

INDONESIAN JOURNAL OF
**Clinical Pathology and
Medical Laboratory**

Majalah Patologi Klinik Indonesia dan Laboratorium Medik

IJCP & ML (Maj. Pat. Klin. Indonesia & Lab. Med.)	Vol. 20	No. 2	Hal. 73-169	Surabaya Maret 2014	ISSN 0854-4263
---	---------	-------	-------------	------------------------	-------------------

Diterbitkan oleh Perhimpunan Dokter Spesialis Patologi Klinik Indonesia

Published by Indonesian Association of Clinical Pathologists

Terakreditasi No: 66b/DIKTI/KEP/2011, Tanggal 9 September 2011

INDONESIAN JOURNAL OF
**CLINICAL PATHOLOGY AND
MEDICAL LABORATORY**

Majalah Patologi Klinik Indonesia dan Laboratorium Medik

**Susunan Pengelola Jurnal Ilmiah Patologi Klinik Indonesia
(*Indonesian Journal of Clinical Pathology and Medical Laboratory*)**
Perhimpunan Dokter Spesialis Patologi Klinik Indonesia Masa Bakti 2013–2016
(surat keputusan pengurus pusat PDSPATKLIN Nomor 008/PP-PATKLIN/III/2014)

Pelindung:

Ketua Perhimpunan Dokter Spesialis Patologi Klinik Indonesia

Ketua:

Puspa Wardhani

Wakil Ketua:

Maimun Zulhaidah Arthamin

Sekretaris:

Dian Wahyu Utami

Bendahara:

Bastiana Bermawi

Anggota:

Osman D. Sianipar

Penelaah Ahli:

Riadi Wirawan, AAG. Sudewa, Rustadi Sosrosuhardjo, Rahayuningsih Dharma, Mansyur Arif

Penelaah Pelaksana:

Prihatini, July Kumalawati, Ida Parwati, Tahono, FM. Judajana, Krisnowati, Nurhayana Sennang Andi Nanggung, Aryati, Purwanto AP, Jusak Nugraha, Sidarti Soehita, Maimun Zulhaidah Arthamin, Endang Retnowati, Noormartany, Edi Widjajanto, Budi Mulyono, Adi Koesoema Aman, Uleng Bahrun, Ninik Sukartini, Kusworini Handono, JB. Soeparyatmo, M. Yolanda Probohoesodo, Rismawati Yaswir

Berlangganan:

3 kali terbit per tahun

Anggota dan anggota muda PDSPATKLIN mulai Tahun 2011 gratis setelah melunasi iuran

Bukan Anggota PDSPATKLIN: Rp 175.000,-/tahun

Uang dikirim ke alamat:

Bastiana Bermawi dr, SpPK

Bank Mandiri KCP SBY PDAM No AC: 142-00-1079020-1

Alamat Redaksi:

d/a Laboratorium Patologi Klinik RSUD Dr. Soetomo Jl. Mayjend. Prof. Dr Moestopo 6–8 Surabaya.
Telp/Fax. (031) 5042113, 085-733220600 E-mail: majalah.ijcp@yahoo.com

