

## ABSTRAK

### **ANALISIS MUTASI GEN PENGEKSPRESI DOMAIN B DAN C DNA POLIMERASE HBV DARI PASIEN YANG TERINFEKSI DENGAN TITER TINGGI**

Anton Mulyono., 2003 ; Pembimbing I: Johan Lucianus, dr, M.Si.

Pembimbing II: Ernawati Arifin Giri Rachman, Ph.D.

Ratusan juta orang di dunia ini telah mengalami infeksi kronik oleh virus hepatitis B (HBV). Infeksi kronik ini dapat mengakibatkan sirosis hati dan karsinoma sel hati. HBV merupakan suatu virus DNA yang bereplikasi lewat RNA intermediet dengan menggunakan enzim *reverse transcriptase*. *Reverse transcriptase* diketahui memiliki kekurangan pada fungsi *proofreading*. Akibatnya, HBV memiliki kecepatan mutasi yang 10 kali lebih besar daripada virus DNA lainnya. Mutan HBV dapat menunjukkan kenaikan virulensi, yang antara lain ditunjukkan dengan adanya kenaikan replikasi HBV dan resistensi terhadap antivirus. Tujuan dari percobaan ini adalah untuk mengetahui adanya pola mutasi DNA polimerase HBV domain B dan C. DNA HBV diambil dari pasien dengan titer DNA HBV antara  $10^6$ -  $10^7$  IU/mL. Sampel-sampel tersebut diamplifikasi dengan menggunakan PCR dengan memakai primer yang spesifik, yaitu HBVDNAPolBC fwd2 dan HBVDNAPolBCRev dan menghasilkan fragmen DNA sekitar 200-300 pb. Fragmen ini kemudian dimurnikan, lalu disekuensing. Hasilnya dibandingkan dengan database NCBI. Hasilnya adalah tidak ditemukan mutasi pada sampel-sampel tersebut.

Kata kunci: HBV, mutasi, DNA polimerase.

## **ABSTRACT**

### ***ANALYSIS MUTATIONS OF B AND C DOMAIN OF DNA POLYMERASE GENE FROM THE PATIENTS WITH HIGHLY INFECTED***

Anton Mulyono., 2003; *First tutor:* Johan Lucianus, dr, M.Si.

*Second tutor:* Ernawati Arifin Giri Rachman, Ph.D.

*Several hundreds million people throughout the world are chronically infected with hepatitis B virus (HBV). The chronic infection leads to liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma. HBV is a DNA virus which replication is through an RNA replicative intermediate requiring an active viral reverse transcriptase / polymerase enzyme. The reverse transcriptase is lack of proofreading function. Therefore, the mutation rate of HBV more than 10-fold higher than other DNA viruses. HBV Mutant can display enhanced virulence with an increased levels of HBV replication and resistance to antiviral therapies. The aim of this study were to elucidate the mutation pattern on the B and C domain HBV DNA polymerase gene. The HBV DNA was extracted from patients with HBV DNA titer between  $10^6$ -  $10^7$  IU/mL, and amplified by PCR using the HBV specific sequence forward and reverse primers, namely HBVDNA PolBCfwd2 and HBVDNAPolBCRev, respectively, and resulted in 200-300 bp DNA fragment. These fragments were subsequently purified, sequenced and compared with the reported sequence at NCBI databases. The result is that there are no mutations on those sampels.*

*Keywords: HBV, Mutation, DNA polymerase*





## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>LEMBAR PERSETUJUAN</b> .....	ii
<b>SURAT PERNYATAAN</b> .....	iii
<b>ABSTRAK</b> .....	iv
<b>ABSTRACT</b> .....	v
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	vi
<b>DAFTAR ISI</b> .....	viii
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	x
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xi
<b>BAB I PENDAHULUAN</b>	
1.1. Latar Belakang .....	1
1.2. Identifikasi Masalah .....	2
1.3. Maksud dan Tujuan .....	3
1.4. Manfaat Penelitian.....	3
1.5. Metode Penelitian.....	3
1.6. Lokasi dan Waktu Penelitian .....	3
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1. Epidemiologi Hepatitis B .....	4
2.2. Patologi Hepatitis B .....	4
2.3. Spektrum dari Penyakit Hati.....	5
2.3.1. Hepatitis Akut.....	5
2.3.2. Hepatitis Kronis.....	6
2.4. Cara Penularan .....	7
2.5. Virus Hepatitis B.....	8
2.6. Genom HBV .....	9
2.7. Gen Polimerase HBV .....	10
2.8. Siklus Hidup HBV .....	11
2.9. Mutasi Virus .....	13
2.10. Pengobatan Hepatitis B kronis.....	13
2.10.1. Interferon.....	14
2.10.2. Lamivudine.....	15
2.10.3. Adefovir Dipivoxil.....	17
<b>BAB III ALAT, BAHAN, DAN METODE PENELITIAN</b>	
3.1. Subjek Penelitian.....	19
3.2. Alat dan Bahan.....	19
3.2.1. Alat-Alat yang Digunakan .....	19
3.2.2. Bahan-Bahan yang Digunakan.....	20
3.3. Metode Penelitian.....	21
3.4. Cara Kerja.....	21
3.4.1. PCR ( <i>Polymerase Chain Reaction</i> ) .....	21

3.4.2. Pemurnian .....	22
3.4.3. Sekuensing dan Analisis Hasil Sekuensing .....	22
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN</b>	
4.1. PCR .....	23
4.2. Pemurnian .....	27
4.3. Analisis Hasil Sekuensing .....	27
<b>BAB V KESIMPULAN DAN SARAN</b>	
5.1. Kesimpulan .....	28
5.2. Saran .....	28
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	29
<b>RIWAYAT HIDUP</b> .....	32

## DAFTAR TABEL

Tabel 3.1. Primer yang Digunakan .....	20
Tabel 4.1. Tabel Sampel-Sampel dengan Titer DNA HBV $10^6$ - $10^7$ IU/mL.....	23
Tabel 4.2. Hasil Analisis Sekuensing .....	27

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Gambaran Laboratorium pada Hepatitis B Akut.....	6
Gambar 2.2. Gambaran Laboratorium Hepatitis B Kronik.....	7
Gambar 2.3. Bentuk HBV.....	9
Gambar 2.4. Genom HBV.....	10
Gambar 2.5. Gen Polimerase HBV.....	11
Gambar 2.6. Siklus Hidup HBV.....	12
Gambar 2.7. Struktur Lamivudine.....	17
Gambar 4.1. PCR Menggunakan Primer HBVDNAPolBCFwd dan HBVDNAPolBCRev Disertai Primer P1 dan P2.....	24
Gambar 4.2. PCR Menggunakan Primer HBVDNAPolBCFwd2 dan HBVDNAPolBCRev.....	25
Gambar 4.3. PCR pada Kelima Sampel dengan Menggunakan Primer HBVDNAPolBCFwd2 dan HBVDNAPolBCRev dengan 3 Master Mix untuk 1 Sampel. ....	26