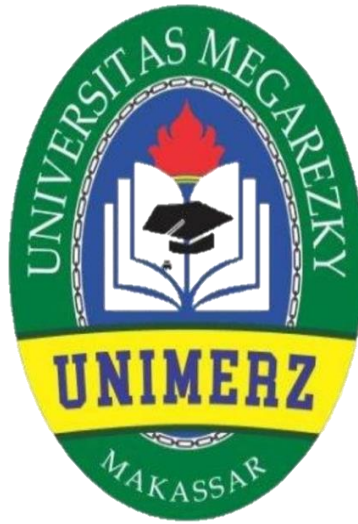


**SKRIPSI**

**ANALISIS KADAR *TUMOR NECROSIS FACTOR ALFA (TNF- $\alpha$ )* PADA PASIEN  
HEPATITIS B DENGAN METODE ELISA (*ENZYME LINKED IMMUSORBENT  
ASSAY*)**



Diajukan Sebagai Syarat Dalam Meraih Sarjana Terapan Kesehatan (S.Tr.Kes)  
Pada Program Studi Diploma Empat (D-IV) Teknologi Laboratorium Medis.  
Fakultas Teknologi Kesehatan Universitas Megarezky Makassar

**DITA SERFINA PALELU**

**B1D119034**

**PROGRAM STUDI D-IV TEKNOLOGI LABORTORIUM MEDIS**

**FAKULTAS TEKNOLOGI KESEHATAN**

**UNIVERSITAS MEGAREZKY**

**MAKASSAR**

**2025**

**HALAMAN JUDUL**

**SKRIPSI**

ANALISIS KADAR *TUMOR NECROSIS FACTOR ALFA* (TNF-A) PADA PASIEN  
HEPATITIS B DENGAN METODE ELISA (*ENZYME LINKED  
IMMUNOSORBENT ASSAY*)

ANALYSIS OF *TUMOR NECROSIS FACTOR ALPHA* (TNF-A) LEVELS IN  
HEPATITIS B PATIENTS USING THE ELISA (*ENZYME-LINKED  
IMMUNOSORBENT ASSAY*)

DITA SERFINA PALELU

B1D119034

Dibimbing Oleh

Pembimbing I

Nurfitri Arfani, S.Si., M.Si

Pembimbing II

Ayusti Dirga, S.Si.M.Sc

Penguji

Indas Wari Rahman, S.Si., M.Kes

PROGRAM STUDI D-IV TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS

FAKULTAS TEKNOLOGI KESEHATAN

UNIVERSITAS MEGAREZKY

MAKASSAR

2025

**HALAMAN PENGESAHAN**

**SKRIPSI**

**ANALISIS KADAR *TUMOR NECROSIS FACTOR ALFA* (TNF- $\alpha$ ) PADA PASIEN  
HEPATITIS B DENGAN METODE ELISA (*ENZYME LINKED IMMUNOSORBENT  
ASSAY*)**

Disusun dan diajukan oleh  
**DITA SERFINA PALELU**  
Nomor Induk Mahasiswa B1D119034  
Telah dipertahankan di depan Tim Penguji Skripsi  
Pada tanggal 14 Agustus 2025  
Dan dinyatakan telah memenuhi syarat  
Menyetujui

**Tim Penguji**

**Tanda Tangan**


1. Nurfitri Arfani, S.Si., M.Si

(  )

2. Ayusti Dirga, S.Si.M.Sc

(  )

3. Indas Wari Rahman, S.Si., M.Kes

(  )

Mengetahui,

**Dekan**

**Fakultas Teknologi Kesehatan**



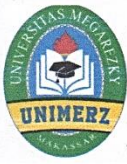
**Prof. Dr. Dra. apt. Hj. Asnah Marzuki, M.Si**  
NUPTK. 1350727628230013

**Ketua Program Studi**

**DIY Teknologi Laboratorium Medis**



**Dr. Nirmawati Angria, S.Si., M.Kes**  
NUPTK. 6950765666230332



LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGABDIAN MASYARAKAT (LPPM)  
UNIVERSITAS MEGAREZKY

SK. Menristekdikti RI. No.1194/KPT/I/2018 Terakreditasi BAN PT

Kampus II : Jalan Antang Raya No. 43 Telp. 0411 - 492 401 - 496401 Fax. 496614 Website : <http://universitasmegarezky.ac.id> Email: [info@universitasmegarezky.ac.id](mailto:info@universitasmegarezky.ac.id)

**KETERANGAN LOLOS UJI TURNITIN**  
**No. 133 /T/07.091056/ XI /2025**

Yang bertanda tangan di bawah ini,

Nama : Syamsyuriyana Sabar, S.Kep., Ns., M.Kep

NIDN : 0915118602

Jabatan : Ketua LPPM

Menyatakan bahwa :

Nama : Dita Serfina Palelu

NIM : B1D119034

Prodi : DIV Teknologi Laboratorium Medis

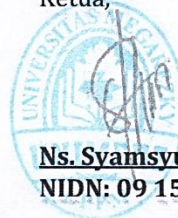
Judul Skripsi/KTI : Analisis Kadar *Tumor Necrosis Factor Alfa* (TNF- $\alpha$ ) Pada Pasien Hepatitis B Dengan Metode ELISA (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*)

Telah melalui uji *similarity* dengan software *Turnitin* dan dinyatakan lolos dengan **persentase 25%** sesuai bukti terlampir.

Demikian Surat Keterangan ini di buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Makassar, 11 Desember 2025

Ketua,



**Ns. Syamsyuriyana Sabar, M.Kep**

**NIDN: 09 151186 02**

## 25% Overall Similarity

The combined total of all matches, including overlapping sources, for each database.

### Filtered from the Report



- ▶ Bibliography
- ▶ Quoted Text
- ▶ Small Matches (less than 8 words)

### Exclusions

- ▶ 60 Excluded Sources

---

### Top Sources

- 24%  Internet sources
- 7%  Publications
- 9%  Submitted works (Student Papers)

---

### Integrity Flags

#### 0 Integrity Flags for Review

No suspicious text manipulations found.

Our system's algorithms look deeply at a document for any inconsistencies that would set it apart from a normal submission. If we notice something strange, we flag it for you to review.

A Flag is not necessarily an indicator of a problem. However, we'd recommend you focus your attention there for further review.

## **HALAMAN PERSEMBAHAN**

Skripsi ini penulis persembahkan kepada Orang tua, Keluarga, Sahabat, Teman-Teman

dan Almamater Tercinta

Jurusan D-IV Teknologi Laboratorium Medis

Fakultas Teknologi Kesehatan

Universitas Megarezky Makassar

## **MOTTO**

*“Tidak ada mimpi yang gagal, yang ada hanya mimpi yang tertunda. Cuma sekiranya kalau kamu merasa gagal dalam mencapai mimpi, jangan khawatir, mimpi-mimpi lain bisa diciptakan”.*

**“Karena Masa Depan Sungguh Ada, Dan Harapanmu Tidak Akan Hilang”**

**(Amsal 23:18)**

**“Tetaplah Berdoa”**

**(1 Tesalonika 5:17)**

## CURRICULUM VITAE



### A. Biodata

1. Nama : Dita Serfina Palelu
2. Tempat tanggal lahir: Biak, 24 September 2001
3. Jenis Kelamin : Perempuan
4. Agama : Kristen Protestan
5. Alamat : Jl.Nazaret
6. No. Hp : 082199340013

### B. Riwayat Pendidikan

1. Tahun 2006-2007 : TK Immanuel Agung
2. Tahun 2007-2013 : SD Inpres Sorido
3. Tahun 2013-2016 : SMP Negeri 3 Biak Kota
4. Tahun 2016-2019 : SMA Negeri 3 Biak Kota
5. Tahun 2019-2023 : Universitas Megarezky Makassar

### C. Kesan saat kuliah

Pada masa kuliah di kampus Unimerz saya bangga terhadap program studi D-IV Teknologi Laboratorium Medis karena telah memberikan banyak pengalaman baik kepada saya pribadi dalam meningkatkan pengetahuan serta *skill* yang saya miliki selama menempuh pendidikan di almamater ini, serta saya sangat bersyukur bisa bertemu orang-orang hebat selama masa perkuliahan di Universitas Megarezky.

## KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah Subhanahu Wa Ta'ala karena atas rahmat dan karunia-Nya, penulis dapat menyelesaikan **Skripsi** ini yang berjudul :

**"Analisis Kadar *Tumor Necrosis Factor Alfa* (TNF- $\alpha$ ) pada Pasien Hepatitis B dengan Metode ELISA (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*)"**.

Penyusunan karya tulis ini merupakan salah satu syarat dalam menyelesaikan program studi **D-IV Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Teknologi Kesehatan Universitas Megarezky Makassar**. Penulis menyadari bahwa tanpa bimbingan, bantuan, dan dukungan dari berbagai pihak, karya tulis ini tidak akan dapat terselesaikan dengan baik.

Dengan penuh rasa hormat dan cinta, penulis menyampaikan **ucapan terima kasih yang tak terhingga kepada kedua orang tua tercinta Ayah Samuel Palelu dan Ibu Lucia Sanglayuk**, yang senantiasa mendoakan, mendampingi, serta memberikan semangat, kasih sayang, dan dukungan moril maupun materil tanpa henti. Tanpa keikhlasan dan doa dari Ayah dan Ibu, penyusunan **Skripsi** ini tidak akan pernah terwujud.

Ucapan terima kasih dan penghargaan yang sebesar-besarnya juga penulis sampaikan kepada

1. **Bapak Dr. H. Alimuddin, SH., MH., M.Kn sebagai Pembina Yayasan Pendidikan Islam Mega Rezky Makassar**, atas arahan dan pembinaan yang senantiasa menjadi fondasi dalam pengembangan institusi dan mahasiswa.
2. **Ibu Alm. Hj. Suryani, SH., MH sebagai Pendiri Yayasan Pendidikan Islam Mega Rezky Makassar**, atas dedikasi dan kontribusi luar biasa dalam mendirikan lembaga pendidikan yang menjadi wadah pengembangan ilmu dan karakter.
3. **Bapak Moch. Noer Alim Qolby, S.H., LLM Sebagai Ketua Yayasan Pendidikan Islam Mega Rezky Makassar**, atas dukungan dan kebijakan strategis yang memfasilitasi proses pendidikan dan penelitian secara berkelanjutan.
4. **Bapak Prof. Dr. Anwar Ramli, SE., M.Si sebagai Rektor Universitas Megarezky**, atas motivasi dan arahannya dalam membangun budaya akademik yang unggul dan berdaya saing.
5. **Ibu Prof. Dr. Dra. apt. Hj. Asnah Marzuki, M.Si**, sebagai **Dekan Fakultas Teknologi Kesehatan Universitas Megarezky**, atas kesempatan dan dukungan yang diberikan selama masa studi.

6. **Ibu Dr. Nirmawati Angria, S.Si., M.Kes sebagai Ketua Program Studi D-IV Teknologi Laboratorium Medis**, atas bimbingan akademik yang berkelanjutan dan inspiratif.
7. **Dosen Pembimbing Ibu Nurfitri Arfani, S.Si., M.Si pembimbing I dan Ibu Ayusti Dirga, S.Si., M.Sc pembimbing II**, yang telah memberikan arahan, saran, dan evaluasi dalam penyusunan karya tulis ini dengan penuh kesabaran dan keikhlasan.
8. **Ibu Desyani Ariza, S.Si., M.Kes sebagai Pembimbing Akademik (PA)**, atas pendampingan dan bimbingan akademik selama masa studi penulis.
9. **Seluruh Dosen dan Staf Akademik Universitas Megarezky**, atas ilmu, perhatian, dan pelayanan yang diberikan selama proses studi.
10. **Teman-teman seperjuangan Eka, Indah, Icha, Grisela, Samuel, Deril dan sahabat-sahabatku Rensy, Lydia, Novi, Risnadia** yang turut membantu secara langsung maupun tidak langsung dalam penyusunan karya ilmiah ini.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan karya ilmiah ini masih terdapat banyak kekurangan. Oleh karena itu, kritik dan saran yang bersifat membangun sangat penulis harapkan demi kesempurnaan karya ini di masa mendatang.

Akhir kata, semoga karya ilmiah ini dapat memberikan manfaat bagi pembaca, serta menjadi kontribusi yang berarti dalam pengembangan ilmu pengetahuan.

**Makassar, 8 Januari 2026**

Penulis

## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN JUDUL SKRIPSI .....</b>	<b>ii</b>
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN .....</b>	<b>vi</b>
<b>MOTTO .....</b>	<b>vii</b>
<b>CURRICULUM VITAE.....</b>	<b>viii</b>
<b>KATA PENGANTAR.....</b>	<b>ix</b>
<b>DAFTAR ISI.....</b>	<b>xi</b>
<b>ABSTRAK .....</b>	<b>xiii</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>xv</b>
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>xvi</b>
<b>DAFTAR SINGKATAN.....</b>	<b>xvii</b>
<b>BAB I PENDAHULUAN.....</b>	<b>1</b>
A. Latar Belakang .....	1
B. Rumusan Masalah .....	6
C. Tujuan Penelitian.....	6
D. Manfaat Penelitian.....	6
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>8</b>
A. Tinjauan Umum Hepatitis B.....	8
B. Tinjauan Umum Tumor Necrosis Faktor-Alfa (TNF- $\alpha$ ) .....	27
C. Tinjauan Umum ELISA ( <i>Enzyme Linked Immunosorbent Assay</i> ) .....	31
D. Kerangka Teori.....	40
E. Kerangka Konsep .....	41
F. Definisi Operasional .....	42
<b>BAB III METODE PENELITIAN .....</b>	<b>40</b>
A. Jenis Penelitian.....	40
B. Lokasi dan Waktu Penelitian .....	40
C. Populasi dan Sampel Penelitian .....	40
D. Kriteria Sampel .....	41
E. Instrumen Penelitian .....	41
F. Prosedur Kerja .....	42

G. Etika Penelitian .....	44
H. Pengumpulan dan Analisis Data.....	44
J. Alur Kerja Penelitian .....	45
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>46</b>
A. Hasil Penelitian .....	46
B. Pembahasan.....	48
<b>BAB V PENUTUP.....</b>	<b>51</b>
A. Kesimpulan .....	51
B. Saran .....	51
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>52</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>56</b>

## ABSTRAK

**Dita Serfina Palelu, BID119034. “Analisis Kadar *Tumor Necrosis Faktor Alfa* (TNF- $\alpha$ ) pada Pasien Hepatitis B Dengan Metode ELISA (*Enzim Immunosorbent Assay*). Dibimbing oleh Nurfitri Arfani dan Ayusti Dirga.**

Hepatitis B adalah penyakit infeksi hati yang disebabkan oleh virus hepatitis B. Penyakit ini dapat menimbulkan komplikasi seperti sirosis dan kanker hati. Pada saat terjadi inflamasi sitokin yang ada dalam tubuh akan merespon atau mengenali jenis patogen berupa virus yang masuk ke dalam tubuh. *Tumor Necrosis Faktor Alfa* (TNF- $\alpha$ ) adalah sitokin yang disekresikan dari jaringan tubuh ketika terjadi infeksi akut atau kronik yang merupakan sitokin proinflamasi. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis kadar TNF- $\alpha$  pada pasien Hepatitis B. Sampel yang digunakan yaitu sampel Serum pada pasien Hepatitis B sebanyak 10 sampel yang disesuaikan dengan kriteria inklusi dengan menggunakan metode ELISA (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*). Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar TNF- $\alpha$  tertinggi yaitu sebanyak 35,4 ng/L dan kadar TNF- $\alpha$  terendah yaitu sebanyak 0,07 ng/L. Pasien Hepatitis B dengan kadar TNF- $\alpha$  normal terdapat 4 pasien dengan persentase sebanyak 40%, sedangkan dengan kadar TNF- $\alpha$  tinggi terdapat 6 pasien dengan persentase 60%. Meningkatnya kadar TNF- $\alpha$  ini menunjukkan adanya respon imun yang sangat aktif terhadap infeksi maupun inflamasi.

