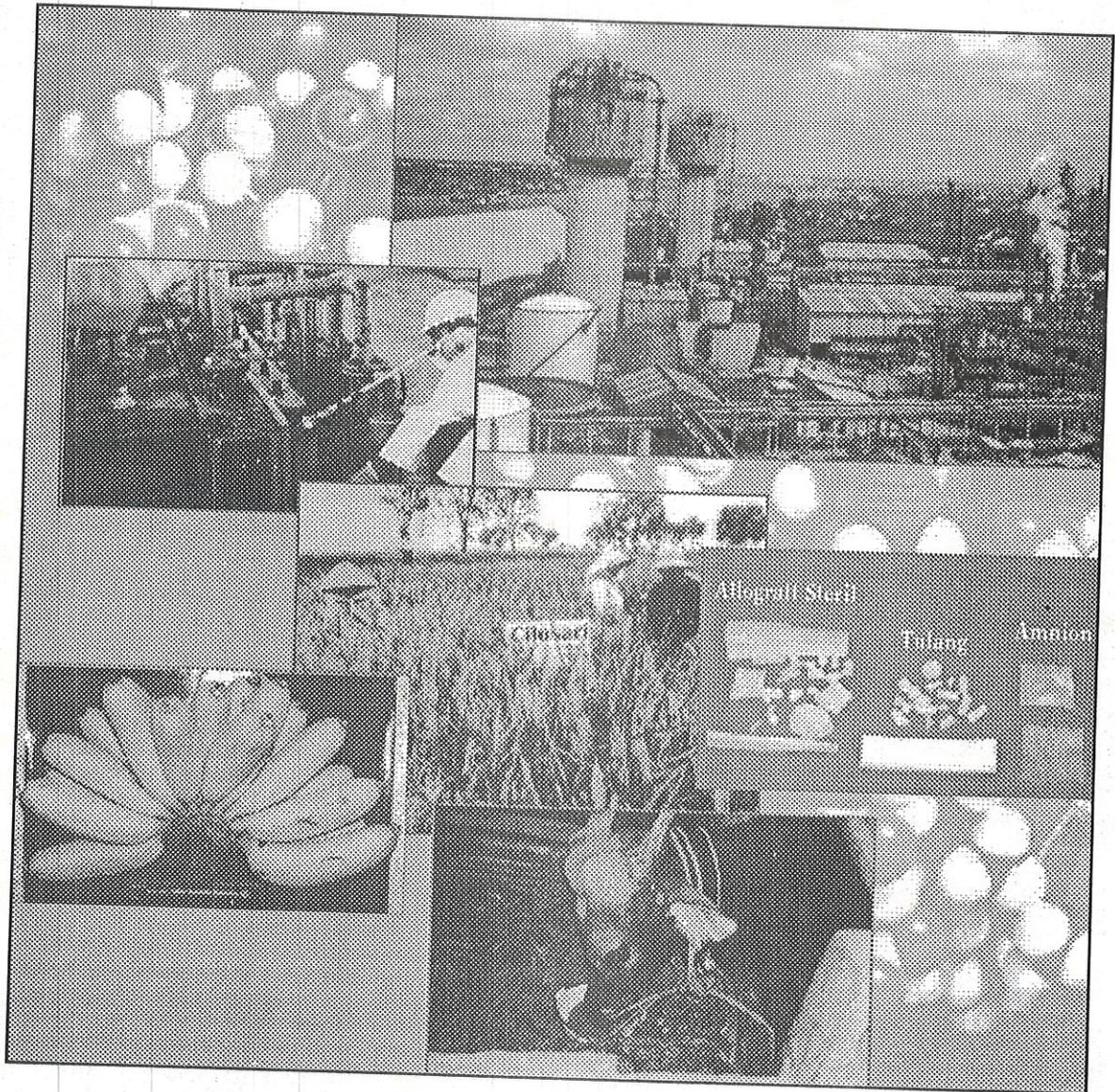


# RISALAH PERTEMUAN ILMIAH PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN APLIKASI ISOTOP DAN RADIASI



**Industri, Lingkungan, Kesehatan,  
Pertanian dan Peternakan**



**BADAN TENAGA NUKLIR NASIONAL  
PUSLITBANG TEKNOLOGI ISOTOP DAN RADIASI  
JAKARTA, 2002**

ISBN 979-82708-5-4

RISALAH PERTEMUAN ILMIAH  
RESEPTI DAN PENGEMBANGAN  
APLIKASI ISOTOP DAN RADIASI



Industri, Lingkungan, Kesehatan,  
Pertanian dan Peternakan

BADAN TENAGA NUKLIR NASIONAL  
PUSITBANG TEKNOLOGI ISOTOP DAN RADIASI  
JAKARTA, 2002



**RISALAH PERTEMUAN ILMIAH  
PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN  
APLIKASI ISOTOP DAN RADIASI  
2 0 0 1**