Akreditasi No. 66/DIKTI/KEP/2011

INDONESIAN JOURNAL OF
**CLINICAL PATHOLOGY AND
 MEDICAL LABORATORY**

Majalah Patologi Klinik Indonesia dan Laboratorium Medik

DAFTAR ISI

PENELITIAN

Metode <i>Bromcresol Green</i> (BCG) dan <i>Bromcresol Purple</i> (BCP) pada Sirosis Hati yang Mendapat Infus Albumin (<i>Bromcresol Green (BCG) and Bromcresol Purple (BCP) Methods in Liver Cirrhosis Patients Receiving Albumin Infusion</i>)	
Miftahul Ilmiah, Leonita Anniwati, Soehartini	73-79
Angka FIB-4 dan <i>Highly Active Anti Retroviral Therapy</i> di antara Pasien Pengidap Infeksi HIV (<i>FIB-4 Score and Highly Active Anti Retroviral Therapy Among HIV Infected Patients</i>)	
Liliana A, Noormartany, Sugianli AK	80-84
Hubungan Antara Umur, Umur Mulai Sakit, Lama Sakit dengan LED, CRP, DAS28-led di Arthritis Reumatoid (<i>Associations Between Age, Age at Onset, Disease Duration with ESR, CRP, DAS28-esr in Rheumatoid Arthritis</i>)	
J. Soeroso, FM. Judajana	85-92
Bakteri Patogen Aerob dan Uji Kepekaannya di Ruang Bedah Pusat (<i>Testing of Aerobic Pathogenic Bacteria in Central Operating Rooms</i>)	
Agustini, Nurhayana Sennang, Benny Rusli	93-96
Rusip Sehubungan Profil Lipid dalam Keadaan Hiperkolesterolemia (<i>Rusip Related to the Lipid Profile in Hypercholesterolemia</i>)	
Indranila KS, Satrianugraha MD	97-102
Rerata Volume Trombosit, Hitung Leukosit dan Trombosit di Apendisitis Akut (<i>Mean Platelet Volume, White Blood Cell and Platelet Count in Acute Appendicitis</i>)	
Jayadi Festiawan, Nurhayana Sennang, Ibrahim Abdul Samad	103-106
Simvastatin Generik (<i>Generic Simvastatin</i>)	
DAP Rasmika Dewi, DG. Diah Dharma Santhi, DM Sukrama, AA. Raka Karsana	107-110
Genotipe dan Subtipe Virus Hepatitis B Penderita yang Terinfeksi Kronik Aktif (<i>Genotypes and Subtypes of Hepatitis B Virus in Chronic Active Hepatitis B Infection</i>)	
Gondo Mastutik, Juniastuti, Ali Rohman, Mochamad Amin, Poernomo Boedi Setiawan	111-115
Peramalan Sepsis Akibat Procalcitonin Terkait Keluaran Hasil Klinis (<i>The Prediction of Sepsis Due to Procalcitonin Related to Clinical Outcome</i>)	
Umi S. Intansari, Nunung Dartini, Kismardhani	116-121
Kadar TGF- β 1 Plasma dan Limfosit-T CD4 ⁺ di Penderita yang Terinfeksi HIV Stadium I (<i>Plasma Levels of TGF-β1 and CD4⁺ T-lymphocytes Stage I HIV-Infected Patients</i>)	
Alberthina, Endang R, Erwin AT	122-127
Sari Etanol, Etil Asetat Alang-alang (<i>Imperata Cylindrica</i>) terhadap Superoxide Dismutase (SOD) (<i>Ethanol Extract and Ethyl Acetate of Alang-alang (Imperata Cylindrica) on Superoxide Dismutase (SOD)</i>)	
St Khaerunnisa, Sutji Kuswarini, Suhartati, Lina Lukitasari, Ira Humairah, Reza Arta BN, Gwenny IP	128-132

Sekuens Terawetkan Terkait HIV-1 (<i>Conserved Sequences and HIV-1</i>) Efrida, Andani Eka Putra	133-140
Pengaruh Merokok Sigaret pada Pemeriksaan Resisten Aspirin (<i>Effects of Cigarette Smoking on Laboratory Aspirin Resistance</i>) D.I.S Siregar, Z. Lubis, H. Hariman	141-146
Kadar Kalium di Packed Red Cells Simpanan (<i>Potassium Levels in Stored Packed Red Cells</i>) Angeline Sutjianto, Asvin Nurulita, Fitriani Mangarengi	147-149
Keabsahan Engrailed-2 di Kanker Prostat (<i>Validity of Engrailed-2 in Prostate Cancer</i>) Elsa Yulius, Ida Parwati, Anna Tjandrawati, Dewi Kartika T	150-153
TELAAH PUSTAKA	
Petanda Biologik Terkini Lupus Nefritis (<i>Update Biomarkers of Lupus Nephritis</i>) Hani Susianti, Kusworini Handono	154-159
LAPORAN KASUS	
Pemeriksaan CKMB dan Hs-troponin T pada Pasien Infark Jantung dengan Peningkatan Segmen Non-ST (<i>Examination of CKMB and High Sensitive Troponin T in Non-ST Segment Elevation Myocardial Infarction Patients</i>) AK. Salim, M. Suryaatmadja, Hanafi DA	160-167
INFO LABORATORIUM MEDIK TERBARU.....	168-169

Ucapan terimakasih kepada penyunting Vol 20 No. 2 Maret 2014

Puspa Wardhani, Kusworini Handono, Riadi Wirawan, Maimun Zulhaidah Arthamin,
Sidarti Soehita, Jusak Nugraha, Prihatini, Purwanto AP, AAG. Sudewa

GENOTIPE DAN SUBTIPE VIRUS HEPATITIS B PENDERITA YANG TERINFEKSI KRONIK AKTIF

(Genotypes and Subtypes of Hepatitis B Virus in Chronic Active Hepatitis B Infection)

Gondo Mastutik¹, Juniastuti², Ali Rohman³, Mochamad Amin⁴, Poernomo Boedi Setiawan⁵

ABSTRACT

Chronic activity of Hepatitis B Virus (HBV) infection can lead to liver cirrhosis or hepatocellular carcinoma. The objective of this study was to know by analyzing the distribution of HBV genotypes and subtypes from hepatitis B patients suffering from chronic active hepatitis B infection in Surabaya. The HBV genotypes were determined by comparing the S gene sequences to those kept in the Gene Bank. The phylogenetic tree was constructed by means of the unweighted-pair group method using arithmetic averages. Furthermore, the subtypes were deduced based on the prediction of amino acid residues 116 to 183 of HBsAg on multiple sequences alignment with ClustalW2. This study involved 20 sera obtained from patients suffering chronic active hepatitis B infection. After PCR and sequencing, it was found that 13 samples could be used for sequence analysis. The results showed that all sequences were clustered into HBV genotype B. The subtype adw2 was identified from 12 of 13 sequences, whereas one (1) belonged to ayw1. The subtype adw2 is most prevalent in Indonesia, namely in the islands of Sumatra, Java, South Kalimantan, Bali, Lombok, Ternate, and Morotai, while ayw1 is found in the islands of Nusa Tenggara and Moluccas. Based on this study, it was found that the patients with HBV subtype adw2 were from Surabaya, whereas with ayw1 was from Nusa Tenggara. It can be concluded that the HBV infected patients with chronic active hepatitis B in Surabaya have the genotype B with subtype adw2 which was originally from Surabaya, whereas, ayw1 was a patient originally from Nusa Tenggara.