**Kata kunci:** Hepatitis B, Serum, Kadar TNF- $\alpha$ , ELISA

## ABSTRACT

**Dita Serfina Palelu, BID119034. "Analysis of Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF- $\alpha$ ) Levels in Hepatitis B Patients Using the ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) Method." Supervised by Nurfitri Arfani and Ayusti Dirga.**

Hepatitis B is an infectious liver disease caused by the Hepatitis B virus. The disease can lead to complications such as cirrhosis and liver cancer. During an inflammatory response, cytokines within the body will respond to or recognize the type of pathogen, such as a virus, that enters the body. Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF- $\alpha$ ) is a pro-inflammatory cytokine secreted from body tissues during acute or chronic infection. This study aimed to analyze the TNF- $\alpha$  levels in Hepatitis B patients. The sample used consisted serum from 10 Hepatitis B patients, selected according to inclusion criteria, and analyzed using the ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) method. The research findings indicated that the highest TNF- $\alpha$  level was 35.4 ng/L and the lowest TNF- $\alpha$  level was 0.07 ng/L. Regarding Hepatitis B patients, 4 patients (40%) had normal TNF- $\alpha$  levels, while 6 patients (60%) had high TNF- $\alpha$  levels. This elevated TNF- $\alpha$  level suggests a highly active immune response to both infection and inflammation.

**Keywords:** Hepatitis B, Serum, TNF- $\alpha$  Level, ELISA.



## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Prevalensi Hepatitis B.....	14
Gambar 2.2 Alat ELISA.....	30
Gambar 2.3 Mekanisme ELISA <i>Direct</i> .....	32
Gambar 2.4 Mekanisme ELISA <i>Indirect</i> .....	33
Gambar 2.5 Prinsip Kerja ELISA <i>Sandwich</i> .....	35
Gambar 2.6 Kerangka Teori.....	37
Gambar 2.7 Kerangka Konsep.....	38

## **DAFTAR TABEL**

Tabel 4.1 Karakteristik Berdasarkan Umur.....	46
Tabel 4.2 Karakteristik Berdasarkan Jenis Kelamin.....	47
Tabel 4.3 Karakteristik Hasil Kadar TNF- $\alpha$ Responden Hepatitis B.....	47

## DAFTAR SINGKATAN

ALT	: <i>Alanine Transferase</i>
cccDNA	: <i>covalently closed circular DNA</i>
cIAPs	: <i>cellular inhibitor of apoptosis protein</i>
DNA	: <i>Deoxyribonucleic Acid</i>
ELISA	: <i>Enzyme Linked Immunosorbent Assay</i>
HBeAg	: <i>Hepatitis B Envelope Antigen</i>
HBsAg	: <i>Hepatitis B Surface Antigen</i>
HBV	: <i>Hepatitis B virus</i>
HCC	: <i>hepatoselular karsinoma</i>
LOQ	: <i>Limit Of Quantification</i>
TNF- $\alpha$	: <i>Tumor Necrosis Faktor Alfa</i>
TNFR1	: <i>TNF receptor 1</i>
TNFR2	: <i>TNF receptor 2</i>
WHO	: <i>World Health Organization</i>

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **A. Latar Belakang**

Hepatitis adalah penyakit yang disebabkan oleh beberapa jenis virus yang menyerang dan menyebabkan peradangan serta merusak sel-sel pada organ hati manusia (Munthe dkk., 2022). Pada umumnya semua tipe penyakit hepatitis memiliki gejala yang sama yaitu timbul rasa nyeri pada bagian perut disertai dengan lemas, mual, muntah, dan hilangnya nafsu makan. Dalam beberapa kasus dapat ditemukan pasien yang mengalami gejala seperti penyakit flu, kulit dan mata terlihat kuning (Nurwanda, 2022).

Hepatitis dikategorikan dalam beberapa golongan, diantaranya hepatitis A,B,C,D dan E. Hepatitis dibagi menjadi 2 yaitu hepatitis akut yang berlangsung kurang dari 6 bulan ditularkan melalui *fecal oral* lewat makanan dan hepatitis kronis yang berlangsung lebih dari 6 bulan ditularkan lewat cairan *parenrral*, seksual, dan plasenta. Hepatitis akut terdiri dari virus hepatitis A dan virus hepatitis E, sedangkan hepatitis kronis terdiri dari virus hepatitis B dan virus hepatitis C. Di Indonesia penyakit Hepatitis yang paling banyak di derita adalah hepatitis A, B dan hepatitis C (Darsin dan Sesunan, 2019).

Hepatitis A dapat menular melalui feses (anus) dan mulut serta makanan yang terkontaminasi dari lingkungan atau limbah. Hepatitis B dapat menular melalui cairan-cairan tubuh seperti air liur, darah, vagina, dan alat kelamin. Hepatitis C dapat menular melalui darah, seperti transfusi darah. Hal ini dapat menyebabkan terjadinya hepatitis C kronis. Penyakit hepatitis D hanya terjadi pada penderita penyakit hepatitis B, namun dapat menimbulkan gejala yang

lebih parah. Hepatitis E menular melalui makanan dan minuman yang terkontaminasi feses (Feliansyah dan Purwanto, 2024).

Hepatitis B merupakan penyakit yang disebabkan oleh virus Hepatitis B yang merusak hati dengan masa inkubasi 14-160 hari. Penyebaran penyakit melalui suntikan yang tidak aman, transfusi darah, proses persalinan dan melalui hubungan seksual. Dengan melihat masa inkubasi diatas maka pemberian imunisasi aktif diberikan pada waktu kurang dari 7 hari. Resiko infeksi lebih besar terjadi awal kehidupan dibandingkan dengan infeksi pada usia dewasa. Infeksi pada masa bayi mempunyai resiko untuk menjadi *carrier cronis* sebesar 95% *chiroisis* hepatitis, kanker hati dan menimbulkan kematian (Sinaga dkk., 2018).

Menurut *World Health Organization* (WHO), diperkirakan sekitar 240 juta orang di dunia memiliki infeksi HBV kronis dan 686.000 orang meninggal setiap tahunnya akibat komplikasi hepatitis B, yaitu sirosis dan kanker hati (Annisa, 2019). Hasil Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) biomedis tahun 2007 menunjukkan prevalensi Hepatitis B surface antigen (HBsAg) positif di Indonesia sebesar 9,4%, yang berarti diantara 10 penduduk di Indonesia, terdapat seorang penderita Hepatitis B (Bastiangga dan Hapsari, 2019). Secara global, pada tahun 2017 diperkirakan 257 juta orang hidup dengan infeksi virus Hepatitis B kronis, dan 71 juta orang dengan infeksi virus Hepatitis C kronis. Empat belas juta orang di Eropa terinfeksi virus hepatitis B dan sembilan juta orang terinfeksi virus hepatitis C, di Asia dari 346 juta penduduk di Asia,

diketahui sebanyak 8%-10% terinfeksi virus Hepatitis B dan 50% disebabkan oleh penularan virus dari ibu ke bayi (Sari dkk., 2019).

Prevalensi di Indonesia Hepatitis menurut diagnosis dokter sebesar 0.39% insiden atau kurang lebih 1.017.290 jiwa menderita hepatitis baik pada laki-laki maupun perempuan (Surmiasih dkk., 2020). Dan Indonesia menjadi negara dengan penderita Hepatitis B ketiga terbanyak di dunia setelah China dan India dengan jumlah penderita 13 juta orang, sementara di Ibukota diperkirakan satu dari 20 penduduk menderita penyakit Hepatitis B (Sanatang dkk., 2022). Hepatitis dapat disebabkan oleh berbagai faktor seperti infeksi virus, zat beracun misalnya (alkohol, obat-obatan tertentu), dan penyakit autoimun (Apriadi, 2021).

Sulawesi Selatan merupakan salah satu provinsi yang telah melaksanakan Program deteksi dini hepatitis B. Tahun 2017 jumlah ibu hamil yang di screening hepatitis B sebanyak 41,67 % dengan hasil HBsAg positif sebanyak 3,01 %. Pada tahun 2019 jumlah ibu hamil yang telah di deteksi dini hepatitis B di kota Makassar sebanyak 15.530 orang dengan hasil HBsAg Reaktif sebanyak 335 orang (2,15%) (Nurhidayati dkk., 2019).

Virus Hepatitis B telah menginfeksi 240 juta orang secara kronis dan 686.000 orang meninggal setiap tahun dari infeksi virus Hepatitis B. Infeksi virus ini sangat berbahaya karena dapat menyebabkan komplikasi kronis seperti sirosis hati dan kanker hati (Fauziah dkk., 2021). Cara penularan HBV bisa melalui transfusi darah yang terkontaminasi HBV dan mereka yang sering mendapat hemodialisis. Selain itu Virus ini juga dapat masuk kedalam

tubuh melalui luka/lecet pada kulit dan selaput lendir, misalnya tertusuk jarum/luka benda tajam, menindik, telinga, pembuatan tattoo, pengobatan tusuk jarum (akupunktur), kebiasaan menyuntik diri sendiri, dan menggunakan jarum suntik yang kotor/kurang steril. Penularan dapat juga terjadi melalui penggunaan alat cukur bersama, sirkumsisi, dan kontak seksual dengan penderita HBV. Penularan dapat melalui saliva/air ludah yaitu berciuman dengan penderita hepatitis B dan dapat juga dengan jalan tukar pakai sikat gigi. Hal ini kemungkinan disebabkan selaput lendir tubuh yang melapisinya terjadi diskontinuitas sehingga virus hepatitis B mudah menembusnya. Penularan infeksi HBV dari seorang ibu pengidap HBV kepada bayinya sebelum persalinan (infeksi perinatal) juga dapat terjadi (Amtarina dkk., 2017).

Tingginya angka infeksi hepatitis B dapat dikaitkan dengan rendahnya angka keberhasilan terapi pasien hepatitis B. Hasil pengobatan hepatitis B yang hingga waktu ini belum optimal menyebabkan sebagian kasus hepatitis B berlanjut ke sirosis hati dan kanker hati, walaupun sebagian besar kasus hepatitis B akan sembuh (Trisnaningtyas dkk., 2017). Salah satu upaya dalam mencegah terjadinya hepatitis B adalah memberikan edukasi terkait penyebab, gejala klinis, cara penularan, dan layanan kesehatan seperti pemeriksaan laboratorium, perawatan, pengobatan, dan vaksinasi yang diberikan pemerintah bagi masyarakat. Kegiatan edukasi atau penyuluhan tersebut perlu dilaksanakan pada seluruh kelompok masyarakat, khususnya kelompok beresiko tinggi (Naully dan Nursidika, 2019).

Seorang yang mengalami Hepatitis B merupakan seseorang yang terjangkit virus yang aktif dalam organ hati. Ketika infeksi terjadi, sistem kekebalan tubuh akan mengenali agen penyebab penyakit seperti bakteri patogen atau virus, yang akan memicu respons tubuh termasuk peningkatan seluler dan munculnya respons peradangan yang ditandai dengan pelepasan *Tumor Necrosis Factor Alfa* (TNF- $\alpha$ )(Darmo dkk., 2023)

*Tumor Necrosis Factor Alfa* (TNF- $\alpha$ ) merupakan sitokin yang memiliki peran ganda pada proses inflamasi hati. Pada kondisi hepatitis B kronis, terjadi produksi TNF- $\alpha$  berlebih yang mengakibatkan peradangan dan kematian sel serta meningkatnya perkembangan jaringan ikat hati. Apabila hal ini terjadi terus-menerus, sel-sel hati normal akan rusak dan digantikan oleh jaringan ikat. Kondisi inilah yang menyebabkan terjadinya sirosis hati (Putri dkk., 2020).

Respon inflamasi fase akut adalah reaksi sistemik dimana konsentrasi beberapa protein plasma mengalami peningkatan atau penurunan dalam merespon inflamasi. Konsentrasi plasma protein fase akut sebagian besar bergantung pada sintesis protein di hati, dan perubahan dalam produksinya dipengaruhi oleh sitokin-sitokin proinflamasi seperti IL-1, IL-6 dan TNF- $\alpha$  (Shita, 2015).

TNF- $\alpha$  yang diproduksi oleh makrofag, monosit, neutrofil, sel T dan sel NK setelah stimulasi. Oleh karena itu, TNF- $\alpha$  peran sebagai perantara utama respon imun seluler dan peradangan, dan dapat memainkan peran penting dalam pembersihan virus hepatitis B (Lieswan, 2021).

Menurut penelitian Lieswan (2021), melaporkan bahwa TNF- $\alpha$  menjadi peran penting dalam pembersihan virus hepatitis B, mampu mempercepat penghancuran mRNA HBV dan menghambat replikasi HBV.

ELISA (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*) merupakan salah satu dari teknik imunologi yang bertujuan untuk mengetahui atau mengukur kadar dari aktivitas protein dan status reaksi imun dari reaksi individu, Metode ELISA digunakan untuk mendeteksi keberadaan antigen ataupun antibodi melalui perubahan warna yang diperoleh dengan menggunakan konjugat terkait enzim dan substrat enzim (Ayu dkk., 2023).

Berdasarkan latar belakang diatas maka peneliti tertarik untuk melakukan penelitian tentang Analisis kadar *Tumor Necrosis Factor-Alfa* (TNF- $\alpha$ ) pada pasien hepatitis B dengan Menggunakan Metode ELISA.

## **B. Rumusan Masalah**

Adapun rumusan masalah pada penelitian ini adalah “Bagaimana kadar TNF- $\alpha$  pada pasien hepatitis B” ?

## **C. Tujuan Penelitian**

Tujuan penelitian ini adalah untuk menganalisis hubungan kadar TNF- $\alpha$  pada pasien hepatitis B menggunakan metode ELISA

## **D. Manfaat Penelitian**

### 1. Manfaat Teoritis

Penelitian ini diharapkan dapat menjadi sumber pengetahuan dan referensi baru bagi peneliti selanjutnya serta memberikan informasi dibidang biologi Molekuler.

## 2. Manfaat Praktisi

- a. Sebagai sarana bagi peneliti selanjutnya untuk menambah wawasan dan pengalaman dalam berbagi ilmu yang telah didapatkan selama melakukan proses penelitian tentang Analisis kadar *Tumor Necrosis Factor Alfa* (TNF- $\alpha$ ) pada pasien hepatitis B dengan menggunakan Metode ELISA dan memberikan pemahaman terhadap masyarakat luar tentang pentingnya mencegah penyakit hepatitis B.
- b. Sebagai tambahan ilmu pengetahuan dan sebagai tambahan pengalaman penulis dalam mengaplikasikan ilmu yang telah didapatkan selama proses perkuliahan khususnya mata kuliah Biologi Molekuler.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **A. Tinjauan Umum Hepatitis B**

##### **1. Definisi Hepatitis**

Hati adalah organ padat terbesar dan mempunyai fungsi yang sangat penting untuk tubuh manusia. Salah satu penyakit yang dapat menyerang organ hati yaitu hepatitis. Hepatitis merupakan penyakit yang menyebabkan peradangan pada hati dan dapat mempengaruhi fungsi hati. Penyakit hepatitis umumnya dianggap sebagai infeksi dari beberapa virus yang berbeda. Menurut Nurwanda, (2022). Virus tersebut adalah Virus Hepatitis A, Virus Hepatitis B, Virus Hepatitis C, Virus Hepatitis D, dan Virus Hepatitis E.