Jakarta, 6 - 7 Nopember 2001

Industri, Lingkungan, Kesehatan,  
Pertanian dan Peternakan



**BADAN TENAGA NUKLIR NASIONAL  
PUSLITBANG TEKNOLOGI ISOTOP DAN RADIASI**

RISALAH PERTUNTUAN ILMIAH  
PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN  
APLIKASI ISOTOP DAN RADIASI

2001

Jakarta, 6 - 7 Nopember 2001

Industri, Lingkungan, Kesehatan,  
Pertanian dan Peternakan



BADAN TENAGA NUKLIR NASIONAL  
PUSITBANG TEKNOLOGI ISOTOP DAN RADIASI

Penyunting :

- |   |   |
|---|---|
| 1. Dra. Nazly Hilmy, Ph.D, APU          | P3TIR - BATAN                                     |
| 2. Dr. Ir. Moch. Ismachin, APU          | P3TIR - BATAN                                     |
| 3. Dr. F. Suhadi, APU                   | P3TIR - BATAN                                     |
| 4. Ir. Elsje L. Pattiradjawane, MS, APU | P3TIR - BATAN                                     |
| 5. Dr. Singgih Sutrisno, APU            | P3TIR - BATAN                                     |
| 6. Marga Utama, B.Sc, APU               | P3TIR - BATAN                                     |
| 7. Ir. Wandowo                          | P3TIR - BATAN                                     |
| 8. Dr. Made Sumatra, MS, APU            | P3TIR - BATAN                                     |
| 9. Dr. Mugiono, APU                     | P3TIR - BATAN                                     |
| 10. Drs. Edih Suwadji, APU              | P3TIR - BATAN                                     |
| 11. Dr. Sofjan Yatim                    | P3TIR - BATAN                                     |
| 12. Dr. Ishak, M.Sc. M.ID, APU          | P3TIR - BATAN                                     |
| 13. Dr. Nelly D. Leswara                | P3TIR - BATAN                                     |
| 14. Dr. Ir. Komaruddin Idris            | Universitas Indonesia<br>Institut Pertanian Bogor |

---

PERTEMUAN ILMIAH PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN APLIKASI ISOTOP DAN RADIASI (2002 : JAKARTA), Risalah pertemuan ilmiah penelitian dan pengembangan aplikasi isotop dan radiasi, Jakarta, 6 - 7 Nopember 2001 / Penyunting, Nazly Hilmy ... (et al) -- Jakarta : Badan Tenaga Nuklir Nasional, Pusat Penelitian dan Pengembangan Teknologi Isotop dan Radiasi, 2002. 1 jil.; 30 cm

Isi jil. 1. Industri, Lingkungan, Kesehatan, Pertanian dan Peternakan

ISBN 979-95709-8-0

I. Isotop - Seminar I. Judul II. Nazly Hilmy

---

541.388

Alamat : Puslitbang Teknologi Isotop dan Radiasi  
Jl. Cinere Pasar Jumat  
Kotak Pos 7002 JKSKL  
Jakarta 12070  
Telp. : 021-7690709  
Fax. : 021-7691607; 7513270  
E-mail : p3tir@batan.go.id; sroji@batan.go.id  
Home page : <http://www.batan.go.id/p3tir>



## DAFTAR ISI

Pengantar .....	i
Daftar Isi .....	iii
Laporan Ketua Panitia Pertemuan Ilmiah .....	vii
Sambutan Kepala Badan Tenaga Nuklir Nasional .....	ix
<b>MAKALAH UNDANGAN</b>	
Strategi Pengembangan Sumber Daya Manusia untuk Pemberdayaan Usaha Kecil Menengah PROF. Dr. ERIYATNO (Deputi SDM - BPSD KUKM) .....	1
Role of Isotopes and Radiation for Industrial Development and Advance Materials Dr. TADAO SEGUCHI (TRCRE, JAERI) .....	5
Strategi Pengembangan Industri Nasional Memasuki Abad Ke-21 Dirjen Industrial Kimia, Agro dan Hutan Industri .....	9
<b>MAKALAH PESERTA</b>	
Penyelidikan tingkat kebocoran bendungan Jatiluhur dengan pendekatan isotop alam dan hidro-kimia PASTON SIDAURUK, INDROJONO, DJIONO, EVA RISTA RISTIN, SATRIO, dan ALIP .....	25
Penyelidikan daerah imbuhan air tanah Bekasi dengan teknik hidroisotop SYAFALNI, M. SRI SAENI, SATRIO, dan DJIJONO .....	33
Indikasi erosi di daerah perkebunan teh - gunung mas - Puncak - Jawa Barat menggunakan isotop alam $^{137}\text{Cs}$ NITA SUHARTINI, BAROKAH ALIYANTA, dan ALI ARMAN LUBIS .....	43
Penentuan konsentrasi $^{226}\text{Ra}$ dalam air minum dan perkiraan dosis interna dari beberapa lokasi di Jawa dan Sumatera SUTARMAN, MARZAINI NAREH, TUTIK INDIYATI, dan MASRUR .....	49
Daerah resapan air tanah cekungan Jakarta WANDOWO, ZAINAL ABIDIN, ALIP, dan DJIJONO .....	57
Radioaktivitas lingkungan pantai Makassar : Pemantauan unsur torium dan plutonium dalam sedimen permukaan A. NOOR, N. KASIM, Y.T. HANDAYANI, MAMING, MERLIYANI, dan O. KABI .....	65
Metode perunut untuk menganalisis sifat aliran air dalam jaringan pipa SUGIHARTO, PUGUH MARTYASA, INDROJONO, HARIJONO, dan KUSHARTONO..	69
Penentuan nilai $\delta^{34}\text{S}$ dalam pupuk dan aplikasinya untuk menentukan sumber sulfur pada air tanah kampung Loji Krawang E. RISTIN PUJI INDIYATI, ZAINAL ABIDIN, JUNE MELLAWATI, PASTON SIDAURUK, dan NENENG L.R., .....	75
Pembuatan komposit campuran serbuk kayu - poliester - serat sabut kelapa untuk papan partikel SUGIARTO DANU, DARSONO, PADMONO, dan ANGESTI BETTY .....	81
Kombinasi pelapisan permukaan kayu lapis Meranti ( <i>Shorea spp</i> ) dengan metode konvensional dan radiasi Ultra Violet DARSONO, dan SUGIARTO DANU .....	89