Key words: Genotype, subtype, S gene, hepatitis B virus, the chronic active hepatitis B infection

ABSTRAK

Infeksi virus hepatitis B (VHB) di penderita kronik aktif dapat menyebabkan pengerasan jaringan hati (liver sirosis) atau karsinoma hepatosel. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pembawaan sifat (genotipe) dan sub tipe VHB dari penderita infeksi hepatitis B kronik aktif dengan menganalisisnya di Surabaya. Genotipe VHB ditentukan dengan membandingkan sekuen gen S dengan yang terdapat di GenBank. Pohon filogenetik dibuat dengan menggunakan cara kelompok pasangan tanpa penimbangan menggunakan rerata hitungan (*unweighted-pair group method using arithmetic averages*). Sub tipe VHB diduga berdasarkan peramalan sekuen asam amino 116 sampai 183 pada HBsAg dengan cara *multiple alignment sequences* menggunakan ClustalW2. Penelitian ini menggunakan 20 serum penderita pengidap infeksi hepatitis B kronik aktif. Setelah direaksikan *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dan sekuensing, didapatkan 13 sampel yang dapat digunakan untuk analisis sekuen. Hasil telitian menunjukkan bahwa semua penderita hepatitis B pada penelitian ini (13 sampel) terinfeksi VHB genotipe B. Sub tipe adw2 ditemukan di 12 dari 13 serum, dan satu (1) yang memiliki ayw1. Sub tipe adw2 banyak ditemukan di Indonesia, yaitu di Pulau Sumatra, Jawa, Kalimantan Selatan, Bali, Lombok, Ternate, dan Morotai. Pada penelitian ini sampel yang digunakan berasal dari Surabaya (Pulau Jawa). Sub tipe ayw1 banyak ditemukan di Nusa Tenggara dan Maluku. Penderita hepatitis B kronik aktif yang terinfeksi VHB memiliki sub tipe ayw1, pada penelitian ini berasal dari Nusa Tenggara. Berdasarkan telitian ini dapat disimpulkan, bahwa VHB yang menginfeksi penderita hepatitis B kronik aktif di Surabaya adalah genotipe B dan di sub tipe adw2 dari penderita yang berasal dari Surabaya dan yang ayw1 berasal dari penderita Nusa Tenggara.

Kata kunci: Genotipe, sub tipe, gen S, virus hepatitis B, penderita hepatitis B kronik aktif

PENDAHULUAN

Infeksi virus hepatitis B (VHB) adalah salah satu bentuk penyakit yang umum, dengan angka kesakitan dan kematian tinggi. Indonesia merupakan daerah endemis yang sedang sampai tinggi terhadap infeksi VHB. Jumlah penyakit hepatitis B kronik yang pasif di

pasien pendonor darah di 11 kota besar di Indonesia yaitu sebanyak 2,1% sampai 9,5 %.¹

Infeksi VHB di penderita hepatitis B kronik yang aktif secara berkelanjutan dapat menyebabkan liver sirosis atau karsinoma hepatosel. Ragaman genetik VHB dapat mempengaruhi manifestasi klinis,

¹Departemen Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. E-mail: gondomastutik@gmail.com

²Departemen Mikrobiologi Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga

³Departemen Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga

⁴Laboratorium Hepatitis Lembaga Penyakit Tropis Universitas Airlangga

⁵Departemen Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga

kebahayaan karsinoma hepatosel dan respons terhadap pengobatan. Saat ini, telah teridentifikasi sebanyak delapan (8) genotipe VHB, yaitu A-H.^{2,3} Genotipe B dan C (HBV/B dan HBV/C) terutama ditemukan di Asia, termasuk di Indonesia.²⁻⁵ HBV dibagi menjadi sembilan (9) subtipe, yaitu: adw2, adw4, ayw1, ayw2, ayw3, ayw4, adr+q, adrq- dan ayr.^{1,2,6}

Perbedaan genotipe dan subtipe menunjukkan ketidak samaan sebaran geografik dan manifestasi klinik.^{2,3} Banyak penelitian genotipe dan subtipe VHB di penderita hepatitis B kronik yang pasif, tetapi kajian untuk pengidap yang aktif belum banyak dilakukan. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui genotipe dan subtipe VHB dari penderita hepatitis B kronik yang aktif di Surabaya dengan menganalisisnya.