##### a) Hepatitis A

Penyebab penyakit hepatitis A adalah Virus Hepatitis A. Virus Hepatitis A adalah virus RNA beruntai tunggal dan tergolong ke dalam famili *Picornaviridae*. Virus ini dapat menyebabkan infeksi *simtomatik* atau *asimtomatik* pada manusia. Cara utama penyebaran penyakit terjadi secara enterik, biasanya melalui rute fecal-oral, baik melalui kontak dari orang ke orang, makanan, air atau benda yang terkontaminasi kotoran dari seseorang yang terinfeksi. Masa inkubasi virus hepatitis A selama 14 sampai 28 hari, dengan rata-rata sekitar 30 hari. Setelah masa inkubasi selesai akan muncul tanda dan gejala infeksi seperti mual, muntah, diare, urin berwarna gelap, sakit kuning (*jaundice*), demam, sakit kepala,

penurunan berat badan, sakit perut serta hilangnya keinginan untuk merokok dan menggunakan alkohol.

#### b) Hepatitis B

Virus Hepatitis B, virus DNA untai ganda yang termasuk kedalam famili *Hepadnaviridae*, adalah penyebab terjadinya penyakit hepatitis B. Terdapat tiga mode transmisi Virus Hepatitis B. Daerah dengan tingkat endemis tinggi, Virus Hepatitis B ditularkan secara vertikal dari ibu yang terinfeksi ke *neonates*. Penularan secara seksual sering terjadi di daerah endemis rendah. Seseorang dengan jumlah pasangan seksual tinggi, pria yang berhubungan seks dengan pria, dan orang dengan riwayat infeksi menular lainnya memiliki risiko infeksi yang lebih tinggi. Sumber penularan yang lain termasuk transfusi darah yang tidak disaring, pergaulan bebas, penggunaan jarum suntik bekas, dan dialisis ginjal. Masa inkubasi virus Hepatitis B akut terjadi dalam jangka waktu 12 minggu. Seseorang yang telah melewati masa inkubasi akan menampilkan gejala awal berupa anoreksia, malaise, kelelahan dan sakit pada bagian perut atas. Setelah memasuki fase ikterik, gejala akan berkembang menjadi penyakit kuning, urin berwarna gelap dan tinja berwarna pucat.

#### c) Hepatitis C

Penyakit hepatitis C disebabkan oleh adanya infeksi Virus Hepatitis C. Virus RNA ini termasuk dalam golongan famili *Flaviviridae*. Faktor risiko yang paling sering disebut sebagai penyebab sebagian besar penularan Virus Hepatitis C diseluruh dunia adalah penggunaan jarum

suntik yang telah terkontaminasi, proses pemindahan darah, dan transplantasi organ dari pendonor yang terinfeksi. Masa inkubasi Virus Hepatitis C sekitar tujuh hingga delapan minggu dengan gejala awal mirip seperti flu biasa. Sebagian besar pasien (60 hingga 70 persen) yang terinfeksi Virus Hepatitis C hanya mengalami gejala ringan atau bahkan tidak menunjukkan gejala. Adapun gejala yang lebih spesifik dapat ditemukan pada sebagian kecil individu seperti penyakit kuning, urin berwarna gelap, nafsu makan berkurang, badan terasa lelah, tidak nyaman bagian perut serta mual. Diperkirakan bahwa tiga hingga empat juta orang baru terinfeksi HCV setiap tahun dan menyebabkan 350.000 orang meninggal setiap tahun.

#### d) Hepatitis D

Hepatitis D adalah infeksi hati yang disebabkan oleh Virus Hepatitis D. Infeksi terjadi secara eksklusif pada orang yang pernah terjangkit HBV. Proses penularan Virus Hepatitis D mirip dengan Virus Hepatitis B, yaitu melalui paparan perenteral. Setelah masa inkubasi virus Hepatitis D tiga sampai tujuh minggu, akan tampak gejala klinis nonspesifik seperti kelelahan, kehilangan nafsu makan, lesu, dan mual. Seseorang yang terinfeksi virus Hepatitis B kronis dapat berkembang menjadi superinfeksi dengan virus Hepatitis D akut yang lebih parah dan dapat berubah menjadi penyakit Hepatitis D kronis yang pada akhirnya menyebabkan kerusakan hati seumur hidup hingga kematian.

#### e) Hepatitis E

Virus Hepatitis E, penyebab penyakit Hepatitis E, adalah virus RNA beruntai tunggal yang merupakan satu-satunya anggota dalam famili *Hepeviridae* dan genus *Hepevirus*. Seperti HAV, penularan Virus Hepatitis E terjadi jika seseorang mengkonsumsi air atau makanan yang terkontaminasi tinja. Di Asia Tenggara, wabah ini terjadi pada musim hujan ketika banjir mencemari persediaan air minum. Penularan juga terjadi secara vertikal dari wanita hamil ke janin yang belum lahir. Masa inkubasi virus Hepatitis E antara 15 sampai 60 hari. Seseorang yang terinfeksi virus Hepatitis E akan timbul gejala tidak spesifik seperti nyeri pada perut bagian kanan atas, penyakit kuning, kehilangan nafsu makan, rasa lelah, mual dan muntah. Kasus yang dialami oleh anak-anak yang terinfeksi virus hepatitis ini jarang menunjukkan gejala dibandingkan yang terjadi pada orang dewasa. Diperkirakan terdapat 20 juta orang yang terinfeksi virus hepatitis E secara global, dan telah terjadi sekitar 44.000 kematian akibat infeksi virus hepatitis E.

### **2. Epidemiologi Hepatitis B**

Hepatitis B ditemukan pertama kali oleh Blumberg dan kawan-kawan tahun 1965, waktu itu dikenal sebagai Australian Antigen. Individu yang terinfeksi oleh virus Hepatitis B, dengan menggunakan mikroskop elektron, dapat dilihat adanya tiga partikel yang berbeda dalam darah penderita, yaitu partikel berbentuk bulat dengan diameter 20-22nm, dan ketiga adalah

partikel dengan diameter 42 nm yang mengandung asam nukleat (Yulia, 2019).

Hepatitis B adalah penyakit infeksi virus yang ditularkan melalui darah dimana virus ini adalah yang paling menular dan banyak dibagian dunia, prevalensinya sangat tinggi (Geni dan Yahya, 2022). Hepatitis kurang lebih 400 juta orang di dunia terinfeksi oleh HBV, dan sekitar 170 juta orang bermukim di Asia pasifik. Daerah endemik infeksi adalah China, dimana sekitar 93 juta orang terinfeksi 3, Indonesia merupakan peringkat ketiga setelah China dan India, dengan prevalensi 5-17% (Yulia, 2019). Virus Hepatitis B telah menginfeksi 240 juta orang secara kronis dan 686.000 orang meninggal setiap tahun dari infeksi virus Hepatitis B. Infeksi virus Hepatitis B sangat berbahaya karena dapat menyebabkan komplikasi kronis seperti sirosis hati dan kanker hati (Fauziah dkk., 2021).

Penyakit ini menyerang semua umur, gender dan ras di seluruh dunia. Hepatitis B dapat menyerang dengan atau tanpa gejala hepatitis. Sekitar 5% penduduk dunia mengidap hepatitis B tanpa gejala. Namun, hepatitis B dapat dicegah dengan memberikan imunisasi sedini mungkin setelah lahir. Pemberian imunisasi hepatitis B pada bayi baru lahir harus berdasarkan apakah ibu mengandung virus hepatitis B aktif atau tidak pada saat melahirkan (Rumini dkk., 2018). Hepatitis B merupakan infeksi virus yang menyerang hati dan dapat menyebabkan penyakit akut maupun kronik dan secara potensial merupakan infeksi hati yang mengancam nyawa disebabkan oleh virus Hepatitis B (Geni dan Yahya, 2022).

Virus hepatitis B adalah suatu virus DNA (*deoxyribonucleic acid*) yang tergolong dalam famili *hepadnavirus*. HBV juga merupakan virus terkecil yang diketahui menginfeksi manusia, dengan ukuran sekitar 3200bp, berbentuk sirkular, dan memiliki DNA dengan empat set struktur multipartikel virus yang kompleks. Virus ini dapat menggunakan keempat gen ini, yaitu S (*surface gen*), C (*core gene*), P (*polymerase gene*), dan X (*x gene*), untuk mengkode banyak protein sekaligus (Annisa, 2019).

Virus hepatitis B menempatkan *covalently closed circular* DNA (cccDNA) sebagai kromosom miniatur dalam nukleus inang dan bergantung pada strategi retroviral pada *reverse transcription* dari RNA ke *negative strand* DNA (Annisa, 2019).

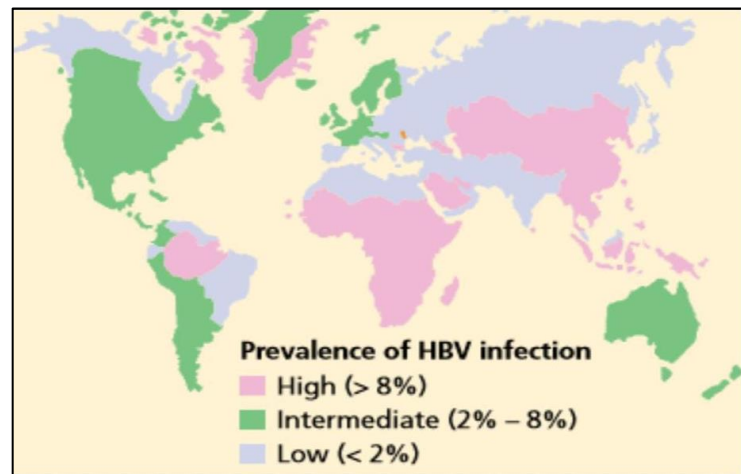
Virus hepatitis B dibungkus oleh amplop lipid di bagian luar dan bagian dalam nukleokapsid berbentuk ikosahedral yang tersusun oleh protein. Nukleokapsid membungkus DNA virus dan DNA polymerase yang memiliki aktivitas *reverse transcriptase*. Partikel pleomorfik filamentosa dan sferis tanpa inti kapsid tidak infeksius, mengandung bagian permukaan virion yang mengandung protein dan lipid. Bagian ini disebut surface antigen (HbsAg). Bagian ini diproduksi sebagai eksem dari daur hidup virus, diproduksi lebih banyak, sehingga dapat dideteksi dalam darah. Virus Hepatitis B berbentuk *partially double stranded*, memiliki DNA berbentuk lingkaran, untaian luar berupa lingkaran penuh, disebut untaian negatif dan untaian dalam berupa lingkaran tidak lengkap disebut untaian positif. Untaian luar terdiri dari sekitar 3200 nukleotida yang berfungsi sebagai penyandi protein,

sedangkan untai dalam berfungsi saat replikasi VHB. Tiga daerah penyandi regio luar, yaitu Pre C, Pre S1, Pre S2. Empat daerah penyandi *open reading frames* (ORF) dapat ditemukan pada untai luar DNA, yaitu ORF S yang menyandi selubung VHB (HBsAg), ORF C yang menyandi HBcAg dan HBeAg, ORF P yang menyandi enzim polimerase DNA dan ORF X yang menyandi HBsAg. Protein kecil HBsAg disandi oleh gen S regio S, terdiri dari 226 asam amino (aa). Protein ini menyusun 85% selubung virus. HBsAg memiliki determinan a (asam amino 124-147), bersifat antigenin dan memiliki derajat kesamaan (homologi) tinggi untuk berbagai isolat VHB di seluruh dunia, sehingga bermanfaat untuk diagnosis dan pembuatan vaksin. Determinan a memiliki struktur lengkung ganda yang dipertahankan oleh asam amino 121 dan 149. Perubahan asam amino determinan a akan mengubah konformasi lengkung ganda ini dengan akibat perubahan antigenesitas HBsAg, sehingga antibodi yang timbul setelah vaksinasi atau setelah sakit tidak mampu mengikat antigen ini. Protein X yang terdapat pada HBV ternyata berpotensi untuk menginduksi kejadian *hepatocellular carcinoma* (HCC). Protein HBx memicu pertumbuhan sel secara progresif, perbanyak protein HBx berperan pada transkripsi methyl transferase, sehingga terjadi hipermetilasi dari DNA, dan merangsang gen tumor. Disamping itu, HBV yang mengalami mutasi pada promoter Pre C berpotensi juga untuk terjadinya HCC. Infeksi Virus Hepatitis B Hepatitis B adalah suatu sindroma klinis atau patologis yang ditandai oleh berbagai tingkat peradangan dan nekrosis pada hepar, disebabkan oleh Virus

Hepatitis B (VHB), dimana infeksi dapat berlangsung akut atau kronik, terus menerus tanpa penyembuhan paling sedikit 6 bulan (Yulia, 2019).

Epidemiologi penularan infeksi virus hepatitis B di bagi dalam 2 cara yaitu pertama, penularan vertikal yaitu penularan infeksi virus hepatitis B dari ibu yang positif HBsAg kepada anak yang dilahirkan yang masa perinatal. Kedua penularan secara horizontal yaitu penularan dari satu individu ke individu lainnya. Selain hubungan seksual tidak aman, transmisi horizontal juga bisa terjadi lewat penggunaan jarum suntik bekas penderita hepatitis B, transfusi darah yang terkontaminasi virus hepatitis B, tato, penggunaan alat cukur, sikat gigi serta gunting kuku penderita hepatitis B (Irfan dkk., 2019).

Faktor risiko dapat ditemukan baik pada orang yang sakit maupun sehat. Faktor risiko adalah keadaan atau karakteristik yang dapat meningkatkan keadaan sakit atau berkembang menjadi suatu penyakit. Faktor risiko mempunyai sifat antara lain dapat diubah dan tidak dapat diubah, yang bersifat dapat diubah adalah gaya hidup, kebiasaan di tempat kerja, dan lingkungan. Faktor risiko yang tidak dapat diubah adalah usia, jenis kelamin, etnis, genetik dan riwayat keluarga (Triana dkk., 2022).



**Gambar 2.1 Prevalensi Hepatitis B**

Pada Gambar 2.1 diatas, tampak peta penyebaran infeksi hepatitis B di dunia, Indonesia termasuk pada prevalensi tinggi, yaitu >8% (Yulia, 2019).

### 3. Patogenesis Hepatitis B

Penyebaran dari virus Hepatitis B bisa diakibatkan oleh adanya hubungan langsung atau kontak secara langsung dengan darah maupun cairan tubuh dari penderita penyakit Hepatitis B (*carier*). Apabila kekebalan tubuh/daya tahan tubuh kurang (dalam kondisi rentan) maka akan dengan mudah menaikkan resiko tertular virus Hepatitis B. Sebagian besar penderita penyakit Hepatitis tidak menyadari bahwa telah terinfeksi (Siswanto, 2020).

Infeksi VHB dapat diakhiri bila proses eliminasi berlangsung secara efisien, bila proses tersebut tidak efisien maka terjadi infeksi VHB yang kronik. Ada beberapa vaktor yang menyebabkan VHB menetap yaitu faktor virus itu sendiri dan faktor penjamu (Khasanah, 2017).

Virus Hepatitis B menyerang sel hati. Mekanisme terjadinya hepatitis akut, kronik atau karsinoma hepatoseluler diawali oleh kerusakan sel hepar.

Untuk terjadinya karsinoma hepatoselular belum diketahui secara pasti, dari beberapa penelitian mengungkapkan bahwa faktor penderita (umur, jenis kelamin, faktor genetik, imunologik) serta respon imun seluler terhadap antigen HBV terlibat dalam klirens virus dan bertanggung jawab atas terjadinya karsinoma (Yulia, 2019).

Klasifikasi hepatitis B dibagi menjadi tiga bagian, yaitu hepatitis B kronik persisten, hepatitis B kronik lobular dan hepatitis B kronik aktif. Perbedaannya terletak pada jumlah sel inflamasi dan area hati yang terinfeksi. Semua penyakit ini dapat berkembang menjadi sirosis atau kanker hati primer (Yulia, 2019).

Pengidap hepatitis B dikatakan kronik apabila seseorang mengidap VHB lebih dari 6 bulan tanpa melihat ada atau tidaknya penyakit hepar. Batasan waktu 6 bulan ini karena pada hepatitis B akut 90-95% penderita sudah negatif pemeriksaan Hepatitis B Surface antigen (HBsAg). Semakin muda usia seseorang terserang HBV, semakin besar kemungkinannya untuk menjadi pengidap kronik (Yulia, 2019).