Studi kopolimerisasi radiasi stirena ke dalam film karet alam (Pengaruh dosis iradiasi dan kadar monomer) SUDRAJAT ISKANDAR, ISNI MARLIYANTI, dan MADE SUMARTI K. ....	95
Pengaruh pencucian dan pemanasan terhadap sifat fisik mekanik barang celup dari lateks alam iradiasi MADE SUMARTI K., MARGA UTAMA, dan DEVI LISTINA .....	103
Studi distribusi waktu tinggal pada proses pencampuran kontinyu dengan model bejana berderet SUGIHARTO, INDROJONO, KUSHARTONO, dan IGA WIDAGDA .....	109
Studi radiasi latar belakang sinar Gamma di laboratorium Sedimentologi, P3TIR, BATAN dengan spektrometri Gamma ALI ARMAN LUBIS, BAROKAH ALIYANTA, dan DARMAN .....	117
Penentuan Uranium dan Thorium sedimen laut dengan metode aktif dan pasif ALI ARMAN LUBIS, dan JUNE MELLAWATI .....	125
Deteksi virus hepatitis B (VHB) dalam serum darah dengan teknik PCR ( <i>Polymerase Chain Reaction</i> ) LINA, M.R., DADANG S., dan SUHADI, F., .....	131
Pendahuluan pembuatan Kit Ria mikroalbuminuria untuk pemeriksaan albuminuria SUKIYATI D.J., SITI DARWATI, GINA M., DJOHARLY, TRININGSIH, dan SULAIMAN .....	137
Ekstraksi Uranium dari limbah cair artifisial dengan teknik membran cair aliran kontinyu RUSDIANASARI, dan BUCHARI .....	143
Meningkatkan akurasi probabilitas pancaran sinar Gamma energi 165.9 keV untuk $^{139}\text{Ba}$ dengan peralatan koinsiden $4\pi\beta\text{-}\gamma$ NADA MARNADA, dan GATOT WURDIYANTO .....	149
Efek demineralisasi dan iradiasi gamma terhadap kandungan Kalsium dan kekerasan tulang <i>Bovine</i> liofilisasi B. ABBAS, F. ANAS, S. SADJIRUN, P. ZAKARIA, dan N. HILMY .....	155
<i>Rejection study of cancelous allograft in emergency orthopaedic operation</i> MENKHER MANJAS, and NAZLY HILMY .....	161
<i>Experience of using amniotic membrane after circumcision</i> MENKHER MANJAS, ISMAL, and DODY EFMANSYAH .....	165
<i>Using amniotic membrane as wound covering after cesarean section operation</i> MENKHER M., and HELFIAL HELMI .....	169
Efek <i>Glutathione</i> terhadap daya tahan khamir <i>Schizosaccharomyces pombe</i> yang diiradiasi dalam $\text{N}_2$ , $\text{N}_2\text{O}$ , dan $\text{O}_2$ NIKHAM .....	173
Radiolisis pati larut sebagai senyawa model polisakarida. I. Efek pelarut dan laju dosis iradiasi YANTI S. SOEBIANTO, SITI MEILANI S., dan DIAH WIDOWATI .....	181
Pengaruh iradiasi gamma terhadap derajat kekuningan ( <i>Yellowness Index</i> ) dan sifat mekanik plastik pengemas makanan RINDI P. TANHINDARTO, dan DIAN I. ....	191
Metode analisis unsur dengan spektrometri <i>total reflection x-ray fluorescence</i> YULIZON MENRY, ALI ARMAN LUBIS, dan PETER WOBRAUSCHEK .....	205