METODE

Pengumpulan Sampel

Penelitian ini merupakan kajian eksplorasi laboratorik yang bertujuan untuk mengetahui genotipe dan subtipe VHB penderita hepatitis B kronik aktif di Surabaya dengan menganalisisnya. Penelitian laboratorik dilakukan di Lembaga Penyakit Tropis (LPT) Universitas Airlangga. Sampel penelitian berupa 20 serum yang diperoleh dari pasien yang menderita hepatitis B kronik aktif di Rumah Sakit Umum Daerah (RSUD) Dr. Soetomo. Patokan kesertaan yaitu penderita hepatitis B kronik aktif, yang HBsAg positif paling sedikit atau lebih dari enam (6) bulan dengan kandungan HBV DNA dalam serum lebih dari 100.000 kopi (20.000IU/mL).

Penyarian DNA dan PCR

DNA VHB disarikan dari serum menggunakan perangkat *NucleoSpin@Blood* (Macherey-Nagel). *Polymerase Chain reaction* (PCR) dilakukan dengan menggunakan perangkat *PCR Platinum Taq DNA Polymerase High Fidelity* (Invitrogen). *Master mix* reaksi penguatan dikerjakan sebagai berikut: 10x *high fidelity PCR buffer* 5 μ L, 10 mM dNTP mix 1 μ L, 50 mM MgSO₄ 2 μ L, *forward primer* 1 μ L (50 pmol/ μ L), *reverse primer* 1 μ L (50 pmol/ μ L), *template cDNA* 10 μ L dan *platinum tag high fidelity* 0,2 μ L, kesemuanya dicampur air sulingan (*distilled water*) sampai jumlah keseluruhan volume 50 μ L. Kondisi PCR adalah 94° C selama lima (5) menit untuk pre denaturasi, denaturasi pada suhu 94° C selama satu menit, *annealing* pada suhu 50° C selama satu menit, dan *extention* pada suhu 72° C, sebanyak 40 siklus. *Final extension* dilakukan pada suhu 72° C selama 10 menit.

Primer yang digunakan seperti penelitian sebelumnya¹ yaitu P7 5'GTG GTG GAC TTC TCT CAA TTT TC3' dan P8 5'CGG TA(A/T) AAA GGG ACT CA(A/C) GAT3' untuk *first round* yang menghasilkan 541pb. Kemudian dilanjutkan dengan *second round* dengan primer HBS1 5' CAA GGT ATG TTG CCC GTT TG-3' dan HBS2 5'-AAA GCC CTG CGA ACC ACT GA-3' yang menghasilkan 259 pb. Hasil PCR kemudian dielektroforesis di 2% gel agarose yang mengandung *ethidium bromide*. *Elektrophoresis* dilakukan pada 100 volt selama kurang lebih 20–30 menit. Kemudian dengan *UV-transluminator* dapat ditemukan gambaran *band*-nya.

Analisis Genotipe VHB dan Subtipe

Hasil PCR yang positif digunakan untuk sekuensing. Reagen yang digunakan yaitu *the BigDye Deoxy Terminator v1.1 Cycle Sequencing Kit* (Applied Biosystems). Sekuensing menggunakan *ABI Prism 310 Genetic analyzer* (Perkin Elmer).

Genotipe VHB ditentukan dengan membandingkan sekuen gen S dimulai dari nukleotida 348 yang terdapat di *bank data DNA Internasional* (DDBJ/EMBL/GenBank). Pohon filogenetik dibuat dengan menggunakan *unweighted-pair group method using arithmetic averages* (UPGMA). Subtipe HBV diduga berdasarkan peramalan sekuen asam amino 116 sampai 183 di HBsAg dengan menggunakan *multiple alignment software programme Molecular Genetics Analysis* (MEGA) dengan perangkat *ClustalW2*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini menggunakan 20 serum penderita hepatitis B kronik aktif. Penderita pada penelitian ini berusia antara 24–66 tahun, mereka terdiri dari laki-laki 15 orang dan perempuan lima (5) orang. Pemeriksaan PCR dilakukan dengan teknik *nested PCR*. Hasil kuatan digunakan sebagai *template* untuk sekuensing. Setelah diperoleh hasil sekuensing, maka hanya diperoleh 13 sampel yang dapat digunakan untuk analisis hal terkait yaitu cHBV-01, cHBV-02, cHBV-03, cHBV-04, cHBV-05, cHBV-08, cHBV-16, tHBV-20, tHBV-24, tHBV-25, tHBV-26, tHBV-27 dan tHBV-28.