HBV tidak memiliki sifat sitopatik langsung. Patogenesis dan kerusakan hati pada infeksi hepatitis B merupakan hasil dari interaksi antara virus dan sistem kekebalan tubuh inang. Sistem kekebalan akan menyerang HBV dan mengakibatkan kerusakan hati sebagai akibat dari reaksi imunologis saat diaktifkannya limfosit CD4 dan CD8 setelah mengenali berbagai peptida HBV pada permukaan hepatosit. Reaksi kekebalan yang terganggu atau status kekebalan yang relatif toleran akan menimbulkan

terjadinya hepatitis kronik. Kondisi final dari penyakit akibat HBV adalah sirosis. Dengan atau tanpa sirosis, penyakit pasien juga bisa berkembang menjadi *hepatoselular karsinoma* (HCC) (Annisa, 2019)

#### 4. Etiologi Hepatitis B

Virus hepatitis B menyebabkan infeksi *cytopathic non persisten* hepar. Hepatosit yang terinfeksi terus mengeluarkan partikel virus hingga kadarnya tinggi di dalam darah ( $10^{13}/\text{ml}$ ). Virus hepatitis B utuh adalah suatu virus DNA yang berlapis ganda (*double shelled*) dengan diameter 42 nm. Bagian luar dari virus terdiri dari HBsAg sedang bagian dalam adalah nukleokapsid yang terdiri dari HBcAg. Nukleokapsid dari VHB didapat dari kode genetik DNA untai ganda (*double stranden*) dengan panjang 3200 nukleotida. Virus Hepatitis B merupakan virus DNA dan sampai saat ini terdapat 8 genotip VHB yang telah teridentifikasi, yaitu genotip A-H. VHB memiliki 3 jenis morfologi dan mampu mengkode 4 jenis antigen, yaitu HBsAg, HBeAg, HBcAg, dan HBxAg. Virus Hepatitis B yang menginfeksi manusia bisa juga menginfeksi simpanse. Virus dari Hepadnavirus (genom DNA) tidak bisa menginfeksi manusia tetapi bisa menginfeksi jenis unggas seperti bebek, hean pengerat seperti marmut dan tupai tanah (Khasanah, 2017).

#### 5. Replikasi Hepatitis B

Replikasi HBV terutama terjadi di sel hepar, meskipun DNA virus dapat ditemukan pada sel Mononuklear darah perifer. Masuknya virus dimediasi oleh *envelope binding*, yang kemudian dikenal oleh reseptor. Setelah masuk, virion dilepaskan, *nukleokapsid* masuk ke dalam nukleus,

kemudian sintesis DNA sel bergabung dengan DNA virion. Selanjutnya *covalently closed circular DNA* (cccDNA) sebagai template transkripsi mRNA yang dimediasi oleh polimerase host. Replikasi *nukleokapsid* dari protein core, *encapsidated full-length pregenomic RNA* dan polimerase virus terjadi di sitoplasma. Genom DNA disintesis menjadi *reserve transcription* dari pregenomic oleh polimerase virus. Pelepasan kapsid, relaksasi, sirkuler DNA terbuka dapat ditransportasikan ke nukleus menjadi cccDNA dan penambahan template mRNA atau dapat dilepaskan dari sel host melalui proses sitosolik oleh polimerase oleh glikoprotein envelope, menempel ke dalam retikulum endoplasma dan ke badan golgi, selanjutnya melepaskan diri (Yulia, 2019).

HBV juga dapat merusak sel atau mengganggu perkembangan sel, kemudian HBV menghilang dari tubuh, hal ini HBV dapat bersifat sebagai virus sitopatik. Selanjutnya HBV menginfeksi jaringan tanpa menimbulkan respon inflamasi, atau berkembang dalam sel host tanpa merusak sama sekali. Pada infeksi HBV, dapat terjadi peningkatan kadar *Interleukin-8* (IL-8), *Interleukin-10* (IL-10), *Tumour Necrosis Factors- $\alpha$*  (TNF- $\alpha$ ), dan *Interferon- $\gamma$*  (TNF- $\gamma$ ) (Yulia, 2019).

Respon imun non spesifik yang terjadi setelah masuknya HBV adalah timbulnya interferon dan natural killer (NK) dan antibodi yang spesifik terhadap HBV. Pengenalan dan pemusnahan sel yang terinfeksi virus sebelum terjadi replikasi sangat bermanfaat bagi host. Permukaan sel yang terinfeksi HBV mengalami modifikasi, terutama dalam struktur karbohidrat

menyebabkan sel menjadi sel target sel NK. Sel NK mempunyai dua jenis reseptor permukaan, reseptor pertama merupakan killer activating receptors, yang terikat pada karbohidrat dan struktur lainnya yang diekspresikan oleh semua sel. Reseptor yang lainnya adalah *killer inhibitory receptors*, yang mengenali molekul MHC kelas I dan mendominasi signal dari reseptor aktivasi. Oleh karena itu sensitivitas sel target tergantung ekspresi MHC kelas I, sel yang sensitif atau terinfeksi mempunyai MHC kelas I yang rendah, namun sel yang tidak terinfeksi dengan molekul MHC kelas I yang normal akan terlindungi dari sel NK. Produksi IFN- $\gamma$  selama infeksi HBV akan mengaktivasi sel NK dan meregulasi ekspresi MHC pada sel terdekat sehingga menjadi resisten terhadap infeksi virus. Sel NK juga dapat berperan dalam ADCC bila antibodi terhadap protein virus terikat pada sel yang terinfeksi (Yulia, 2019).

## **6. Transmisi Hepatitis B**

Hepatitis B bisa ditularkan melalui kontak menggunakan darah atau cairan tubuh penderita. Secara umum, penularan virus Hepatitis B dibagi menjadi 2, secara vertikal dan horizontal. Penularan vertikal merupakan penularan virus Hepatitis B berdasarkan ibu ke bayinya dalam masa perinatal, sedangkan penularan horizontal terjadi menurut individu yang terinfeksi virus Hepatitis B ke individu sehat lainnya. Penularan horizontal mampu terjadi melalui interaksi seksual tidak aman, tertusuk jarum bekas, pemakaian pisau cukur bersama, atau aktivitas lainnya yang mempunyai

risiko hubungan menggunakan darah atau cairan tubuh (Bastiangga dan Hapsari, 2019).

Virus hepatitis B bisa bertahan diluar tubuh selama 7 hari. Selama periode ini, virus dapat menyebabkan infeksi pada orang yang tidak terproteksi vaksin. Masa periode inkubasi virus hepatitis B adalah 75 hari tapi bisa bervariasi dari 30 sampai 180 hari. Virus bisa terdeteksi dalam waktu 30 sampai 60 hari setelah infeksi dan bisa menetap dan menjadi infeksi kronik hepatitis B (Lieswan, 2021).

Transmisi ibu ke janin dapat terjadi intrauterin, saat persalinan dan setelah persalinan. Resiko transmisi hepatitis b dari ibu dengan HbsAg positif ke janin tanpa adanya imunisasi aktif dan pasif sebesar 90 persen. Resiko ini berkurang secara signifikan dengan adanya vaksinasi dan *profilaksis imunoglobulin* hepatitis B (HBIG) pada bayi baru lahir. Faktor resiko paling penting transmisi ibu ke janin adalah HbeAg positif dan atau HBV DNA ibu yang tinggi (Lieswan, 2021).

Transmisi vertikal (ibu ke anak) adalah rute paling umum penularan HBV. *Mother to child transmission* (MTCT) terjadi dari seorang ibu hamil yang menderita hepatitis B akut atau pengidap persisten HBV menularkan kepada bayi yang dikandungnya atau dilahirkannya. Transmisi vertikal merupakan cara transmisi HBV yang sering didapatkan di seluruh dunia. Infeksi HBV pada bayi didefinisikan sebagai ditemukannya HbsAg atau HBV DNA yang menetap saat usia 6-12 bulan pada bayi yang lahir dari ibu yang terinfeksi HBV. Antibodi terhadap antigen e hepatitis B (anti HBe)

dan antibodi antigen core hepatitis B (anti HBc) dapat melewati barier plasenta dan menghilang saat usia bayi mencapai 12-24 bulan. Sehingga antibodi ini menunjukkan antibodi transplasenta ibu dan tidak menunjukkan status infeksi HBV (Lieswan, 2021).

## 7. Patofisiologi Hepatitis B

Patofisiologi hepatitis B dibagi atas 5 fase, fase pertama adalah imun toleran, ditandai oleh sistem imun menghambat replikasi HBV, dimana HBV DNA, HBeAg, dan HBsAg dilepaskan dan dapat dideteksi dalam serum. Kedua adalah fase imun reaktif, pada fase ini HBeAg positif, kadar *alanine transferase* (ALT) meningkat, Anti HBc IgM mulai diproduksi, HBV DNA, HBeAg dan HBsAg semakin banyak. Fase ketiga adalah replikasi menurun, HBV DNA rendah, HBeAg negatif, tetapi HBsAg masih ada, fase ini dikenal sebagai *inactive carrier state*, dimana berisiko (10-20%) untuk reaktivasi menjadi aktif kembali, fase keempat adalah HBeAg negatif, tetapi pada fase ini, virus yang mengalami mutasi pada *precore*, *regio promoter core* dari genom tetap aktif melakukan replikasi, sehingga komplikasi hepar terus berlanjut. Fase kelima adalah HBsAg negatif, replikasi virus berhenti, tetapi HBV masih berisiko ditularkan, karena berada dalam reaktifase (Yulia, 2019).

## 8. Manifestasi Klinis

Manifestasi klinis infeksi HBV dapat bervariasi pada penyakit akut dan kronis. Pada infeksi HBV akut, manifestasi klinis biasanya berkisar dari hepatitis *anikterik* ke hepatitis *ikterik*, sementara pada fase kronis,

manifestasi berkisar dari keadaan karier *asimptomatik* hingga hepatitis kronis, sirosis, dan karsinoma hepatoseluler. Kegagalan hati fulminan, kemungkinan besar karena *massive immune-mediated lysis* dari hepatosit yang terinfeksi, kasusnya cukup jarang tetapi dapat terjadi pada beberapa kasus (Lieswan, 2021).

Gejala penyakit Hepatitis B yang meliputi mengalami gejala mual muntah dan demam, badan lemas, feses berwarna pucat, mata dan kulit menjadi kekuningan, nyeri perut, berat badan turun, urine menjadi gelap, kehilangan nafsu makan. Beberapa tes yang dapat dilakukan untuk mendiagnosa penyakit hepatitis yaitu tes darah yang bertujuan untuk mendeteksi virus yang terdapat dalam darah dan untuk mendeteksi kondisi antibodi tubuh yang dapat menyebabkan hepatitis (Saptaningtyas dkk., 2022).

## 9. Pemeriksaan Hepatitis B

Adapun menurut Yulia (2019), pemeriksaan imunologi terhadap HBV sangat diperlukan, diantaranya:

### a. Pemeriksaan Hepatitis B Surface Antigen (HBsAg)

Pemeriksaan HBsAg bermanfaat untuk menetapkan hepatitis B akut, timbul dalam darah enam minggu setelah infeksi dan menghilang setelah tiga bulan. Bila persisten lebih dari enam bulan, maka didefinisikan sebagai pembawa (*carier*). HbsAg ditemukan pada hepatitis B akut dini sebelum timbul gejala klinik atau pada akhir masa tunas.

b. Pemeriksaan Antibodi Hepatitis B Surface (Anti-HBs)

Anti Hbs merupakan antibodi terhadap HBsAg, jika positif/reaktif, menunjukkan pada fase konvalensi Hepatitis B, pada penderita hepatitis B yang sudah lama, atau sesudah vaksinasi HBV. Jenis Hepatitis B subklinis dapat diketahui dengan Anti HBs dengan atau tanpa Anti HBc pada orang yang menyangkal adanya riwayat hepatitis akut. HBs Ag yang negatif tetapi anti HBs positif, belum dapat dikatakan seseorang tersebut bebas dari HBV, sebab adanya superinfeksi dengan HBV mutan.

c. Pemeriksaan Hepatitis B envelope Antigen (HBeAg)

HBeAg timbul bersama atau segera setelah timbulnya HBsAg dan akan menetap lebih lama dibandingkan HBsAg, biasanya lebih dari 10 minggu. Bila kemudian HBeAg menghilang dan terbentuk Anti HBe, berpotensi mempunyai prognosis yang baik.

d. Pemeriksaan antibodi Hepatitis B envelope (Anti-HBe)

Anti HBe terbentuk setelah HBeAg menghilang, biasanya terbentuk Anti HBe ini memberikan kontribusi bahwa hepatitis B membaik, infeksi mereda dan tidak akan menjadi kronis.

e. Pemeriksaan antibodi Hepatitis B core (Anti-HBc), berupa IgM anti HBc

HBV core tidak ditemukan dalam darah, tetapi dapat dideteksi antibodi terhadap HBV core berupa IgM anti HBc, yang muncul segera setelah HBsAg muncul, dan bertahan cukup lama. Anti HBc yang positif tetapi HBsAg negatif, masih menjadi pertanyaan pada transfusi darah,

dimana kondisi tersebut berada pada fase windows period, sehingga beresiko untuk menularkan HBV kepada penerima darah.

f. Hepatitis B *Virus Deoxyribo Nucleic Acid* (HBV- DNA)

Pengukuran kadar HBV DNA dapat dilakukan dengan menggunakan PCR, pengukuran dapat dilakukan secara kualitatif maupun direk kuantitatif, dapat juga menganalisis HBV DNA mutan.

Diagnosis Hepatitis B yang sering digunakan adalah pemeriksaan HBsAg. Ketelitian pemeriksaan HBsAg lebih baik dari pada pemeriksaan HBeAg. Penelitian pada efektifitas obat *penginterferon alfa-2a* menyatakan pemeriksaan oleh HBeAg negatif tetapi pemeriksaan HBsAg masih positif. Pemeriksaan menggunakan HBsAg kit untuk deteksi infeksi virus hepatitis B merupakan standar emas pemeriksaan. Penelitian yang dilakukan pada alat HBsAg kit untuk tes cepat, diketahui sensitifitasnya < 60% dan spesifisitas 97% (Khasanah, 2017).

## 10. Pencegahan Hepatitis B

Pencegahan hepatitis B dapat berupa vaksin hepatitis B pada bayi usia 0-7 hari. Imunisasi Hepatitis B mampu memberikan perlindungan terhadap infeksi Hepatitis B selama lebih dari 20 tahun. Afektifitas virus hepatitis B di dalam tali pusat sama dengan afektifitas virus hepatitis yang ada pada darah ibu yang terinveksi virus hepatitis B, oleh karena itu skrining dapat dilakukan pada calon ibu yang akan hamil guna meminimalisir transmisi dari ibu ke bayi. Upaya untuk mengurangi jumlah virus hepatitis B dari ibu ke bayinya adalah dengan menggunakan

antiviral. Pencegahan yang paling utama adalah meminimalisir faktor resiko serta peningkatan pengetahuan, kesadaran akan terbentuk ketika pengetahuan tentang hepatitis B tinggi. Peran kesehatan masyarakat perlu ditekankan dalam meningkatkan pengetahuan masyarakat mengenai pencegahan infeksi virus hepatitis B serta menghindari faktor resiko dari penyakit tersebut (Khasanah, 2017).