Pembentukan galur tanaman kacang tanah yang toleran terhadap Aluminium melalui kultur <i>in vitro</i> ALI HUSNI, I. MARISKA, M. KOSMIATIN, ISMIATUN, dan S. HUTAMI .....	215
Pembentukan kalus dan <i>spot</i> hijau dari kultur Antera galur mutan cabai keriting ( <i>Capsicum annuum</i> L.) secara <i>in vitro</i> AZRI KUSUMA DEWI, dan ITA DWIMAHYANI .....	221
Peningkatan toleransi terhadap Aluminium dan pH rendah pada tanaman kedelai melalui kultur <i>in vitro</i> IKA MARISKA, SRI HUTAMI, dan MIA KOSMIATIN .....	225
Efek radiasi sinar gamma dosis rendah pada pertumbuhan kultur jaringan tanaman ciplukan ( <i>Pysalis angulata</i> L.) ROSMIARTY A. WAHID .....	235
Pengujian galur mutan Sorghum generasi M4 terhadap kekeringan di Gunung Kidul SOERANTO, H., CARKUM, SIHONO, dan PARNO .....	241
Evaluasi penampilan fenotip dan stabilitas beberapa galur mutan kacang hijau di beberapa lokasi percobaan RIYANTI SUMANGGONO, dan SOERANTO HUMAN .....	247
Penggunaan pupuk hayati fosfat alam untuk meningkatkan produksi tanaman jagung di lahan kering HAVID RASJID, J. WEMAY, E.L. SISWORO, dan W.H. SISWORO .....	255
Pertumbuhan dan produksi kacang hijau pada kondisi ketersediaan air terbatas THOMAS .....	261
Peningkatan keragaman sifat agronomi tanaman melati <i>Jasminum sambac</i> (L.) W. Ait dengan teknik mutasi buatan LILIK HARSANTI, dan MUGIONO .....	273
Pengaruh sumber eksplan dan <i>Thidiazuron</i> dalam media terhadap regenerasi eksplan mutan nilam ( <i>Pogostemon cablin</i> Benth.) ISMIYATI SUTARTO, MASRIZAL, dan YULIASTI .....	281
Kombinasi bahan organik dan pupuk N inorganik untuk meningkatkan hasil dan serapan N padi gogo IDAWATI, dan HARYANTO .....	287
Kuantifikasi transformasi internal <sup>15</sup> N untuk memprediksi daya suplai Nitrogen pada lahan paska deforestasi I.P. HANDAYANI, P. PRAWITO, dan E.L. SISWORO .....	295
Pengaruh fosfat alam dan pupuk kandang terhadap efisiensi pemupukan P pada oxisol Sumatera Barat JOKO PURNOMO, KOMARUDDIN IDRIS, SUWARNO, dan ELSJE L. SISWORO .....	305
Studi kandungan unsur mikro pada UMMB sebagai suplemen pakan ternak ruminansia FIRSONI, YULIZON MENRY, dan BINTARA HER SASANGKA .....	313
Penggunaan suplemen pakan dan pemanfaatan teknik <i>radioimmunoassay</i> (RIA) untuk meningkatkan efisiensi Inseminasi Buatan (IB) TOTTI TJIPTOSUMIRAT, DADANG SUPANDI, dan FIRSONI .....	319
Pembuatan antibodi pada kelinci yang diimunisasi dengan <i>Brucella abortus</i> SUHARNI SADI .....	325

Pengaruh dosis inokulasi <i>Trypanosoma evansi</i> terhadap gambaran darah hewan inang mencit M. ARIFIN .....	333
Penentuan dosis iradiasi pada <i>Fasciola gigantica</i> (cacing hati) yang memberi perlindungan pada kambing B.J. TUASIKAL, M. ARIFIN, dan TARMIZI .....	337
Pengalihan jenis kelamin ikan nila gift ( <i>Oreochromis nilotichus</i> ) dengan pemberian hormon testosteron alami ADRIA P.M. HASIBUAN, dan JENNY M. UMAR .....	345
Pengamatan klinis dan serologis pada domba pasca vaksinasi L-3 iradiasi cacing <i>Haemonchus contortus</i> dalam uji skala lapangan SUKARJI PARTODIHARDJO, dan ENUH RAHARJO .....	349
Pengaruh iradiasi terhadap cemaran bakteri pada udang windu ( <i>Penaeus monodon</i> ) HARSOJO, DIDI ROHADI, LYDIA ANDINI S., dan ROSALINA S.H. ....	355
Kondisi optimal untuk penentuan radioaktivitas serangga hama bertanda P-32 dengan menggunakan pencacah sintilasi cair YARIANTO S., BUDI SUSILO, dan S. SUTRISNO .....	361
Kemandulan terinduksi radiasi pada hama kapas <i>Helicoverpa armigera</i> Hubner (Lepidoptera : Noctuidae) dan kemandulan yang diturunkan pada generasi F1 SUHARYONO, dan S. SUTRISNO .....	367
Pengembangan parasitasi <i>Biosteres</i> sp pada larva <i>Bactrocera carambolae</i> (DREW & HANCOCK) sebagai komplementer teknik serangga mandul DARMAWI SIKUMBANG, INDAH A. NASUTION, M. INDARWATMI, dan ACHMAD N. KUSWADI .....	373
Pengaruh iradiasi gamma terhadap Thiamin & Riboflavin pada ikan tuna ( <i>T. thynnus</i> ) dan salem ( <i>Onchorhynchus gorbuscha</i> ) segar RINDY P. TANHINDARTO, FOX, J.B., LAKRITZ, L., dan THAYER, D.W. ....	379
Budidaya ikan Nila gift yang diberi pakan pelet kelapa sawit YENNI M.U., dan ADRIA P.M. ....	385
Sintesis hidrogel kopolimer (2-hidroksi etil metakrilat/N-vinil pirrolidon) dengan iradiasi gamma dan imobilisasi ametrin ERIZAL .....	389