Analisis terkait filogenetik berdasarkan sekuen gen S. Sekuen hasil penelitian dibandingkan dengan sekuen VHB dari *Genbank* dengan *accession number* AF223957 dari Vietnam, AB074756 dari Thailand, AY123041 dari Japan, AF533983 dari China, X14193 dari Korea, X75665 dari New Caledonia, X75656 dari Polynesia, AB048704 dari Australia, AB048705 dari Australia, AB241110 dari Philippines, AB241111 dari

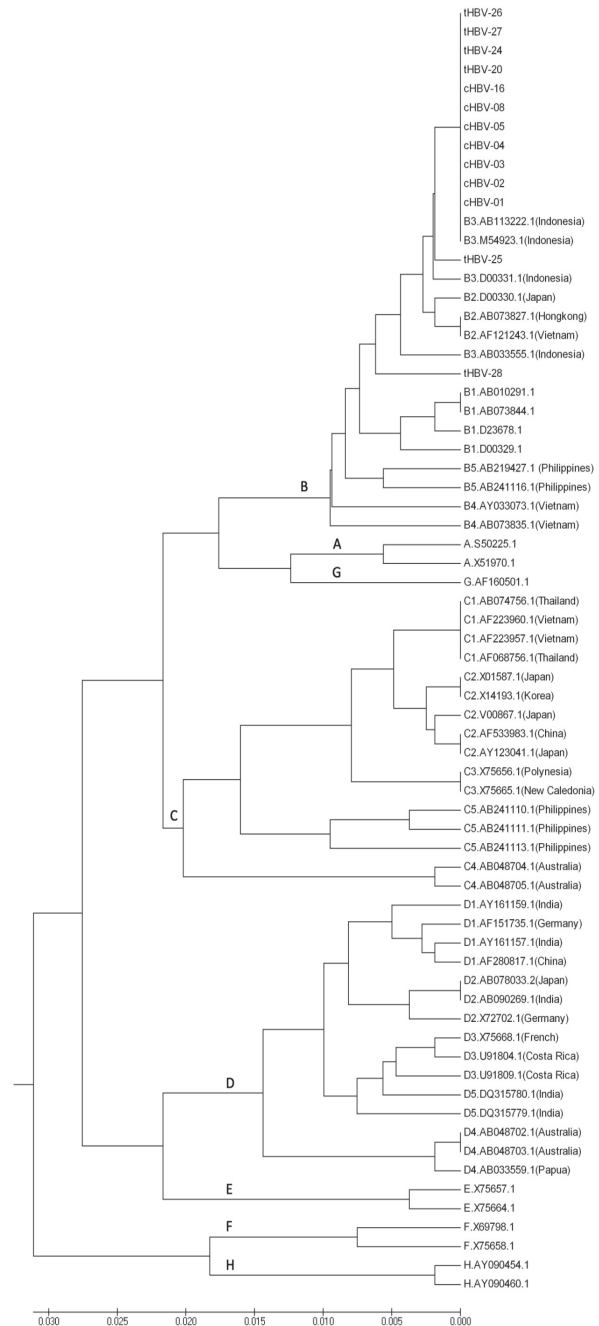
Philippines, AF151735 dari Germany, AF280817 dari China, AB033559 dari Papua, AB048702 dari Australia, AB078033 dari Japan, AB090269 dari India, U91809 dari Costa Rica, X75668 dari French, DQ315779 dari India, DQ315780 dari India, X75657, X75658, AY090460, AB073835 dari Vietnam, AB219427 dari Philippines, AB241116 dari Philippines, D00329 dari Japan, AY033073 dari Vietnam, X51970, AF160501, D23678 dari Japan, AF121243 dari Vietnam, D00330 dari Japan, AB113222 dari Indonesia dan M54923 dari Indonesia.

Hasil telitian menunjukkan bahwa semua penderita hepatitis B pada penelitian ini (13 sampel) terinfeksi VHB asal genotipe B (lihat Gambar 1). Sekuen VHB yang diperoleh pada penelitian ini dialihkan menjadi asam amino dengan menggunakan perangkat lunak MEGA dengan perkakas *ClusterW2*. Peramalan asam amino di posisi 116-183 digunakan untuk analisis sub tipe VHB. Analisis ini berdasarkan sisa asam amino no 122, 127, 134, 159, 160, dan 177 (lihat Tabel 1).^{1,2,6} Residu asam amino pada penelitian ini dibandingkan dengan sisa asam amino dari sub tipe VHB yang terdapat pada *GenBank* yaitu C1 sub tipe adrq+ *accession number* AF223957, C1 sub tipe adrq+ *accession number* AB074756, C2 sub tipe adrq+ *accession number* AY123041, C2 sub tipe adrq+ *accession number* AF533983, C2 sub tipe adrq+ *accession number* X14193, C3 sub tipe adrq- *accession number* X75665, C3 sub tipe adrq- *accession number* X75656, C4 sub tipe ayw3 *accession number* AB048704, C4 sub tipe ayw3 *accession number* AB048705, C5 sub tipe adw2: *accession number* AB241110, C5 sub tipe adw2 *accession number* AB241111, D1 sub tipe ayw2 *accession number* AF151735, D1 sub tipe ayw2 *accession number* AF280817, D4 sub tipe ayw2 *accession number* AB033559, D4 sub tipe ayw2 *accession number* AB048702, D2 sub tipe ayw3 *accession number* AB078033, D2 sub tipe ayw3 *accession number* AB090269, D3 sub tipe ayw3 *accession number* U91809,