### **11. Faktor Yang Mempengaruhi Hepatitis B**

Menurut Khasanah, (2017). Banyak faktor yang mempengaruhi Hepatitis B :

a. Riwayat transfusi darah

Pertukaran darah antara seorang pendonor dan penerima, dibantu oleh peralatan medis, merupakan proses yang membawa risiko penularan penyakit melalui darah yang terinfeksi.

b. Penggunaan benda tajam yang tidak aman

Risiko penularan virus Hepatitis dapat meningkat pada situasi di mana jarum digunakan secara tidak aman, seperti pada penggunaan obat-obatan terlarang, proses pembuatan tato atau tindik tubuh, berbagi alat cukur, pemeriksaan gigi, tindakan operasi, serta kegiatan lain yang melibatkan penggunaan benda tajam.

c. Hubungan seksual beresiko

Penyebab penyebaran virus Hepatitis B melalui hubungan seksual terjadi ketika sekresi cairan vagina atau preseminal bersentuhan dengan rektum, alat kelamin, atau membran mukosa mulut

pasangannya. Risiko penularan meningkat saat berhubungan seks tanpa menggunakan alat pengaman. Seks anal diketahui memiliki risiko penularan yang lebih tinggi dibandingkan dengan hubungan seksual biasa atau oral.

d. Penggunaan peralatan rumah

Virus Hepatitis B bisa ditemukan dalam tubuh manusia, meskipun jumlahnya kecil, namun risiko infeksi tetap ada. Virus Hepatitis bisa bertahan hidup lebih lama di benda mati, sehingga mempermudah penularannya.

e. Pekerjaan

Penggunaan alat tajam yang telah terkontaminasi menjadi salah satu faktor risiko penularan virus Hepatitis B. Beberapa profesi, seperti petugas sterilisasi peralatan medis dan ahli bedah, membutuhkan penggunaan alat tajam dalam pekerjaan mereka. Tingkat kejadian terkena jarum suntik pada tenaga medis sangatlah tinggi, sehingga tindakan pencegahan khusus seperti vaksinasi Hepatitis B menjadi sangat penting untuk melindungi mereka.

## **B. Tinjauan Umum Tumor Necrosis Faktor-Alfa (TNF- $\alpha$ )**

### **1. Pengertian TNF- $\alpha$ (*Tumor Necrosis Factor Alfa*)**

*Tumor Necrosis Factor Alfa* (TNF- $\alpha$ ) merupakan sitokin berperan dalam semua proses imunitas dan inflamasi. Protein ini dapat diproduksi oleh sel mast, monosit, sel T, neutrofil, keratinosit, makrofag, dan fibroblas. TNF- $\alpha$  dapat diamati dalam berbagai tipe, yaitu transmembran dimana jenis

ini mampu memodulasi inflamasi secara lokal dengan cara komunikasi antara sel (Prabuningrat dan Hunaifi, 2022). TNF disebut TNF- $\alpha$  atas dasar historis dan untuk membedakannya dari TNF- $\beta$  atau limfotoksin. Sumber utama TNF- $\alpha$  ialah fagosit mononuklear dan sel T yang diaktifkan antigen, sel NK, dan sel mast (Supit dkk., 2015).

TNF- $\alpha$  mempunyai beberapa fungsi dalam proses inflamasi, yaitu dapat meningkatkan peran protrombotik dan merangsang molekul adhesi dari sel leukosit serta menginduksi sel endotel, berperan dalam mengatur aktivitas makrofag dan respon imun dalam jaringan dengan merangsang faktor pertumbuhan dan sitokin lain, berfungsi sebagai regulator dari hematopoetik serta komitogen untuk sel T dan sel B serta aktivitas sel neutrofil dan makrofag. TNF- $\alpha$  juga memiliki fungsi tambahan yang menguntungkan termasuk peranannya dalam respon imun terhadap bakteri, virus, jamur, dan invasi parasit (Susantiningsih dan Mustofa, 2018).

Penemuan secara *in vitro* menunjukkan bahwa TNF- $\alpha$  mempromosikan keadaan koagulasi dengan meningkatkan pelepasan reseptor protein C dan menghambat produksi trombomodulin, menginduksi aktivasi komplemen dan merangsang jaringan oleh sel endotel dan fagosit mononuklear. Faktor koagulasi dapat mempertahankan aktivitas proinflamasi/ prokoagulan ini dengan meningkatkan produksi sitokin seperti TNF- $\alpha$  melalui interaksi dengan reseptor yang diaktifkan protease pada sel inflamasi (Saha dan Smith, 2018).

TNF memiliki peran dalam inflamasi dan regulasi imun serta diferensiasi dan proliferasi sel. TNF tidak dapat dideteksi pada sel yang sehat tetapi pada cedera jaringan dan benda asing seperti bakteri, parasit, virus, kompleks imun dan sel kanker. Tidak adanya atau terhambatnya TNF merupakan kegagalan untuk mengendalikan infeksi. TNF merangsang netrofil dan monosit pada tempat yang terinfeksi dan mengaktifkan sel tersebut untuk eliminasi patogen. TNF juga berperan sebagai pirogen pada hipotalamus dan meningkatkan prostaglandin yang menimbulkan demam. Bersama IL-1 dan IL-6, TNF menginduksi produksi protein reaktan fase akut seperti protein serum amiloid dan fibrinogen hati. Pada konsentrasi rendah efek pro inflamasi ini akan berhasil mengeliminasi patogen dengan kerusakan kolateral minimal. Pada konsentrasi tinggi TNF berperan sebagai hormon dan mempunyai efek sistemik yang dapat menyebabkan kerusakan fatal (Lieswan, 2021).

Paparan TNF yang lama menyebabkan *cachexia*, sel otot dan lemak mengecil karena berkurangnya nafsu makan dan menurunnya lipase lipoprotein enzim yang diperlukan untuk memecah lipoprotein untuk penyerapan jaringan (Lieswan, 2021).

TNF dilepaskan oleh monosit, sel T, sel NK, mast sel, sel B dan sel kupffer di hati. Produksi TNF di bantu oleh IFN gamma, yang di lepaskan oleh sel NK dan sel T. Jalur sinyal TNF adalah kunci mengembangkan intervensi terapeutik yang dapat menghambat sistem imun yang over aktif (Lieswan, 2021).

Reseptor TNF yaitu TNF receptor 1 (TNFR1) dan TNF receptor 2 (TNFR2) terdapat pada sebagian besar sel tetapi berbeda ekspresinya, afinitas pengikatan, struktur sitoplasma dan mekanisme sinyal. TNFR1 diekspresikan pada hampir semua sel kecuali eritrosit sedangkan TNFR2 diekspresikan pada sel endotel dan hematopoetik (Lieswan, 2021).

TNF dapat menginduksi ekspresi gen dengan mengaktifkan faktor transkripsi dan meningkatkan produksi mediator inflamasi dan *survival protein*, atau menginduksi kematian sel tergantung metabolik sel. Ketika TNF terikat pada TNFR1 pada permukaan sel, banyak protein adaptor direkrut untuk membentuk kompleks sinyal (Lieswan, 2021).

Konstituen dari kompleks sinyal ini menentukan hasil dinteraksi ligan/reseptor. Jika *cellular inhibitor of apoptosis protein* (cIAPs) direkrut pada kompleks tersebut maka faktor transkripsi NFkB diaktivasi menyebabkan produksi sitokin-sitokin dan meningkatkan sel *survival protein*. Bila tidak ada cIAPs, kematian sel yang terprogram dengan apoptosis, di mediasi oleh *Caspase-8* atau *necroptosis* MLKL (Lieswan, 2021).

## **2. TNF Alfa dan Hepatitis B**

TNF penting untuk eliminasi virus. Kadar TNF rendah dihubungkan dengan respon sel T lemah dan kegagalan eliminasi HBV. Terdapat beberapa jalur TNF dapat menghambat aktivitas virus. TNF menurunkan masuknya virus ke dalam hepatosit dan menurunkan replikasi virus serta

mengganggu nukleokapsid dengan cara menyebabkan kerusakan cccDNA melalui aktivasi APO-BEC3 *deaminase* (Lieswan, 2021).

Sinyal TNF dapat mengatur kadar *FADD-like IL-1beta-converting enzyme inhibitory protein* (c-FLIP). Pada penelitian *in vitro* menyatakan TNF tidak hanya mengatur kadar c-FLIP tetapi mengubah menjadi p22-FLIP. Akumulasi dari protein ini yang akan menghambat transkripsi dan replikasi HBV (Lieswan, 2021)

### C. Tinjauan Umum ELISA (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*)

ELISA (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*) diperkenalkan pada tahun 1971 oleh Perlmann dan Engvall untuk menganalisis interaksi antigen dengan antibodi didalam sampel tertentu dengan menggunakan enzim sebagai tanda pelaporan (reporter label). Umumnya ELISA dibedakan menjadi dua jenis, yaitu menentukan kadar (*competitive assay*) yang menggunakan konjugat antigen enzim atau konjugat antibodi enzim, dan bukan menentukan kadar (*non competitive assay*) yang menggunakan dua antibodi (Yunianti dkk., 2016).

ELISA (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*) adalah uji biokimia analitik sensitif dan spesifik yang digunakan untuk deteksi dan analisis kuantitatif atau kualitatif dari suatu analit tanpa persyaratan peralatan yang canggih atau mahal. Analit dapat berupa zat tertentu baik protein spesifik atau campuran yang lebih kompleks atau lebih dari satu protein misalnya kompleks biomolekuler. Sebagai metodologi ELISA didasarkan pada beberapa kemajuan ilmiah penting seperti produksi antibodi antigen spesifik baik monoklonal maupun poliklonal, Kedua pengembangan teknik *radioimmunoassay* telah

menjadi batu loncatan. Dengan teknik ini antibodi pendeteksi dapat diberi label dengan radioisotop menyediakan cara tidak langsung untuk mengukur protein dengan mengukur radioaktivitas. Sebagai alternatif, quantification tidak langsung dapat dilakukan dengan mengukur sinyal yang dihasilkan saat menggunakan substrat yang sesuai dengan antibodi yang secara kimiawi terkait dengan enzim biologis. Demikian pula, teknologi tag fluoresensi atau bentuk pendaran juga dikenal sebagai label atau probe memungkinkan kuantifikasi tidak langsung dari protein yang secara kimiawi dilampirkan dengan pewarna fluoresen dengan mengukur hasil kuantum fluoresensi dan membandingkannya dengan standar. Secara umum, ELISA memiliki sensitivitas yang baik dengan batasan deteksi atau *Limit Of Quantification* (LOD/LOQ) hingga skala nanogram yang lebih rendah (Amtarina dkk., 2017).

Teknik ELISA ini salah satu uji serologis yang dapat mendeteksi respon humoral yang berupa reaksi antara antigen dan antibodi yang memiliki sensitivitas dan spesivitas yang cukup tinggi dengan menggunakan enzim sebagai penanda reaksi (Buchari, 2019).

Keunggulan metode ELISA adalah memiliki sensitif dan spesivitas yang cukup tinggi, karena ikatan antigen dan antibodi yang spesifik. Teknik ELISA digunakan untuk mendeteksi keberadaan antigen ataupun antibodi melalui perubahan warna yang diperoleh dengan menggunakan konjugat terkait enzim dan substrat enzim. Metode ELISA digunakan untuk mengetahui keberadaan dan konsentrasi molekul dalam cairan biologis, walaupun kadar antigen atau antibodi tersebut sangat rendah. Kekurangan dari teknik ELISA

antara lain hanya menggunakan antibodi monoklonal, yaitu antibodi yang hanya mengenal satu antigen yang spesifik, sehingga biaya relatif mahal, karena antibodi monoklonal lebih mahal dari antibodi poliklonal. Dalam proses pengerjaannya membutuhkan waktu yang cukup lama, dan harganya lebih mahal dibandingkan tes cepat (Ayu dkk., 2023).

Prinsip dari pemeriksaan ELISA ini yaitu adanya reaksi antara antigen dan antibodi, dimana setelah dilakukan penambahan konjugat, yaitu antigen dan antibodi yang telah diberi label enzim dan substrat, yang akan menghasilkan perubahan warna. Hasil perubahan warna ini akan diukur intensitasnya dengan menggunakan panjang gelombang tertentu. Pada pengukuran intensitas biasa digunakan alat pembaca yang biasa disebut spektrofotometer atau ELISA reader (Buchari, 2019).



**Gambar 2.2 Alat ELISA**

Menurut Santosa (2020), Terdapat beberapa jenis-jenis teknik ELISA :

a. Direct ELISA

Teknik ELISA direct adalah yang paling sederhana. Pada Teknik ini biasanya untuk mengukur antigen pada sampel dengan menggunakan antibodi monoklonal yang spesifik. Antigen dari sampel

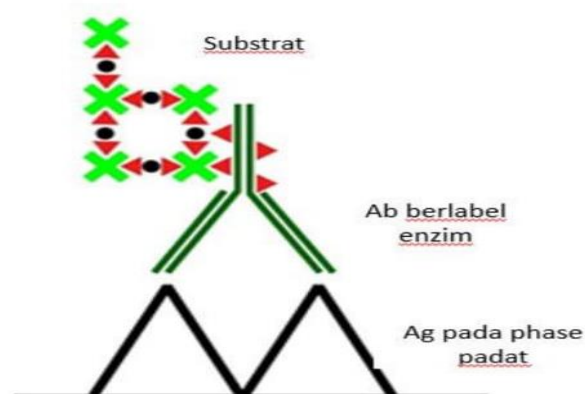
dimasukkan pada mikrotiter lalu dibilas untuk menghilangkan antigen yang tidak menempel pada dinding mikrotiter tersebut. Antibodi yang berlabel enzim ditambahkan sehingga terjadi ikatan kompleks antigen antibodi yang berlabel enzim dan pencucian dilakukan pada tahap ini untuk menghilangkan antibodi yang tidak terikat dengan antigen yang diinginkan. Tahapan akhir sebelum pemberian stop solution adalah dengan menambahkan substrat yang bereaksi dengan enzim yang terdapat pada antibodi sehingga akan menghasilkan presipitat warna yang dapat diukur kadar atau keberadaan antigen yang dicari baik menggunakan kolorimetri dan chemiluminescent.

Beberapa kelemahan ELISA direct antara lain:

- Cukup mahal
- Kurang sensitive (penurunan imunoreaktivitas antibodi)
- Tidak memiliki fleksibilitas enzim

Kelebihan dari ELISA direct antara lain:

- Hanya 1 antibodi sehingga cepat
- Reaksi silang dapat dihindari



### Gambar 2.3 Mekanisme ELISA Direct

#### b. Indirect ELISA

Pada Teknik ELISA Indirect yang dicari adalah antibodi sehingga diperlukan antigen yang spesifik. Antigen spesifik (monoklonal), antibodi yang dicari pada sampel, antibodi sekunder yang berlabel enzim, substrat, dan stop solution adalah mutlak diperlukan untuk Teknik ELISA indirect.

Berikut ini adalah tahapan Teknik ELISA Indirect untuk mengukur antibodi pada sampel :

1. Pada plate microtiter ditambahkan pengenceran standar yang sudah disiapkan dari reagen dan pada plate berikutnya ditambahkan sampel yang akan dicari konsentrasi antibodinya. Enceran standar ini berguna untuk menetapkan kurva sebagai acuan menentukan rumus dalam penentuan kadar sampel
2. Diinkubasi sesuai prosedur yang berfungsi untuk menghasilkan kompleks antigen antibodi secara optimal
3. Dilakukan pencucian untuk menghilangkan antibodi yang tidak terikat pada kompleks tersebut
4. Antibodi pendeteksi yaitu antibodi sekunder yang berlabel enzim ditambahkan sehingga terjadi kompleks ikatan antigen antibodi dengan antibodi yang berlabel enzim
5. Diinkubasi sesuai prosedur, dan dicuci sesuai prosedur dalam kit

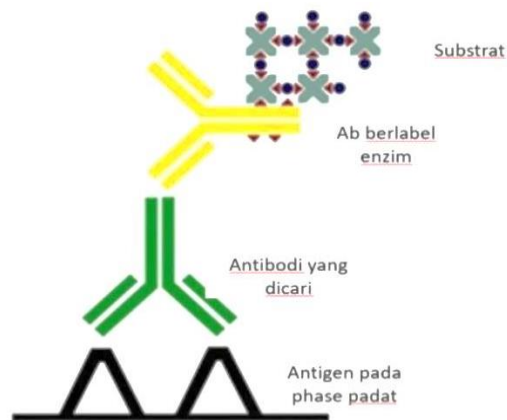
6. Substrat dimasukkan untuk diubah oleh enzim sehingga dihasilkan presipitat warna
7. Absorben dibaca pada Elisa reader/spektrofotometer, dikuantifikasi menggunakan kurva expert menggunakan absorbansi enceran standar.