## DETEKSI VIRUS HEPATITIS B (VHB) DALAM SERUM DARAH DENGAN TEKNIK PCR (POLYMERASE CHAIN REACTION)

Lina, M.R., Dadang, S., dan Suhadi, F.  
Puslitbang Teknologi Isotop dan Radiasi, BATAN, Jakarta

### ABSTRAK

**DETEKSI VIRUS HEPATITIS B (VHB) DALAM SERUM DARAH DENGAN TEKNIK PCR (POLYMERASE CHAIN REACTION).** Penelitian untuk mendeteksi adanya VHB dalam darah dengan teknik PCR menggunakan 2 macam pasangan primer oligonukleotida, telah dilakukan. Sepuluh serum dipakai, terdiri dari 5 serum HBsAg positif, 1 serum HBsAg positif lemah, 3 serum HBsAg negatif, dan 1 serum DNA VHB negatif hasil PCR dari laboratorium lain. Perlakuan awal sampel yaitu untuk memurnifikasi dan mengekstraksi DNA virus, dilakukan dengan metode BOOM. Dua macam pasangan primer, yaitu PC1 & PC2 dan P1 & P2 dipakai untuk PCR. Penggunaan primer PC1 & PC2 dilakukan dengan 2 perlakuan, yaitu I.a & I.b. Amplifikasi DNA dari 5 serum HBsAg positif dengan perlakuan I.a., menunjukkan DNA VHB positif hanya pada 3 serum, sedangkan dengan perlakuan I.b dan dengan penggunaan primer P1 & P2 (pasangan primer ke dua), menunjukkan hasil positif untuk ke lima serum tersebut. Dari pemeriksaan 3 serum HBsAg negatif, hanya 1 serum memperlihatkan DNA VHB positif, yaitu dari hasil proses PCR menggunakan primer P1 & P2. Tes PCR dengan perlakuan I.b dan dengan penggunaan primer P1 & P2 menunjukkan hasil positif untuk serum dengan DNA VHB negatif hasil PCR dari laboratorium lain. Tes PCR dalam penelitian ini menunjukkan hasil negatif untuk 1 serum dengan HBsAg positif lemah. Dalam penelitian ini ternyata proses PCR menggunakan primer P1 & P2 lebih sensitif dibanding dengan primer PC1 & PC2.

### ABSTRACT

**DETECTION OF HEPATITIS B VIRUS (HBV) IN BLOOD SERUM BY MEANS OF PCR (POLYMERASE CHAIN REACTION) TECHNIQUE.** Research for detecting the presence of HBV DNA in serum with PCR technique by using two pairs of oligonucleotide primers, has been carried out. Ten serum consisted of 5 HBsAg positive serum, 1 HBsAg weak positive serum, 3 HBsAg negative serum, and 1 sampel with negative HBV DNA as a previous PCR product from another laboratory, were used to purify and to extract the DNA of virus, the sample pretreatment was done with Boom method. The two pairs of primers used for the PCR process, were PC1 & PC2 and P1 & P2. The amplification process by means of PC1 & PC2 primer was carried out with two treatments, I.a. & I.b treatments of 5 HBsAg positive serum samples, 3 were positive for HBV DNA by PCR test with I.a. treatment. The PCR test by means of either the same primer but different treatment (I.b treatment) or different pair of primer (P1 & P2 primer), revealed the presence of HBV DNA in all of HBsAg serum mentioned above of HBsAg negative serum, 1 serum was positive for HBV DNA and it was an amplification product of PCR test by using P1 & P2 primer. The amplification products of PCR process with either I.b treatment or P1 & P2 primer, showed the positive results for 1 HBV positive serum as a previous PCR product from another laboratory. All of the PCR test in this research provided the negative HBV DNA result in the HBsAg weak positive serum. The DNA amplification process by means of P1 & P2 primer was more sensitive compared with PC1 & PC2 primer.

### PENDAHULUAN

Hepatitis atau dikenal sebagai penyakit liver atau hati disebabkan peradangan pada jaringan hati. Timbulnya peradangan ini akibat infeksi virus, salah satunya adalah virus hepatitis B (VHB). Ukuran VHB sekitar 42 nm yang dikenal sebagai partikel Dane. Struktur VHB terdiri dari suatu selubung (*envelope*) dari antigen permukaan (HBsAg), nukleokapsid dari antigen *core* (HBcAg) dan antigen *precore* (HBeAg) serta genom (DNA) virus yang berukuran 3,2 kb [1, 2, 3]. Antigen tersebut dan antibodi yang terbentuk dapat dipakai sebagai petanda tes serologik.