Tabel 1. Sisa asam amino untuk penentuan sub tipe VHB.^{1,2,6}

Sub tipe VHB	Sisa asam amino					
	122	127	134	159	160	177
<i>adw2</i>	K	P	F	A	K	V
<i>adw4</i>	K	L	F	G	K	V
<i>ayw1</i>	R	P	F	A	K	V
<i>ayw2</i>	R	P	Y	G	K	V
<i>ayw3</i>	R	T	Y	G	K	V
<i>ayw4</i>	R	L	F	G	K	V
<i>adrq+</i>	K	P	F	A	R	V
<i>adrq-</i>	K	P	F	V	R	A
<i>ayr</i>	R	P	F		R	

D3 sub tipe ayw3 *accession number* X75668, D5 sub tipe ayw3 *accession number* DQ315779, D5 sub tipe ayw3 *accession number* DQ315780, E sub tipe ayw4 *accession number* X75657, F sub tipe adw4q *accession number* X75658, H sub tipe adw4 *accession number* AY090460, B4 sub tipe ayw1 *accession number* AB073835, B5 sub tipe ayw1 *accession number* AB219427, B5 sub tipe ayw1 *accession number* AB241116, B1 sub tipe adw2 *accession number* D00329, B4 sub tipe ayw1 AY033073, A sub tipe adw2 *accession number* X51970, G sub tipe



Gambar 1. Analisis filogenetik VHB dari pasien hepatitis B kronik aktif dengan sekuen dari bank data DNA Internasional

	122	127	134	159	177
C1_adrq+:AF223957 (Vietnam)	T	S	T	G	T
C1_adrq+:AB074756 (Thailand)	T	S	T	G	T
C2_adrq+:AY123041 (Japan)	T	S	T	G	T
C2_adrq+:AF533983 (China)	T	S	T	G	T
C2_adrq+:X14193 (Korea)	T	S	T	G	T
C3_adrq+:X75665 (New Caledonia)	T	S	T	G	T
C3_adrq+:X75665 (Polynesia)	T	S	T	G	T
C4_ayw3:AB048704 (Australia)	T	S	T	G	T
C4_ayw3:AB048705 (Australia)	T	S	T	G	T
C5_adw2:AB241110 (Philippines)	T	S	T	G	T
C5_adw2:AB241111 (Philippines)	T	S	T	G	T
D1_ayw2:AF151735 (Germany)	T	S	T	G	T
D1_ayw2:AF280817 (China)	T	S	T	G	T
D4_ayw2:AB033559 (Papua)	T	S	T	G	T
D4_ayw2:AB048702 (Australia)	T	S	T	G	T
D2_ayw3:AB078033 (Japan)	T	S	T	G	T
D2_ayw3:AB090269 (India)	T	S	T	G	T
D3_ayw3:U91809 (Costa Rica)	T	S	T	G	T
D3_ayw3:X75668 (French)	T	S	T	G	T
D5_ayw3:DQ315779 (India)	T	S	T	G	T
D5_ayw3:DQ315780 (India)	T	S	T	G	T
E_ayw4:X75657	T	S	T	G	T
F_adw4q+:X75658	T	S	T	G	T
H_adw4:AY090460	T	S	T	G	T
B7_ayw1:AB073835 (Vietnam)	T	S	T	G	T
B5_ayw1:AB219427 (Philippines)	T	S	T	G	T
tHBV-28	T	S	T	G	T
B5_ayw1:AB241116 (Philippines)	T	S	T	G	T
B1_adw2:D00329 (Japan)	T	S	T	G	T
B4_ayw1:AY033073 (Vietnam)	T	S	T	G	T
A_adw2:X51970	T	S	T	G	T
G_adw2:AF160501	T	S	T	G	T
B1_adw2:D23678 (Japan)	T	S	T	G	T
B2_adw2:AF121243 (Vietnam)	T	S	T	G	T
B2_adw2:D00330 (Japan)	T	S	T	G	T
B3_adw2:AB113222 (Indonesia)	T	S	T	G	T
B3_adw2:M54923 (Indonesia)	T	S	T	G	T
cHBV-01	T	S	T	G	T
cHBV-02	T	S	T	G	T
cHBV-03	T	S	T	G	T
cHBV-04	T	S	T	G	T
cHBV-05	T	S	T	G	T
cHBV-08	T	S	T	G	T
cHBV-16	T	S	T	G	T
tHBV-20	T	S	T	G	T
tHBV-24	T	S	T	G	T
tHBV-26	T	S	T	G	T
tHBV-27	T	S	T	G	T
tHBV-25	T	S	T	G	T

Gambar 2. Analisis subtype VHB penderita hepatitis B kronik aktif berdasarkan sekuen asam amino HBsAg (posisi 116-183) dengan yang dari bank data DNA Internasional

adw2 accession number AF160501, B1 subtype adw2 accession number D23678, B2 subtype adw2 accession number AF121243, B2 subtype adw2 accession number D00330, B3 subtype adw2 accession number AB113222, dan B3 subtype adw2 accession number M54923. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa subtype VHB yang menginfeksi penderita hepatitis B kronik aktif yaitu yang adw2 di 12 dari 13 serum, dan yang ayw1 di satu (1) serum (Gambar 2).