Kelemahan ELISA indirect antara lain :

- Metoda imobilisasi antigen nya non spesifik
- Waktu pengujian relative lama

Kelebihan dari ELISA indirect antara lain :

- Banyak produk variasi antibodi sekunder
- Lebih sensitif



Gambar 2.4 Mekanisme ELISA Indirect

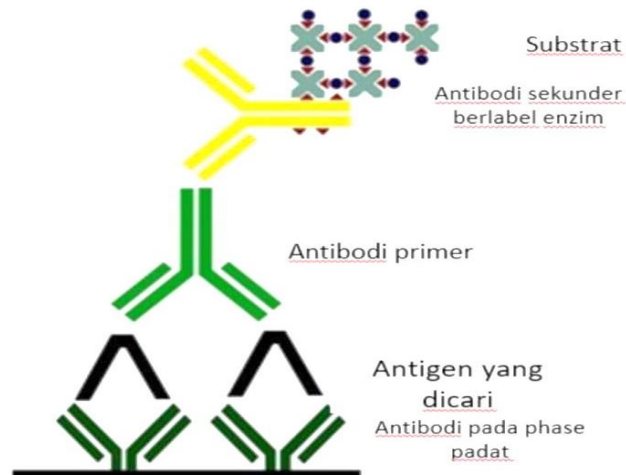
#### c. Sandwich ELISA

Teknik ELISA sandwich yaitu mencari antigen yang diinginkan dan yang membedakan adalah pada ELISA sandwich, antigen yang dicari tidak perlu dipurifikasikan. Teknik ELISA sandwich menggunakan antibodi primer untuk bereaksi dengan antigen yang

diinginkan pada sampel dan bereaksi dengan antibodi sekunder. Selanjutnya penambahan substrat akan menghasilkan presipital warna dan intensitas warna dapat mencerminkan konsentrasi antibodi yang di cari pada sampel.

ELISA sandwich memiliki tingkat sensitivitas yang tinggi sehingga aplikasi Elisa sandwich kebanyakan untuk mendeteksi keberadaan antigen yang kadarnya rendah dengan tingkat kontaminasi pada sampel yang tinggi. Tingkat ELISA sandwich dipengaruhi oleh molekul antibodi primer banyak yang menempel pada dinding-dinding mikrotiter dan tingkat avinitas antibodi primer dan antibodi sekunder dengan antigen yang di cari.

Prinsip sandwich ELISA yaitu antibodi akan berikat langsung dengan plat dan digunakan sebagai antibodi penangkap perantara immobilisasi antigen. Antigen akan berikat dengan antibodi selama masa inkubasi. Setelah itu, akan terjadi peristiwa konjugat antibody (antibodi berikatan dengan enzim) yang dimana antibodi yang didapat disiapkan dari sumber dengan antibodi yang tertempel pada fase padat.



Gambar 2.5 Prinsip kerja ELISA Sandwich

ELISA Sandwich memiliki tingkat sensitivitas yang tinggi sehingga aplikasi ELISA Sandwich kebanyakan untuk mendeteksi keberadaan antigen yang kadarnya rendah dan tingkat kontaminasi pada sampel yang tinggi.

Berikut ini adalah tahapan Teknik ELISA Sandwich :

1. Plate yang digunakan sudah disiapkan dengan antibody spesifik
2. Sampel yang berisi antigen yang dicari dimasukkan dalam plate
3. Kemudian untuk membuang kelebihan antigen yang tidak bereaksi, maka dilakukan pencucian plate
4. Ditambahkan antibodi primer agar berikatan dengan antigen secara spesifik
5. Ditambahkan antibodi sekunder yang berlabel enzim agar berikatan dengan antibodi primer
6. Untuk membuang konjugat antibodi-enzim yang tidak berikatan maka dilakukan pencucian plate

7. Substrat ditambahkan agar dapat diubah oleh enzim menjadi presipitat warna yang dapat diukur intensitasnya
8. Ditambahkan stop solution untuk menghentikan reaksi
9. Intensitas warna diukur menggunakan Panjang gelombang tertentu menggunakan Elisa reader/spektrofotometer.

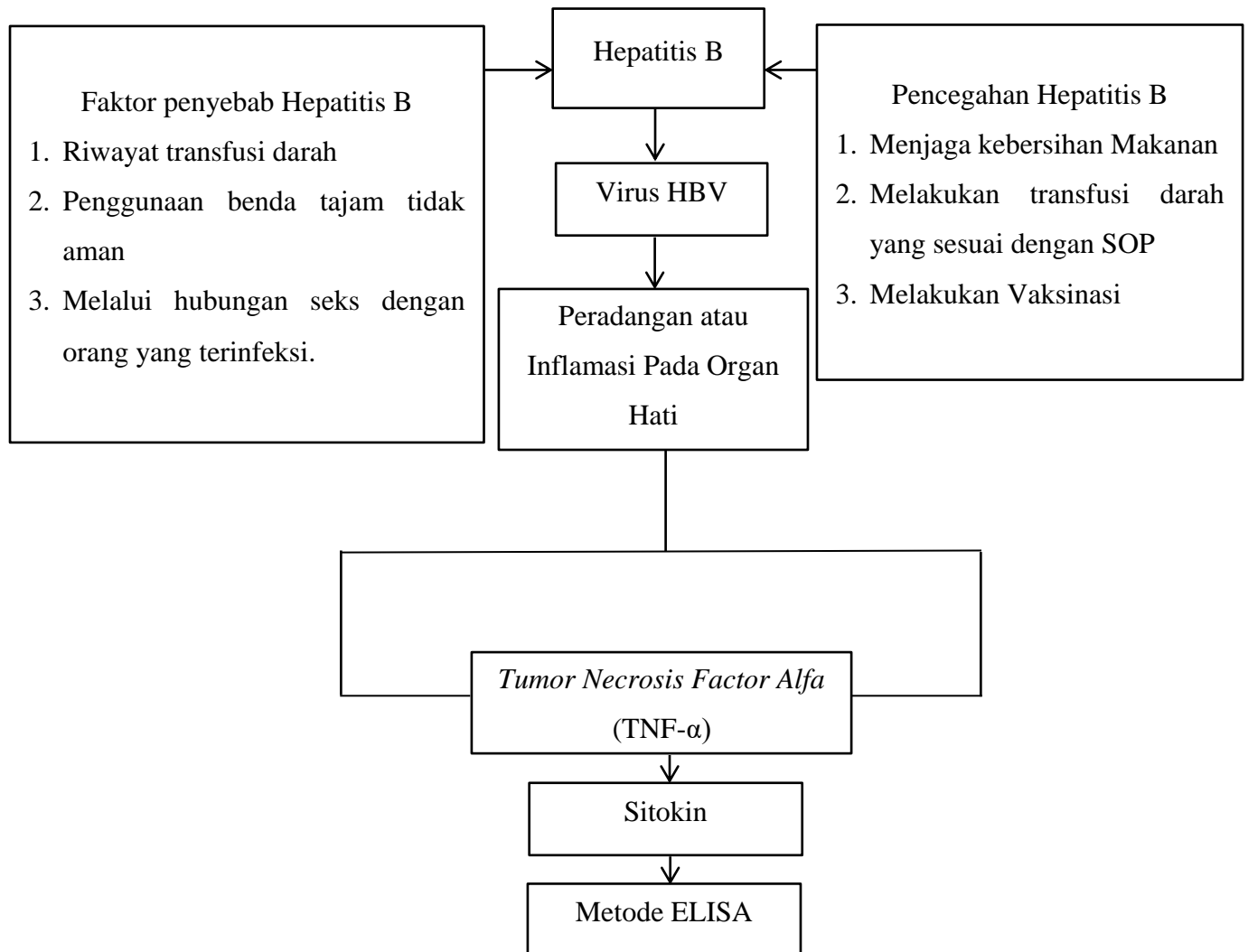
Kelebihan Teknik ini yaitu :

- Kemampuan mendeteksi antigen dengan titer yang sangat rendah karena bisa bereaksi dengan antibodi primer dan antibodi sekunder dengan sangat baik.
- Kemampuan mengukur antigen multivalenty (yang tidak perlu dipurifikasikan) dan mampu mengikat antigen yang diinginkan secara selektif

Kelemahan Teknik ini yaitu :

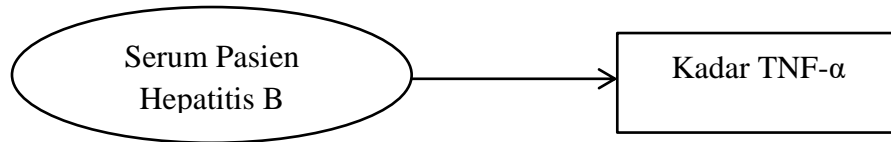
- Sulit mencari dua sisi antibodi yang dapat bereaksi dengan antigen yang sama pada sisi antigenik yang berbeda (epitope yang berbeda)
- Hanya dapat diaplikasikan untuk mendeteksi keberadaan antigen multivalent pada sampel

### D. Kerangka Teori




**Gambar 2.6** Kerangka Teori

### E. Kerangka Konsep



Keterangan :

 = Variabel Independen

 = Variabel dependen

**Gambar 2.7 Kerangka Konsep**

## **F. Definisi Operasional**

1. Seseorang yang mengalami Hepatitis B adalah individu yang telah terinfeksi oleh virus Hepatitis B. Gejala penyakit ini sering tidak disadari oleh penderita karena tidak khas. Saat ini, belum ada terapi yang efektif untuk mengobati Hepatitis ini, satu-satunya cara untuk mengatasinya adalah melalui pencegahan dengan menggunakan vaksin.
2. TNF- $\alpha$  adalah sitokin yang memiliki peran ganda pada proses inflamasi hati. Pada kondisi hepatitis B kronis, terjadi produksi TNF- $\alpha$  berlebih yang mengakibatkan peradangan serta meningkatnya perkembangan jaringan ikat hati. Apabila hal ini terjadi terus-menerus, sel-sel hati akan rusak dan digantikan oleh jaringan ikat. Kondisi inilah yang menyebabkan terjadinya sirosis hati.
3. Metode ELISA merupakan teknik yang digunakan dalam penentuan ekspresi protein, respon imun, serta pengukuran konsentrasi antigen atau antibody dalam larutan seperti serum atau cairan organ. Kepekaan dan kekhususan metode ELISA terbilang tinggi.

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Jenis Penelitian**

Jenis penelitian yang diterapkan dalam penelitian ini adalah deskriptif dengan tujuan untuk menganalisis kadar *Tumor Necrosis Factor* (TNF- $\alpha$ ) pada individu yang menderita hepatitis B.

#### **B. Lokasi dan Waktu Penelitian**

##### **1. Lokasi pengambilan sampel dan penelitian**

Pengambilan sampel dilakukan di Rumah Sakit Universitas Hasanudin dan penelitian ini dilakukan di *Laboratorium Hasanuddin University Medical Research Center* (HUM-RC) kota Makassar.

##### **2. Waktu penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari 2024

#### **C. Populasi dan Sampel Penelitian**

##### **1. Populasi Penelitian**

Populasi dalam penelitian ini adalah semua penderita Hepatitis B di Rumah sakit Universitas Hasanudin Kota Makassar yang sesuai dengan kriteria sampel.

##### **2. Sampel Penelitian**

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah Serum dengan jumlah sampel sebanyak 10 yang dipilih berdasarkan kriteria inklusi.

## **D. Kriteria Sampel**

### **1. Kriteria inklusi**

- a) Pasien yang telah terdiagnosa hepatitis B yang telah dibuktikan dari hasil pemeriksaan dan rekam medis
- b) Bersedia menjadi Responden

### **2. Kriteria eksklusi**

- a) Pasien dengan adanya penyakit lain seperti, diabetes melitus, HIV dan gangguan autoimun
- b) Sampel lisis

## **E. Instrumen Penelitian**

Adapun alat dan bahan yang akan digunakan dalam penelitian ini :

### **1. Alat**

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu Spoit 3ml, Tabung Vakum tutup merah, Tourniquet, Plaster, Alkohol Swab, Tabung Eppendorf, Rak sampel, Label, Stopwatch, Tip Kuning, Tip Biru, Mikropipet 10-200 $\mu$ l, *Vortex Mixer, Plate Washer, Centrifuge, Microwell Plate ELISA dan ELISA Reader.*

### **2. Bahan**

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu sampel Serum hepatitis B, Standard diluent, Larutan standar, *Streptavidin-HRP, Washing buffer, Substrat A, Substrat B, Stop solution.*

## **F. Prosedur Kerja**

### **1. Pengambilan Sampel**

#### a) Tahap Pengambilan Sampel

Sampel serum hepatitis B dimasukkan kedalam tabung yang sudah disediakan lalu diberikan label berupa kode sampel. Sampel yang telah didapatkan akan dibekukan di freezer lalu dimasukkan ke dalam cool box sebagai sampel transportasi, lalu setibanya di laboratorium sampel akan disimpan kedalam lemari es dengan suhu  $-20^{\circ}\text{C}$  hingga dilakukan analisis pada sampel. Disiapkan alat dan bahan. Sampel biologis tersimpan dikeluarkan dari lemari pendingin, kemudian dilakukan pemilihan sampel sesuai kriteria objektif, setelah itu Sampel dibiarkan pada suhu ruangan hingga sampel mencair. Setelah mencair, dilakukan pengukuran dengan alat ELISA.

#### b) Tahap Preparasi Reagen

Semua reagen dikeluarkan dan dibiarkan pada suhu ruangan sebelum digunakan.

Dibuat 5 larutan standar dengan teknik pembuatan konsentrasi menurun. Standar no. 5 dibuat dengan mencampurkan  $120\mu\text{l}$  ( $960\text{ ng/ml}$ ) standar asli yang disiapkan pada kit dengan  $120\mu\text{l}$  diluent standar untuk mendapatkan hasil  $480\text{ ng/ml}$ . Dihomogenkan lalu diamkan selama 15 menit sebelum membuat pengenceran berikutnya (standar no. 4, 3, 2, dan 1) Siapkan larutan standar selanjutnya dengan cara mengencerkan larutan standar no. 5 sebanyak  $120\mu\text{l}$  dengan  $120\mu\text{l}$  diluent standar untuk

menghasilkan standar no. 4 (480 ng/ml). Pembuatan standar no. 3, 2, dan 1 dilakukan dengan teknik konsentrasi menurun yang sama dengan standar no. 4 untuk mendapatkan hasil 240 ng/ml, 120 ng/ml, 60 ng/ml dan 30 ng/ml. Adapun 5 pengencer standar yang dibuat digunakan sebagai standar nol (0 ng/ml).

Wash Buffer : Diencerkan 20ml wash buffer konsentrasi 25x ke dalam airdeionisasi atau air suling untuk menghasilkan 500 ml untuk 1x wash buffer.

c) Pengukuran dengan Alat Elisa Reader

Siapkan semua reagen, larutan standar yang telah disiapkan diambil dengan cara dipipet sebanyak 50  $\mu$ l ke dalam sumur standar. Lalu diambil sampel dengan dipipet 40  $\mu$ l ke setiap sumur sampel dan ditambahkan 10  $\mu$ l antibody TNF- $\alpha$  ke sumur sampel. Kemudian ditambahkan 50  $\mu$ l streptavidin-HRP ke sumur sampel dan sumur standar, lalu ditutup dengan plate sealer dan inkubasi selama 60 menit pada suhu 37°C. Selanjutnya lakukan pencucian sumur sebanyak 5 kali menggunakan wash buffer, ditambahkan 50  $\mu$ l substrat solution A dan B ke setiap sumur. Lalu ditutup kembali dengan plate sealer dan diinkubasi selama 10 menit pada suhu 37°C. Kemudian ditambahkan lagi 50  $\mu$ l stop solution kesetiap sumur, warna biru akan berubah menjadi kuning. Lalu kepadatan optik (Nilai OD) dari setiap sumuran dengan menggunakan microplate reader panjang gelombang 450 nm dalam waktu 10 menit setelah menambahkan stop solution.