Jumlah penderita hepatitis B semakin meningkat baik di dunia maupun di Indonesia. Hal ini antara lain disebabkan sebagian individu yang terinfeksi VHB tidak menunjukkan gejala klinis / asimtomatik atau manifestasi yang timbul berupa gejala yang ringan /

subklinis. Sebagian penderita hepatitis B tersebut akan menjadi kronis yang berlanjut menjadi *sirosis* dan kanker hati (*hepatocellular carcinoma*) sehingga berakibat kematian akibat kegagalan fungsi hati. Oleh karenanya, penyakit ini merupakan masalah kesehatan yang serius dan perlu penanganan yang baik. Menurut DALIMARTHA [4] dan KANE *et al.* yang dikutip oleh WIDJAJA [5], menyatakan bahwa lebih dari 2 milyar penduduk di dunia telah terinfeksi VHB dan 300 - 350 juta adalah pengidap HBsAg. Prevalensi donor darah HBsAg di Indonesia bervariasi antara 2,4 - 9,1% dan didaerah tertentu seperti Nusa Tenggara prevalensinya lebih dari 10% [6].

Diagnosis laboratorium untuk mengetahui adanya infeksi VHB dan prognosis penyakit hepatitis B tersebut, dapat dilakukan dengan petanda serologik yang ada di dalam darah, seperti HBsAg, anti HBs, anti HBc, HBeAg, anti HBe, menggunakan teknik ELISA

[4, 5, 7]. Teknik lain yang dapat mendeteksi adanya infeksi VHB adalah hibridisasi asam nukleat dengan pelacak DNA. *Polymerase chain reaction* (PCR) merupakan metode yang lebih sensitif dan spesifik dibanding dengan ke dua metode tersebut. DNA VHB yang dapat dideteksi dengan PCR adalah 1 - 10 ag (setara dengan 1 - 10 genom virus sedangkan dengan metode hibridisasi dengan pelacak DNA, konsentrasi DNA virus yang terdeteksi adalah 0,1 - 1 pg (setara dengan  $10^4$  -  $10^6$  kopi genom virus) [2]. Proses PCR yang dilanjutkan dengan analisis hibridisasi menggunakan pelacak DNA yang berlabel radioisotop, kemampuan deteksinya meningkat menjadi  $10^5$  kali lebih tinggi dibandingkan proses PCR dengan deteksi menggunakan elektroforesis gel agarosa dan pewarnaan etidium bromida [8].

Beberapa penyakit yang sering kali muncul setelah transplantasi jaringan biologi antara lain keracunan obat dan infeksi karena virus. Oleh karenanya, jaringan biologi baik berasal dari donor hidup maupun jenazah, harus bebas dari virus seperti VHB, VHC (Virus Hepatitis C), HIV (*Human Immunodeficiency Virus*). PEREIRA *et al.* [9] menyatakan prevalensi anti VHC dalam donor jenazah yang ditelitinya adalah 1,8% (13 dari 716 donor) dan dari 11 donor tersebut, 5 donor positif untuk petanda serologik anti *Hepatitis B core* (anti HBc).

Dalam perkembangan Bank Jaringan Biologi di Indonesia khususnya Bank Jaringan Biologi Riset Batan, sangat diperlukan penelitian yang berkaitan dengan penyediaan jaringan biologi yang berkualitas tinggi [10]. Suatu penelitian untuk mendeteksi adanya agen penyebab penyakit khususnya virus seperti VHB, VHC, HIV pada donor jaringan biologi melalui pemeriksaan darahnya dengan metode cepat dan akurat yang mempunyai spesifitas dan sensitivitas tinggi seperti PCR, sangat diperlukan.

## BAHAN DAN METODE

**Persiapan DNA dari Sampel.** Sepuluh serum darah dari laboratorium klinik digunakan dalam penelitian ini, terdiri dari 5 buah serum dengan HBsAg positif, 1 buah serum dengan HBsAg positif lemah, dan 3 buah serum dengan HBsAg negatif. Purifikasi dan ekstraksi DNA virus dilakukan dengan metode BOOM [11]. Secara singkat metode tersebut dapat dijelaskan sebagai berikut, larutan bufer lisis yang mengandung Tris-HCl, GuSCN (*guanidinium thiocyanate*), EDTA, dan Triton X-100, ditambahkan ke dalam 100  $\mu$ l serum. DNA virus kemudian dipurifikasi dan diekstraksi dengan menambahkan supensi diatom dalam HCl, bufer pencuci terdiri dari larutan Tris-HCl + GuSCN, etanol 70%, dan aseton. Pemisahan DNA dilakukan dengan menambahkan bufer elusi TE (Tris-EDTA), pemanasan pada suhu 56°C dan sentrifugasi pada kecepatan tinggi (12.000 rpm). Larutan DNA yang didapat selanjutnya dipakai untuk diamplifikasi dengan metode PCR.