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa genotipe VHB yang menginfeksi penderita hepatitis B kronik aktif yaitu yang B. Saat ini, telah teridentifikasi sebanyak delapan (8) genotipe VHB yaitu A-H. Genotipe A merupakan yang paling banyak ditemukan di Eropa bagian utara dan tengah, Amerika Utara serta Afrika Sub Sahara. Genotipe B dan C merupakan yang utama di Asia. Genotipe D tersebar merata di Eropa, Afrika dan Asia. Genotipe E terutama ditemukan di Negara Afrika bagian Barat. Genotipe F banyak ditemukan di Amerika Tengah, Amerika Selatan termasuk semua galur dari Venezuela, Colombia, dan Polinesia. Genotipe H dari Nikaragua, Meksiko, dan California.^{2,3}

Di genotipe A dan F terdapat dua (2) subgenotipe. Genotipe B, C, D dibagi menjadi empat (4) subgenotipe. Subgenotipe B dan C menyebar secara geografik yaitu B1 yang dominan di Jepang, B2 di China, B3 di Indonesia, B4 di Vietnam, semuanya di subtype ayw1.³ Beberapa subgenotipe HBV, yaitu: HBV/Aa (A1 untuk Asia dan Afrika), Ae (A2 untuk Eropa), Bj (B1 untuk Jepang) dan Ba (B2 untuk Asia).^{7,8} Subgenotipe C1 sering ditemukan di Jepang, Korea dan China; sedangkan yang C2 di China, Asia Tenggara dan Banglades. Yang C3 di Oceania terdiri dari subtype adrq- dan C4 terutama ayw3 sering ditemukan di suku Aborigin Australia. Genotipe D yaitu subgenotipe D1-4 menyebar di Eropa, Afrika dan Asia.³ Genotipe F dibagi menjadi dua (2) subtype yaitu F1 dan F2. Subgenotipe F1 banyak ditemukan di Amerika Tengah, F2 terutama dari Amerika Selatan termasuk semua galur dari Venezuela, Colombia dan Polinesia.^{2,3}

Genotipe B dan C terutama ditemukan di Asia.^{2,3} Hasil penelitian menunjukkan bahwa genotipe B dan C merupakan yang dominan di Indonesia yaitu yang B (66%), diikuti yang C (26%), D (7%) dan A (7%). Kesemuanya didapat dari 899 subjek penelitian

yaitu jumlah keseluruhan yang berasal dari 28 kota di Indonesia. Genotipe C merupakan yang banyak ditemukan di Sangihe Talaud, Maluku Utara dan Papua. Genotipe B banyak ditemukan di Pulau Sumatra, Jawa, Bali, Sumba, dan Flores. Genotipe D banyak ditemukan di Maluku Selatan, sedangkan yang A ditemukan di Kalimantan Timur dan Kupang.⁴ Genotipe B dan C juga merupakan yang utama dari pendonor darah di Makasar yaitu sebanyak 61,21% dan 25,23% dari jumlah keseluruhan 214 serumnya.⁵ Hal ini juga sama dengan hasil telitian ini dan juga kajian yang lain di Surabaya, yaitu dari sampel penderita HBV kronik pendonor darah, pasien penyakit hati kronis dan pasien hemodialisis.⁹

Subtipe ditentukan berdasarkan analisis serologis protein *surface antigen* (HBsAg). Sembilan (9) subtipe telah diidentifikasi, yaitu *ayw1*, *ayw2*, *ayw3*, *ayw4*, *ayr*, *adw2*, *adw4*, *adrq+*, dan *adrq-*. Dasar permolekulan untuk menentukan ragam subtipe d/y dan w/r ditentukan berdasarkan sisa asam amino no 122, 127, 134, 159, 160, dan 177 (Tabel 1).^{1,2,6} Hasil telitian ini yaitu subtipe *adw2* ditemukan di 12 dari 13 serum dan ditemukan satu (1) yang terkait *ayw1*. Subtipe *adw2* banyak ditemukan di Indonesia di pulau Sumatra, Jawa, Kalimantan Selatan, Bali, Lombok, Ternate, dan Morotai, seperti yang diperoleh dari sampel. Dan yang digunakan pada penelitian ini berasal dari Surabaya (Pulau Jawa).^{9,10} Subtipe *ayw1* banyak ditemukan di Nusa Tenggara dan Maluku.¹⁰ Penderita Hepatitis B kronik aktif yang terinfeksi VHB subtipe *ayw1* pada penelitian ini berasal dari Nusa Tenggara. *Isolate* subtipe HBV dari Surabaya sebagian besar adalah *adw* (94%), *ayw* (5%), dan *adr* (1%), kesemuanya berasal dari 78 serum pendonor darah: penderita hepatitis B kronis, liver sirosis, karsinoma hepatosel, hepatitis akut dan hemodialisis.⁹

SIMPULAN

VHB yang menginfeksi penderita hepatitis B kronik aktif di Surabaya adalah genotipe B dan subtipe *adw2* yang bersangkutan berasal dari Surabaya, sedangkan yang *ayw1* berasal dari Nusa Tenggara.

