

ABSTRAK

Analisis Mutasi Gen Pengekspresi Domain B dan C DNA Polimerase HBV Dari Pasien Yang Terinfeksi Dengan Titer Rendah.

Natalia, 2006 Pembimbing Utama : Johan Lucianus, dr., M.Si.
Pembimbing Pendamping : Ernawati A. Giri Rachman, Ph.D.

Terdapat kontribusi variasi galur HBV terhadap infeksi akut maupun kronis. Replikasi HBV memerlukan enzim reverse transkriptase yang memiliki kekurangan fungsi '*proofreading*'. Akibatnya, HBV memiliki kecepatan mutasi lebih besar dibandingkan virus DNA lainnya. Mutan HBV dapat memiliki kenaikan virulensi, yang ditunjukkan dengan terjadinya peningkatan replikasi dan resistensi terhadap terapi antivirus. Hal ini terlihat pada resistensi terhadap lamivudine yang berhubungan dengan munculnya varian YMDD akibat mutasi pada domain B dan C *reverse transcriptase*.

Percobaan ini bertujuan untuk mengetahui adanya mutasi gen pengeksresi domain B dan C DNA polimerase HBV pada pasien di Indonesia.

Penelitian dilakukan terhadap 9 pasien hepatitis B dengan hasil titer DNA HBV 10^4 - 10^5 IU/mL. Untuk mengamplifikasi fragmen domain B dan C DNA polimerase HBV dilakukan PCR menggunakan primer HBVDNAPolBCFwd2 dan HBVDNAPolBCRev. Fragmen PCR yang didapatkan yaitu sebesar 250 pb kemudian dimurnikan dan disekuensing.

Analisis sekuensing menunjukkan tidak adanya mutasi pada semua sampel yang diteliti.

Kata kunci: HBV, mutasi, DNA polimerase, PCR.

ABSTRACT

ANALYSIS MUTATIONS OF B AND C DOMAIN OF HBV DNA POLYMERASE GENE TAKEN FROM LOW INFECTED PATIENTS

Natalia, 2006 *First tutor* : Johan Lucianus, dr., M.Si.
Second tutor : Ernawati A. Giri Rachman, Ph.D.

HBV strains variant contribute to the clinical course of acute or chronic infection. Replication of HBV requires an active viral reverse transcriptase which lack of proofreading activity. Therefore, the mutation rate of HBV is higher than other DNA viruses. HBV mutant could display enhanced virulence with increased level of HBV replication and the resistance to antiviral therapies. It is shown in it's resistance to lamivudine which is emerged in the YMDD variant HBV with mutation in B and C domain of reverse transcriptase.

The purpose of the experiment is to detect the mutations in B and C domain of HBV DNA polymerase in Indonesia.

This research was applied to nine patients infected with 10^4 - 10^5 IU/mL HBV DNA. Fragments of B and C domain of HBV DNA polymerase gene were amplified by PCR using HBVDNAPolBCFwd2 and HBVDNAPolBCRev primers. The PCR product was analyzed by agarose gel, purified and sequenced.

Sequence analysis showed that there is no mutation in all samples being amplified.

Key words: HBV, mutation, DNA polymerase, PCR.

DAFTAR ISI

	Halaman
LEMBAR PERSETUJUAN	ii
SURAT PERNYATAAN	iii
ABSTRAK	iv
ABSTRACT	v
PRAKATA	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Identifikasi Masalah	3
1.3 Maksud dan Tujuan.....	3
1.4 Manfaat Karya Tulis Ilmiah.....	3
1.5 Metode Penelitian.....	4
1.6 Lokasi dan Waktu Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Epidemiologi.....	5
2.2 Gejala Klinis	7
2.3 Cara Penularan	7
2.4 Komponen Virus	7
2.4.1 DNA Polimerase dan DNA HBV	8
2.4.2 HBsAg dan Anti-HBs	8
2.4.3 HBcAg dan Anti-HBc.....	8
2.4.4 HBeAg dan Anti-HBe.....	9
2.4.5 Protein Dari Region X	9
2.5 Struktur dan Genom Virus Hepatitis B	10
2.6 DNA Polimerase HBV	13
2.7 Replikasi Virus Hepatitis B	13
2.8 Mutasi HBV	14
2.9 Pengobatan.....	15
2.9.1 Interferon.....	16
2.9.2 Lamivudine.....	16
2.9.3 Adefovir Dipivoxil.....	19
BAB III ALAT, BAHAN, DAN METODE PENELITIAN	
3.1 Subjek Penelitian.....	21
3.2 Metode Penelitian.....	21
3.3 Alat dan Bahan.....	22
3.3.1 Alat-Alat yang Digunakan	22
3.3.2 Bahan-Bahan yang Digunakan.....	22
3.3.2.1 Reagen PCR.....	22

3.3.2.2 Reagen Elektroforesis	23
3.3.2.3 Pemurnian	24
3.4 Cara Kerja	24
3.4.1 PCR (<i>Polymerase Chain Reaction</i>)	24
3.4.2 Pemurnian Hasil PCR	25
3.4.3 Sekuensing	25
3.4.4 Analisis Hasil Sekuensing	25
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 PCR dan Pemurnian	26
4.2 Sekuensing	35
4.3 Analisis Hasil Sekuensing	35
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1 Kesimpulan	37
5.2 Saran	37
DAFTAR PUSTAKA	38
RIWAYAT HIDUP	41

DAFTAR TABEL

Tabel 3.1 Titer DNA HBV	21
Tabel 3.2 Primer-Primer yang Digunakan	23
Tabel 4.1 Hasil Perlakuan Pada Sampel	35
Tabel 4.2 Analisis Hasil Sekuensing	35

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Distribusi Geografis Prevalensi Hepatitis B Kronis	6
Gambar 2.2 Reaksi Biokimia Infeksi HBV Akut.....	6
Gambar 2.3 Mikroskopi Elektron HBV.....	9
Gambar 2.4 Genom HBV.....	10
Gambar 2.5 Skema Gambaran DNA Polimerase HBV	12
Gambar 2.6 Skema Replikasi HBV	15
Gambar 4.1 PCR Dengan Primer HBVDNAPolBCFwd dan HBVDNAPolBCRev Disertai Primer P1 dan P2.....	29
Gambar 4.2 PCR HBV Dengan Primer HBVDNAPolBCFwd2 dan Primer HBVDNAPolBCRev	30
Gambar 4.3 Hasil PCR 50 μ L.....	31
Gambar 4.4 Hasil Pemurnian	32
Gambar 4.5 Hasil PCR dari Templat Awal.....	33
Gambar 4.6 Amplifikasi PCR Domain B dan C DNA polimerase HBV	34