**Proses Amplifikasi DNA.VHB.** Amplifikasi DNA dilakukan dengan metode PCR menggunakan alat DNA *thermocycler*. Pada penelitian ini, 2 macam

pasangan primer oligonukleotida yaitu pasangan primer I : PC1 (5'-CATAAGAGGACTCTTGGACT-3') & PC2 (5'-AAAGAATTCAGAAGGCCAAAAACGA-3'), didesain oleh OKAMOTO *et al.* yang dikemukakan oleh WIDJAJA *et al.* [5], dan pasangan primer II: P1 (5'- CAAGGTATGTTGCCCGTTG-3') & P2 (5'-AAAGCCCTGCGAACCACTGA-3') [2], dipakai untuk proses amplifikasi. Penggunaan pasangan primer I (PC1 & PC2) dilakukan dengan 2 perlakuan (perlakuan I.a dan I.b.), yaitu 2 macam komposisi campuran PCR dan 2 macam program untuk proses amplifikasi. Komposisi pertama (I.a.) terdiri dari bufer reaksi 10 mM Tris-HCl & 50 mM KCl, larutan 2,0 mM MgCl<sub>2</sub>, 200  $\mu$ M deoksinukleotida trifosfat (dNTP), konsentrasi primer masing-masing 15 pmol, dan 1 Unit *Taq polymerase*. Perbedaan komposisi larutan PCR pertama dan ke dua (I.b.) adalah penambahan 0,01% larutan gelatin, perubahan konsentrasi, yaitu 2,5 mM MgCl<sub>2</sub>, dan *Taq polymerase* 1,5 Unit sedangkan untuk pasangan primer II (P1 & P2), konsentrasi gelatin yang digunakan 0,02%, konsentrasi primer 1  $\mu$ M, dan *Taq polymerase* 2 Unit. DNA VHB dari sampel yang akan diamplifikasi ditambahkan ke dalam larutan tersebut. Campuran kemudian ditambah dengan mineral oil. Proses amplifikasi dilakukan dengan 3 tahap untuk setiap siklus, yaitu tahap denaturasi, *annealing*, dan *extension*. Tahap denaturasi untuk primer I (PC1 & PC2) campuran larutan PCR pertama (I.a.) dan ke dua, (I.b.) masing-masing adalah sebagai berikut : suhu 94°C, selama 1 menit, dan 95°C, 1 menit, sedangkan untuk pasangan primer II (P1 & P2) suhu yang digunakan 95°C selama 2 menit. Tahap *annealing* dilaksanakan dalam suhu 56°C, selama 1 menit untuk primer I dengan campuran larutan PCR pertama (I.a.), suhu 55°C, 1 menit untuk campuran larutan ke dua (I.b.), dan suhu sama selama 2 menit untuk primer II. Tahap *extension* dilakukan dalam suhu 72°C selama 1 menit untuk pemakaian primer I larutan PCR pertama, (I.a.) suhu yang sama, selama 2 menit untuk larutan PCR ke dua (I.b.), dan suhu 70°C selama 2 menit untuk primer II. Jumlah siklus yang diperlukan baik untuk penggunaan ke dua macam primer tersebut sama, yaitu 35 siklus. Sebagai kontrol positif digunakan DNA dari serum darah pasien dengan DNA VHB positif hasil pemeriksaan dari suatu laboratorium klinik., sedangkan larutan PCR yang ditambah dengan bufer TE 1 x dipakai sebagai kontrol negatif.

**Deteksi DNA Hasil Amplifikasi.** Fragmen DNA hasil amplifikasi sebanyak 8  $\mu$ l setelah ditambah dengan *loading buffer* dianalisis dengan teknik elektroforesis gel agarosa dengan konsentrasi agarosa sebesar 1,5% (b/v). Proses elektroforesis dilakukan dalam bufer TBE (Tris-Borat-EDTA) dengan voltase konstant (100 V). Visualisasi DNA yang telah dielektroforesis, dilakukan dengan mewarnai gel dengan larutan etidium bromida dan memaparkan gel di bawah *UV transilluminator*. Penentuan ukuran berat molekul fragmen DNA hasil amplifikasi dilakukan dengan menggunakan penanda berat molekul (*marker*)  $\phi$ X174 Hae III.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil proses PCR menggunakan pasangan primer I dengan perlakuan I.a. dari 5 buah sampel serum darah dengan HBsAg positif, 1 serum dengan HBsAg positif lemah, 1 serum dengan DNA VHB negatif hasil PCR laboratorium lain, dan 3 serum dengan HBsAg negatif, dapat dilihat pada Gambar 1 dan 2. Dari 5 buah serum darah dengan HBsAg positif (sampel no. 1, 2, 3, 4, 5) ternyata hanya 3 buah sampel serum (sampel no. 1, 3, dan 5), yang menunjukkan DNA VHB positif menggunakan teknik PCR tersebut di atas, yaitu terlihat adanya pita DNA pada gel agarosa (Gambar 1, lajur 3, 5, Gambar 2, lajur 5). Semua serum dengan HBsAg negatif (sampel no. 7, 8., 9) hasil PCRnya juga negatif (Gambar 1, lajur 7 dan Gambar 2, lajur 3, 6). Demikian juga hasil PCR untuk 1 sampel dengan DNA VHB negatif berdasarkan tes PCR dari laboratorium lain, juga menunjukkan hasil negatif, yaitu tidak adanya pita fragmen DBA pada gel agarosa (Gambar 2, lajur 7). Besarnya produk PCR adalah sekitar 283 bp.

