Polymerase chain reaction* (PCR) dengan menggunakan primer spesifik untuk genotipe tertentu, *Restriction Fragment Length Polymorphism* (RFLP), dan uji serologis. Metode yang paling baik untuk menentukan genotipe VHB adalah dengan sekuensing yang diikuti dengan analisis filogenetik. Namun, sekuensing mempunyai beberapa kelemahan, salah satunya adalah keterbatasan dalam menentukan adanya infeksi campuran oleh lebih dari 1 genotipe VHB.<sup>13</sup>

Metode RFLP dapat digunakan untuk mendeteksi infeksi campuran dan penentuan sub tipe VHB. Metode PCR dengan primer yang spesifik untuk genotipe tertentu telah dikembangkan secara komersial. Metode yang paling banyak digunakan untuk kepentingan klinis adalah berdasarkan uji hibridisasi dan uji serologis.<sup>13</sup>