## **G. Etika Penelitian**

Penelitian ini menggunakan manusia sebagai subjek sehingga dalam pelaksanaannya tidak boleh bertentangan dengan etika penelitian.

1. Sebelum melakukan penelitian maka peneliti akan meminta izin pada pihak Laboratorium di Laboratorium Hasanuddin University Medical-Research Center (HUM-RC) Makassar.
2. Setiap subjek akan dijamin kerahasiannya atas data yang diperoleh dari hasil tes dengan tidak menuliskan nama pasien, tetapi hanya berupa kode sampel.

## **H. Pengumpulan dan Analisis Data**

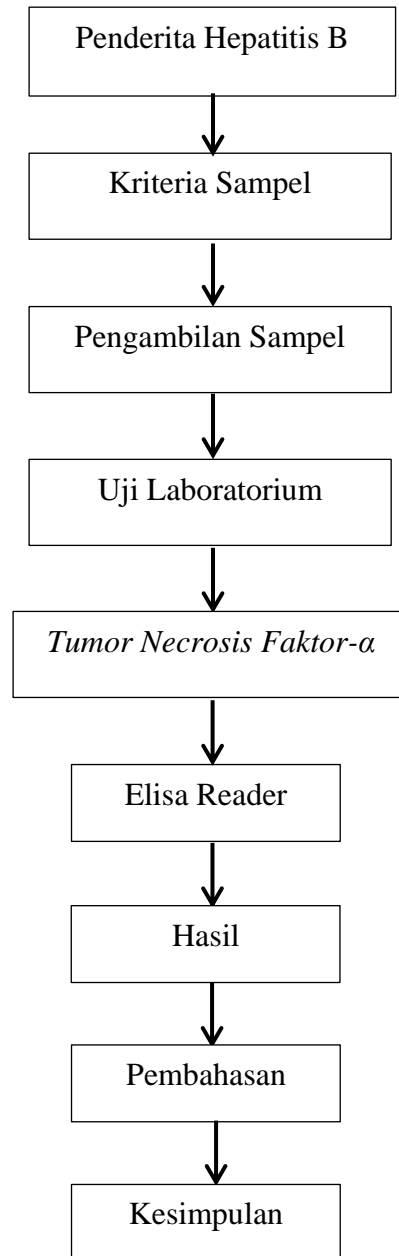
### **a) Teknik Pengumpulan Data**

Pengumpulan data dilakukan dengan cara pemeriksaan laboratorium menggunakan alat ELISA dengan KIT Mybiosource untuk menganalisis *Tumor Necrosis Factor Alfa* (TNF- $\alpha$ ) pada pasien hepatitis B.

### **b) Analisis data**

Data hasil uji disajikan dalam bentuk tabel menggunakan pendekatan secara observasi laboratorium.

## J. Alur Kerja Penelitian



## BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

### A. Hasil Penelitian

Kali ini telah dilakukan penelitian untuk menganalisis kadar *Tumor Necrosis Factor-Alfa* (TNF- $\alpha$ ) pada sampel pasien hepatitis B dengan hasil pemeriksaan menggunakan metode ELISA. Sampel darah pasien yang digunakan dalam penelitian ini diambil dari Rumah Sakit Universitas Hasanuddin, serta pemeriksaan pada sampel darah dilakukan di Laboratorium *Hasanuddin University Medical Research Center* (HUM-RC).

Penelitian ini lakukan pada pasien Hepatitis B sebanyak 10 sampel di HUM RC Makassar. Maka didapatkan hasil penelitian dalam bentuk tabel berikut :

#### 1. Karakteristik subjek penelitian

Tabel 4.1 Karakteristik Berdasarkan Umur

Umur	N	%
24-31	2	20%
32-43	3	30%
44-56	5	50%
Total	10	100%

*Sumber : Data Primer, 2025*

Data tabel 4.1 menunjukkan distribusi dari hasil penelitian karakteristik sampel berdasarkan umur dengan rerata umur dikategorikan menjadi 3 yaitu, rerata umur berdasarkan 24-31 tahun sebanyak 2 pasien dengan presentase (20%), umur 32-43 tahun sebanyak 3 pasien dengan presentase (30%) dan umur 44-56 sebanyak 5 pasien dengan presentase (50%).

Tabel 4.2 Karakteristik Berdasarkan Jenis Kelamin

Jenis Kelamin	N	%
Laki-Laki	7	70%
Perempuan	3	30%
Total	10	100%

Sumber : Data Primer, 2025

Data tabel 4.2 menunjukkan distribusi dari hasil penelitian karakteristik sampel berdasarkan jenis kelamin dikategorikan menjadi 2 yaitu, laki-laki sebanyak 7 pasien dengan presentase (70%) dan perempuan sebanyak 3 pasien dengan presentase (30%).

## 2. Pemeriksaan Terhadap Kadar TNF- $\alpha$ Responden Hepatitis B

Tabel 4.3 Karakteristik Hasil Kadar TNF- $\alpha$  Responden Hepatitis B

No	Sampel	Kadar TNF- $\alpha$ (pg/ml)	Nilai Normal
1	A01	20,3425	<b>0-2,1 pg/ml</b>
2	A02	35,4509	
3	A03	3,6967	
4	A04	1,5523	
5	A05	6,2924	
6	A06	1,2231	
7	A07	23,9642	
8	A08	12,1367	
9	A09	0,5106	
10	A10	0,0726	

Sumber : Data Primer, 2025

Data tabel 4.3 menunjukkan distribusi dari hasil pemeriksaan responden Hepatitis B terdapat nilai kadar TNF- $\alpha$  hasil 10 sampel diantaranya pada sampel A1 dengan kadar Tnf- $\alpha$  (20,3), sampel A2 dengan kadar Tnf- $\alpha$  (35,4), sampel A3 dengan kadar Tnf- $\alpha$  (3,69), sampel A4 dengan kadar Tnf- $\alpha$  (1,55), sampel A5 dengan kadar Tnf- $\alpha$  (6,29),

sampel A6 dengan kadar Tnf- $\alpha$  (1,22), sampel A7 dengan kadar Tnf- $\alpha$  (23,9), sampel A8 dengan kadar Tnf- $\alpha$  (12,1), sampel A9 dengan kadar Tnf- $\alpha$  (0,51) dan sampel A10 dengan kadar Tnf- $\alpha$  (0,07).

## **B. Pembahasan**

Pada penelitian yang dilakukan dalam menganalisis kadar TNF- $\alpha$  pada individu yang menderita Hepatitis B, dilaksanakan di Hasanuddin University Medical Research Center (HUMRC). Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah serum yang dikumpulkan dari sepuluh individu yang terdiagnosa menderita Hepatitis B di Rumah Sakit Hasanuddin.

Berdasarkan data yang terdapat dalam tabel 4.1, distribusi usia yang menderita hepatitis B dalam sampel penelitian menunjukkan bahwa terdapat 2 individu (20%) pada rentang usia 24-31 tahun, 3 individu (30%) pada rentang usia 32-43 tahun dan 5 individu (50%) pada rentang usia 44-56 tahun. Temuan ini mengindikasikan bahwa sampel penelitian lebih cenderung terdistribusi pada rentang usia 44-56 tahun, hal ini dikarenakan oleh ketersediaan sampel dan kesesuaian dengan kriteria inklusi yang lebih banyak pada rentang usia tersebut. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh (Darmo dkk, 2023) mengungkapkan hasil penelitiannya yang dominan pada kelompok usia 46-75 tahun, karena usia dianggap sebagai salah satu faktor pemicu hepatitis B. Proses penuaan seseorang juga dapat menyebabkan penurunan fungsi organ tubuh, termasuk fungsi hati.

Berdasarkan data dalam tabel 4.2, informasi mengenai distribusi jenis kelamin pada sampel penelitian pasien hepatitis B menunjukkan bahwa

terdapat dua kategori, yakni perempuan sejumlah 3 individu dengan presentase (30%), dan laki-laki sejumlah 7 individu dengan presentase (70%). Pada penelitian ini, jumlah penderita hepatitis B kebanyakan laki-laki. Salah satu faktornya karena perbedaan hormon laki-laki dan perempuan. Dijelaskan pada penelitian (Triana dkk., 2022) menyatakan bahwa kadar testosteron yang tinggi memiliki hubungan dengan kejadian risiko kanker hati yang lebih tinggi, didukung dengan adanya perbedaan hormon laki-laki dan perempuan dalam melepaskan sitokin inflamasi, ditemukan hasil bahwa perempuan dengan *hepatitis carrier* memiliki *viral load* yang lebih sedikit dibandingkan dengan laki-laki. Dalam penelitian yang dilakukan oleh (Dyah dkk., 2019) tingkat reaktivitas terhadap Hepatitis B lebih tinggi laki-laki (80%) daripada perempuan (20%). Hal ini dapat diperhatikan karena laki-laki cenderung lebih aktif daripada perempuan, sementara penularan hepatitis terjadi melalui kontak dengan cairan tubuh, yang dapat terjadi selama aktivitas sehari-hari seperti saat bekerja atau bercukur.

Berdasarkan hasil pemeriksaan kadar TNF- $\alpha$  pada 10 responden penderita Hepatitis B pada Tabel 4.3, kadar TNF- $\alpha$  dikatakan normal apabila 0–2,1 pg/ml (Lestari, 2021). Hasil yang didapatkan menunjukkan bahwa sebanyak 6 sampel (60%) memiliki kadar TNF- $\alpha$  melebihi nilai normal, yaitu sampel A1 (20,34), A2 (35,45), A3 (3,69), A5 (6,29), A7 (23,96), dan A8 (12,14). Sementara itu, sebanyak 4 sampel (40%) memiliki kadar TNF- $\alpha$  dalam batas normal, yaitu A4 (1,55), A6 (1,22), A9 (0,51), dan A10 (0,07).

Pada penelitian ini terdapat kadar TNF- $\alpha$  terendah pada sampel A10 yaitu 0,07 pg/ml, yang termasuk dalam nilai normal sedangkan kadar TNF- $\alpha$  tertinggi ditemukan pada sampel A2 yaitu 35,45 pg/ml, Nilai yang meningkat ini menunjukkan adanya respon imun yang sangat aktif terhadap infeksi maupun inflamasi. *Tumor Necrosis Factor-Alfa* (TNF- $\alpha$ ) merupakan sitokin yang berperan pada proses inflamasi hati. Pada kondisi hepatitis B terjadi kadar TNF- $\alpha$  berlebih yang memicu peradangan dan kematian sel hati serta meningkatnya perkembangan jaringan ikat hati. Apabila hal ini terjadi terus-menerus, sel-sel hati normal akan rusak dan digantikan oleh jaringan ikat. Kondisi inilah yang menyebabkan terjadinya sirosis hati (Dyah dkk., 2019). Sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh (Supit dkk., 2015) menyatakan bahwa sistem imun berpengaruh terhadap tinggi dan rendahnya kadar TNF- $\alpha$ . Ketika sistem imun menurun maka tubuh akan lebih mudah terserang penyakit. Hal ini dikarenakan kemampuan imunitas tubuh yang lemah untuk melawan infeksi. Faktor usia mempengaruhi kuat atau lemahnya sistem imun, pada orang yang sudah memasuki usia tua kecepatan respon imun mulai menurun, sehingga lebih mudah terserang penyakit dan menyebabkan kadar TNF- $\alpha$  meningkat. Menurut (Ekasari dkk., 2018) Faktor stres juga dapat menjadi variabel perancu terhadap kadar TNF- $\alpha$ , karena diketahui bahwa pada kondisi stress terdapat peningkatan sintesis sitokin inflamasi. Sitokin merupakan mediator lokal yang dihasilkan oleh sel-sel terutama sel yang terdapat pada tempat terjadinya inflamasi.

## **BAB V**

### **PENUTUP**

#### **A. Kesimpulan**

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa dari 10 sampel. Kadar TNF- $\alpha$  tertinggi yaitu sebanyak 35,4 pg/ml dan kadar TNF- $\alpha$  terendah yaitu sebanyak 0,07 pg/ml. Pasien Hepatitis B dengan kadar TNF- $\alpha$  normal terdapat 4 pasien dengan persentase sebanyak 40%, sedangkan dengan kadar TNF- $\alpha$  tinggi terdapat 6 pasien dengan persentase 60%. Meningkatnya kadar TNF- $\alpha$  ini menunjukkan adanya respon imun yang sangat aktif terhadap infeksi maupun inflamasi.

#### **B. Saran**

Diharapkan untuk calon peneliti selanjutnya, Sebaiknya melakukan penelitian lebih lanjut dengan membandingkan TNF- $\alpha$  dengan biomarker lainnya.

## DAFTAR PUSTAKA

- Amtarina, R., Arfianti, Andi, Z., & Fifia, C. (2017). *Faktor Risiko Hepatitis B Pada Tenaga Kesehatan Kota Pekanbaru*. 7. <https://doi.org/10.15395/mkb.v41n3.245>
- Annisa. (2019). Virus Hepatitis B di Indonesia dan Risiko Penularan Terhadap Mahasiswa Kedokteran. *Anatomica Medical Joournal*, 2(2), 66–72.
- Apriadi, D. (2021). Analisis faktor keikutsertaan screening hepatitis “ B ” pada ibu hamil. *Jurnal SAGO Gizi Dan Kesehatan*, 3(1).
- Ayu, I. G., Andayani, S., Rizki, M., Sriasih, M., & Tauhida, I. N. (2023). *Performa Rapid Diagnostik Tes Hepatitis B Dengan Elisa Sebagai Gold Standar*. 11(2), 1263–1271.
- Bastiangga, D., & Hapsari, R. (2019). Profil Imunitas Terhadap Virus Hepatitis B Pada Tenaga Kesehatan di Rumah Sakit Nasional Diponegoro Semarang. *Jurnal Kedokteran Diponegoro*, 8(4), 1338–1350.
- Buchari. (2019). Uji Serologi pada Penderita Tuberkulosis Aktif. *Jurnal Kedokteran Nanggroe Medika*, 2(4), 18–26.
- Darmo, K., Dekayana, A., Udmainnah, Fadhilah, R. N., & Aznawi, A. (2023). *Analisis Kadar Interleukin 6 ( Il-6 ) Pada Pasien Hepatitis B di Klinik Utama Mata JEC Orbita Makassar*. V, 35–41.
- Darsin, & Sesunan, M. F. (2019). Perancangan Sistem Pendiagnosa Penyakit Hepatitis dengan Metode Case Based Reasoning (CBR). *Jurnal Sistem Informasi Dan Sains Teknologi*, 1(2), 1–7.
- Dyah, C., Wungu, K., Amin, M., Ruslan, S. E. N., Purwono, P. B., Kholili, U., Boedi, P., Lusida, M. I., & Handajani, R. (2019). *Deteksi Tumor Necrosis Faktor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) Gen Promotor Polimorfisme pada sirosis Hati Pasien dengan Infeksi Virus Hepatitis B Kronis (HBV) Di Surabaya , Indonesia*. 7(5), 115–121.
- Ekasari, D. P., Sugiman, T., & Widiatmoko, A. (2018). Kadar Tumor Necrosis Factor-A Plasma Pada Berbagai Derajat Keparahan Akne Vulgaris Di Rsud Dr. Saiful Anwar Malang. *Majalah Kesehatan*, 5(2), 84–93. <https://doi.org/10.21776/ub.majalahkesehatan.005.02.3>