UCAPAN TERIMA KASIH

Para peneliti menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Pemerintah Indonesia yang telah membiayai penelitian ini lewat

Dana DP2M Tahun 2009. Demikian pula kepada Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat Universitas Airlangga, yang telah membantu sarana pelaksanaannya.

DAFTAR PUSTAKA

1. Lusida MI, Nugrahaputra VE, Soetjipto, Handajani R, Nagano-Fujii M, Sasayama M, Utsumi T, Hotta H. Novel subgenotypes of hepatitis B virus genotypes C and D in Papua, Indonesia. *J Clin Microbiol.* 2008; 46 (7): 2160–6. doi: 10.1128/JCM.01681-07. Epub 2008 May 7.
2. Norder H, Couroucé AM, Coursaget P, Echevarria JM, Lee SD, Mushahwar IK, Robertson BH, Locarnini S, Magnius LO. Genetic diversity of hepatitis B virus strains derived worldwide: genotypes, subgenotypes, and HBsAg subtypes. *Intervirology.* 2004; 47 (6): 289–309.
3. Arauz-Ruiz P, Norder H, Robertson BH, Magnius LO. Genotype H: a new Amerindian genotype of hepatitis B virus revealed in Central America. *J Gen Virol.* 2002; 83 (Pt 8): 2059–73.
4. Mulyanto, Depamede SN, Surayah K, Tsuda F, Ichiyama K, Takahashi M, Okamoto H. A nationwide molecular epidemiological study on hepatitis B virus in Indonesia: identification of two novel subgenotypes, B8 and C7. *Arch Virol.* 2009; 154 (7): 1047–59. doi: 10.1007/s00705-009-0406-9. Epub 2009 Jun 5
5. Utama A, Octavia TI, Dhenni R, Miskad UA, Yusuf I, Tai S. Hepatitis B virus genotypes/subgenotypes in voluntary blood donors in Makassar, South Sulawesi, Indonesia. *Virol J.* 2009; 19 (6): 128. doi: 10.1186/1743-422X-6-128.
6. Norder H, Couroucé AM, Magnius LO. Molecular basis of hepatitis B virus serotype variations within the four major subtypes. *J Gen Virol.* 1992; 73 (Pt 12): 3141–5.
7. Sakamoto T, Tanaka Y, Orito E, Co J, Clavio J, Sugauchi F, Ito K, Ozasa A, Quino A, Ueda R, Sollano J, Mizokami M. Novel subtypes (subgenotypes) of hepatitis B virus genotypes B and C among chronic liver disease patients in the Philippines. *J Gen Virol.* 2006; 87 (Pt 7): 1873–82.
8. Matsuura K, Tanaka Y, Hige S, Yamada G, Murawaki Y, Komatsu M, Kuramitsu T, Kawata S, Tanaka E, Izumi N, Okuse C, Kakumu S, Okanou T, Hino K, Hiasa Y, Sata M, Maeshiro T, Sugauchi F, Nojiri S, Joh T, Miyakawa Y, Mizokami M. Distribution of hepatitis B virus genotypes among patients with chronic infection in Japan shifting toward an increase of genotype A. *J Clin Microbiol.* 2009; 47 (5): 1476–83. doi: 10.1128/JCM.02081-08. Epub 2009 Mar 18.
9. Lusida MI, Surayah, Sakugawa H, Nagano-Fujii M, Soetjipto, Mulyanto, Handajani R, Boediwarsono, Setiawan PB, Nidom CA, Ohgimoto S, Hotta H. Genotype and subtype analyses of hepatitis B virus (HBV) and possible co-infection of HBV and hepatitis C virus (HCV) or hepatitis D virus (HDV) in blood donors, patients with chronic liver disease and patients on hemodialysis in Surabaya, Indonesia. *Microbiol Immunol.* 2003; 47 (12): 969–75.
10. Mulyanto, Tsuda F, Karossi AT, Soewignjo S, Roestamsjah, Sumarsidi D, Trisnamurti RH, Sumardi, Surayah, Udin LZ, Melani-Wikanta, Kanai K, Mishiro S. Distribution of the hepatitis B surface antigen subtypes in Indonesia: implications for ethnic heterogeneity and infection control measures. *Arch Virol.* 1997; 142 (11): 2121–9.