- Fauziah, P. N., Setiawan, H., Harun, S., & Kunci, K. (2021). Prevalensi Infeksi Hepatitis B Pada Calon Tenaga Kerja Indonesia Di Klinik Utama Satria Medika Sakti. *Anakes: Jurnal Ilmiah Analis Kesehatan*, 7(2), 141–147.
- Feliansyah, A. W., & Purwanto, E. (2024). Analisis faktor yang berhubungan dengan penyakit hepatitis di Indonesia. *Holistik Jurnal Kesehatan*, 18(9), 1131–1138. <https://doi.org/10.33024/hjk.v18i9.587>
- Geni, L., & Yahya, E. M. (2022). Gambaran Jumlah Trombosit dengan Kadar SGOT dan SGPT Pada Penderita Hepatitis B. *Anakes : Jurnal Ilmiah Analis Kesehatan*, 8(1), 30–38. <https://doi.org/10.37012/anakes.v8i1.707>
- Irfan, Wawomeo, A., & Kambuno, N. T. (2019). Hepatitis B Virus Infection in Hemodialysis patient at Prof. DR. W.Z. Johannes Kupang Hospital, East Nusa Tenggara. *Jurnal Kesehatan Primer*, 4(1), 63–69.
- Khasanah, F. (2017). *Perbedaan Kejadian Hepatitis B Pada Darah Donor Berdasarkan Karakteristik Orang Tempat Dan Waktu (Studi Di Palang Merah Indonesia Kota Semarang)*.
- Lestari, L. D. (2021). Perbedaan Kadar 25-Hydroxyvitamin D Serum dan TNF- $\alpha$  Antara Pasien Tuberkulosis Paru dan Tuberkulosis Paru Dengan HIV AIDS. *Tesis*.
- Lieswan, L. L. (2021). *Hubungan ekspresi Tumor Necrosis Factor Alpha pada plasenta dengan HBV DNA darah tali pusat pada Ibu hamil dengan Hepatitis B*.
- Munthe, G. V. B., Olivia, N., & Syafrinanda, V. (2022). Keperawatan Dengan Masalah Gangguan Intoleransi Aktivitas Pada Pasien Hepatitis B Di Rumah Sakit Tk II Putri Hijau Medan Tahun 2021. *Jurnal Keperawatan Flora*, 15(1).
- Naully, P. G., & Nursidika, P. (2019). Edukasi Kesehatan sebagai Upaya Preventif Penyakit Hepatitis B dan C pada Warga Binaan Pemasyarakatan. *Aksiologi: Jurnal Pengabdian Kepada Masyarakat*, 4(1), 43. <https://doi.org/10.30651/aks.v4i1.2164>
- Nurhidayati, Afrianty Gobel, F., & Kurnesih, E. (2019). Faktor Risiko Hepatitis B Pada Ibu Hamil Di Kota Makassar Tahun 2019. *Journal of Muslim*

- Community Health*, 2(3), 22–45.
- Nurwanda, S. (2022). Aplikasi Himpunan Fuzzy Intuisionistik dalam Diagnosa Penyakit Hepatitis menggunakan Extended Hausdorff Distance. *Jurnal Ilmiah Matematika*, 10(01), 41–49.
- Prabuningrat, A., & Hunaifi, I. (2022). Peranan Sitokin dan Kemokin dalam Proses Neuroinflamasi pada Stroke Iskemik Akut. *Lombok Medical Journal*.
- Putri, R. K., Yuli, T., & Joko, A. (2020). Efek Tumor Necrosis Factor Alpha dan Rasio Platelet-Limfosit terhadap Derajat Fibrosis Hati pada Pasien Hepatitis B.
- Rumini, Zein, U., & Suroyo, R. B. (2018). Faktor Risiko Hepatitis B Pada Pasien di RSUD. Dr. Pirngadi Medan. *Jurnal Kesehatan Global*, 1(1), 37–44.
- Saha, P., & Smith, A. (2018). *Editorial*. 10–11. <https://doi.org/10.1186/ar4064>
- Sanatang, Rasyid, S. A., & Lio, T. M. P. (2022). Deteksi Gen IL-6 dan TNF- $\alpha$  dengan Metode PCR Pada Penderita Hepatitis B di Laboratorium Klinik Maxima Kota Kendari. *Bioma : Jurnal Biologi Makassar*, 7(1), 21–28.
- Santosa, B. (2020). Teknik Elisa: Metode Elisa Untuk Pengukuran Protein Metallothionein Pada Daun Padi Ir Bagendit. In *Unimus Press, Semarang*. (Issue 18).
- Saptaningtyas, R., Andriyani, N. A., & Widyaningsih, E. (2022). *Sosialisasi Pencegahan Penyakit Hepatitis B Pada Ibu Hamil di Desa Kebojongan*. 7(1), 414–417.
- Sari, H. P., Indriastuti, D., Asrul, M., & Elyasari. (2019). Perbedaan Pengetahuan Pre Dan Post Pendidikan Kesehatan Pada Penghuni Lapas Tentang Risiko Kejadian Viral Hepatitis Di Lapas Perempuan Kelas III. *Jurnal Keperawatan*, 2(3), 9–16.
- Shita, A. D. P. (2015). Perubahan Level TNF- $\alpha$  dan IL-1 pada Kondisi Diabetes Mellitus. *Prosiding Dentistry Scientific Meeting II, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember*, 1, 1–7. [https://repository.unej.ac.id/jspui/bitstream/123456789/62879/1/Prosiding\\_Amandia\\_Dewi\\_Permana\\_Shita.pdf](https://repository.unej.ac.id/jspui/bitstream/123456789/62879/1/Prosiding_Amandia_Dewi_Permana_Shita.pdf)
- Sinaga, H., Latif, I., & Pangulu, N. (2018). Pemeriksaan Hepatitis B Surface

- Antigen (HBsAg) dan Anti-HBs Pada Ibu Hamil Sebagai Skrining Penularan Hepatitis B. *Jurnal Riset Kesehatan*, 7(2), 80–84. <https://doi.org/10.31983/jrk.v7i2.3690>
- Siswanto. (2020). Epidemiologi Penyakit Hepatitis. *Mulawarman University*, 74.
- Supit, I. A., Pangemanan, D. H. C., & Marunduh, S. R. (2015). Profil Tumor Necrosis Factor (Tnf-A) Berdasarkan Indeks Massa Tubuh (Imt) Pada Mahasiswa Fakultas Kedokteran Unsrat Angkatan 2014. *Jurnal E-Biomedik*, 3(2). <https://doi.org/10.35790/ebm.3.2.2015.8621>
- Surmiasih, S., Aprida, H., Hardono, H., & Putri, R. H. (2020). Pengetahuan tentang penyakit hepatitis B dengan perilaku pemeriksaan HBsAg pada ibu hamil di Puskesmas. *Wellness And Healthy Magazine*, 2(2), 205–209. <https://doi.org/10.30604/well.0202.8200098>
- Susantiningasih, T., & Mustofa, S. (2018). *Ekspresi IL-6 dan TNF-  $\alpha$  Pada Obesitas IL-6 and TNF-  $\alpha$  Expression in Obesity*. 2(2), 174–180.
- Triana, D., Sinuhaji, B., Talitha Rambe, C., Asteria, M., & Eka Patri Yuliyanti, M. (2022). Analisis Faktor Yang Berhubungan Dengan Kejadian Hepatitis B Pada Pendorong Di Unit Transfusi Darah Kota Bengkulu. *Jurnal Kesehatan Kusuma Husada*, 13(1), 101–108. <https://doi.org/10.34035/jk.v13i1.800>
- Trisnaningtyas, R., Sari, C. P., & Setyaningrum, N. (2017). Evaluasi Terapi Pada Pasien Hepatitis B di RSUP Dr. Sardjito Yogyakarta. *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 13(1), 29–34.
- Yulia, D. (2019). Virus Hepatitis B Ditinjau dari Aspek Laboratorium. *Jurnal Kesehatan Andalas*, 8, 247–254.
- Yunianti, F., Darmadi, S., Probahoosodo, M. Y., & Budiono, B. (2016). Perbandingan Penentuan Kadar Tiroksin Enzyme Linked Immunofluorescent Assay (Elfa) Dan Enzyme Linked Immunosorbant Assay (Elisa). *Indonesian Journal of Clinical Pathology and Medical Laboratory*, 18(1). <https://doi.org/10.24293/ijcpml.v18i1.355>

## LAMPIRAN

### Lampiran 1. Tabel Data Sampel

#### HASIL FORMAT LIST

	A	B	C	D	E
1	QuantitativeCurvef				
2					
3	Plate	Well	Kode Sampel	Absorbansi	Konsentarsi (HASIL)
4	Plate 1	A01	Un_0001	0.1162	20.3425
5					
6	Plate 1	A02	Un_0002	0.1686	35.4509
7					
8	Plate 1	A03	Un_0003	0.0567	3.6967
9					
10	Plate 1	A04	Un_0004	0.0489	1.5523
11					
12	Plate 1	A05	Un_0005	0.0661	6.2924
13					
14	Plate 1	A06	Un_0006	0.0477	1.2231
15					
16	Plate 1	A07	Un_0007	0.1289	23.9642
17					
18	Plate 1	A08	Un_0008	0.0871	12.1367
19					
20	Plate 1	A09	Un_0009	0.0451	0.5106
21					
22	Plate 1	A10	Un_0010	0.0435	0.0726
23					
24					
25					

## Lampiran 2. Kode Etik Penelitian



**KOMITE ETIK PENELITIAN KESEHATAN**  
**POLITEKNIK KESEHATAN KEMENKES MAKASSAR**  
 Jalan Wijaya Kusuma Raya No. 46, Rappocini, Makassar  
 E-mail: [kepkipolkesmas@poltekkes-mks.ac.id](mailto:kepkipolkesmas@poltekkes-mks.ac.id)



**KETERANGAN LAYAK ETIK**  
 DESCRIPTION OF ETHICAL EXEMPTION  
 "ETHICAL EXEMPTION"

No.: 0769/M/KEPK-PTKMS/XI/2023

Protokol penelitian versi 1 yang diusulkan oleh :  
 The research protocol proposed by

Peneliti Utama : **Dita Serfina Palelu**  
 Principal in Investigator

Nama Institusi : **Universitas Megarezky**  
 Name of the Institution

Dengan Judul:  
 Title

**"Analisis Kadar Tumor Necrosis Factor Alfa (TNF-Alpha) Pada Pasien Hepatitis B Menggunakan Metode ELISA "**

*"Analysis of tumor Necrosis Factor Alfa levels in Hepatitis B patients using the ELISA method"*

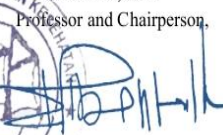
Dinyatakan layak etik sesuai 7 (tujuh) Standar WHO 2011, yaitu 1) Nilai Sosial, 2) Nilai Ilmiah, 3) Pemerataan Beban dan Manfaat, 4) Risiko, 5) Bujukan/Eksploitasi, 6) Kerahasiaan dan Privacy, dan 7) Persetujuan Setelah Penjelasan, yang merujuk pada Pedoman CIOMS 2016. Hal ini seperti yang ditunjukkan oleh terpenuhinya indikator setiap standar.

Declared to be ethically appropriate in accordance to 7 (seven) WHO 2011 Standards, 1) Social Values, 2) Scientific Values, 3) Equitable Assessment and Benefits, 4) Risks, 5) Persuasion/Exploitation, 6) Confidentiality and Privacy, and 7) Informed Consent, referring to the 2016 CIOMS Guidelines. This is as indicated by the fulfillment of the indicators of each standard.


Pernyataan Layak Etik ini berlaku selama kurun waktu tanggal 20 November 2023 sampai dengan tanggal 20 November 2024.

Declaration of ethics applies during the period November 20, 2023 until November 20, 2024.



November 20, 2023  
 Professor and Chairperson,  
  
**Santia Sinala, S.Si, M.Si, Apt**  
 Ketua KEPK Poltekkes Makassar

### Lampiran 3. Surat Izin Penelitian


**LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGABDIAN MASYARAKAT (LPPM)**  
**UNIVERSITAS MEGAREZKY**  
 SK. Menristekdikti RI. No.1194/KPT/I/2018 Terakreditasi BAN PT

---

Kampus II, Jalan Anting Raya No. 43, Telp. 0411 - 492 401 - 496401 Fax. 496614 Website: <http://www.universitasmegarezky.ac.id> Email: [info@universitasmegarezky.ac.id](mailto:info@universitasmegarezky.ac.id)

Makassar, 15 September 2023

Nomor : 4099/07.091056/IX/2023  
 Lampiran : -  
 Perihal : **Rekomendasi Izin Penelitian**


**Kepada**  
**Yth** : Bapak Gubernur Prov. SulSel  
 Cq. Kepala UPT P2T BKPMD-PTSP

**Di -**  
**Makassar**

Dengan hormat,  
 Dalam rangka penyelesaian tugas akhir Mahasiswa Fakultas Teknologi Kesehatan Program Studi DIV Teknologi Laboratorium Medis Universitas Megarezky Makassar, maka bersama ini kami mohon kiranya Bapak/Ibu berkenan menerima Mahasiswa (i) kami yang tersebut namanya di bawah ini untuk melakukan Penelitian di Instansi / wilayah kerja yang Bapak/Ibu Pimpin.

**Nama** : Dita Serfina Palelu  
**N I M** : B1D119034  
**Judul Skripsi/KTI** : "Analisis Kadar *Tumor Necrosis Factor* (TNF-a) Pada Pasien Hepatitis B Menggunakan Metode ELISA  
**Pembimbing** : 1. Nurfitri Arfani, S.Si.,M.Si  
 2. Ayusti Dirga, S.Si.,M.Sc  
**Tempat Penelitian** : Laboratorium Hasanuddin University Medical Research Center (HUM-RC)

Demikian surat permohonan penelitian ini, atas bantuan dan kerjasamanya diucapkan terima kasih.

  
 Kepala LPPM  
 Ns. Syamsuniriyana Sabar, M.Kep  
 NIDN: 09 151186 02

**Tembusan Kepada Yth:**

1. Yang Bersangkutan
2. Arsip

## Lampiran 4. Surat Keterangan Selesai Penelitian

	<b>ADMINISTRASI</b>	<b>FORMULIR 2</b>
	Nomor : 048/01/FR2/2023	Tanggal : 30 Januari 2024
<b>SURAT KETERANGAN</b> <b>SELESAI PENGAMBILAN DATA/ ANALISA BAHAN HAYATI</b>		

Dengan hormat,

Dengan ini menerangkan bahwa peneliti/mahasiswa berikut ini :

Nama : Dita Serfina Palelu  
 NIM : B1D119034  
 Institusi : DIV Teknologi Laboratorium Medis Universitas Megarezky  
 Judul Penelitian : **Analisis Kadar Tumor Necrosis Factor Alfa (TNF-Alfa) Pada Pasien Hepatitis B Menggunakan Metode ELISA**

**Telah selesai** melakukan pengambilan data/ analisa bahan hayati :

Pada tanggal : 27 Januari 2024  
 Jumlah subjek : ± 10 sampel  
 Jenis data : Data Primer

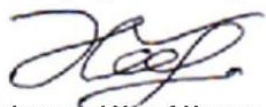
Dengan staf pendamping/pembimbing :

Nama : Muhammad Yusuf Usman, S.Si.  
 Konsultan : -

**Surat keterangan ini juga merupakan penjelasan bahwa peneliti/mahasiswa diatas tidak mempunyai sangkutan lagi pada unit/laboratorium kami.**

Demikian surat ini dibuat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Pendamping/Pembimbing



**Muhammad Yusuf Usman, S.Si.**  
 NIP

Mengetahui,  
 Kepala Laboratorium,



**dr. Rusdina Bte Ladiu, Ph.D**  
 NIP 198108302012122002