Gambar 3 dan 4 menunjukkan hasil proses PCR menggunakan pasangan primer yang sama dengan perlakuan I.b. seperti telah dijelaskan sebelumnya. Dari hasil tersebut terlihat bahwa 5 buah serum positif HBsAg, semuanya menunjukkan hasil PCR positif yaitu adanya fragmen DNA VHB. (Gambar 3, lajur 3, 5, 6, dan Gambar 4, lajur 4, 5), sedangkan 1 buah serum dengan DNA VHB negatif hasil PCR laboratorium lain, dengan tes PCR tersebut, menunjukkan hasil positif (Gambar 4, lajur 7). Sensitivitas tes PCR dengan perlakuan I.b ternyata lebih tinggi. apabila dibandingkan perlakuan I.a., meskipun sekwens primernya sama, namun komposisi larutan sangat berpengaruh di samping juga program untuk proses amplifikasi. Optimasi amplifikasi sangat berpengaruh terhadap sensitivitas dan spesifisitas reaksi amplifikasi. Faktor yang sangat berperan pada optimasi PCR antara lain adalah konsentrasi kation divalen ( $Mg^{++}$ ) dalam larutan  $MgCl_2$ , konsentrasi enzim, konsentrasi nukleotida, konsentrasi primer, larutan tambahan untuk proses PCR, suhu untuk *annealing* dll. seperti misalnya konsentrasi ion magnesium apabila terlalu rendah menurunkan efisiensi reaksi sedangkan terlalu tinggi menurunkan spesifisitas. Demikian juga konsentrasi enzim (*Taq polymerase*) terlalu rendah menurunkan efisiensi amplifikasi dan konsentrasi terlalu tinggi menghasilkan fragmen DNA non spesifik [12]. Tes PCR dari laboratorium lain pada 1 sampel serum (sampel no. 10) menunjukkan hasil negatif, namun dengan tes PCR dalam penelitian ini (I.b.) menunjukkan hasil positif (Gambar 4, lajur 7). Salah satu kemungkinan yang menyebabkan adalah pasangan primer oligonukleotida yang digunakan dalam penelitian ini yaitu primer PC1 & PC2 (I.b.) lebih sensitif dibandingkan dengan primer dari laboratorium yang sebelumnya telah menganalisis sampel tersebut. Peneliti terdahulu menyatakan sensitivitas primer PC1 & PC2 cukup tinggi yaitu 0,1 pg/ml DNA VHB dalam serum [5].

Analisis produk PCR menggunakan pasangan primer II (P1 & P2) diperlihatkan pada Gambar 5 dan 6. Gambar tersebut menunjukkan 5 buah sampel serum dengan HBsAg positif, juga menunjukkan hasil positif dengan tes PCR tersebut (Gambar 5, lajur 3, 4, 5 dan Gambar 6, lajur 3, 4). dan hasil positif juga diperoleh dari 1 sampel negatif berdasarkan tes PCR dari laboratorium lain (sampel no. 10) (Gambar 6, lajur 7) Besarnya fragmen DNA hasil amplifikasi adalah 259 bp. Data lain menyatakan dari 3 buah serum HBsAg negatif, 1 serum menunjukkan hasil positif, yaitu sampel no. 8 dengan fragmen DNA yang dihasilkan lebih kecil dari 259 bp. (Gambar 6, lajur 5). Berdasarkan sekwens dari genom VHB, ukuran fragmen DNA tersebut yang lebih kecil, kemungkinan disebabkan adanya beberapa basa pada genom tersebut (TCAGT) pada lokasi berbeda yang berkomples dengan beberapa basa (AGTCA) dari primer oligonukleotida P2 [13]. Sensitivitas teknik PCR menggunakan primer P1 & P2 lebih tinggi dibanding dengan menggunakan primer PC1 & PC2. Primer ini didesain dari gen HBs sedangkan PC1 & PC2 didesain dari daerah *precore/core* VHB. Sebagaimana telah dijelaskan 1 sampai dengan 10 ag DNA VHB (setara dengan 1 sampai dengan 10 genom virus) dapat dideteksi dengan teknik tersebut (2). Menurut penelitian MULYONO [14], serum HBsAg negatif dapat mengandung DNA VHB. Kemungkinan yang terjadi adalah adanya VHB spesifik berkaitan dengan daerah geografi. Dilaporkan adanya individu non-responsif terhadap vaksinasi dengan munculnya VHB yang mengalami mutasi pada antigen permukaan (HBsAg) dan kemungkinan mutan HBsAg tidak terdeteksi dengan reagen yang ada.

Semua tes PCR yang dilakukan dalam penelitian ini pada sampel dengan HBsAg positif lemah, menunjukkan hasil negatif. Hal ini mungkin disebabkan VHB sudah tidak mengadakan replikasi atau perlu dilakukan suatu teknik yang lebih sensitif seperti *nested PCR* ataupun teknik PCR dilanjutkan dengan teknik hibridisasi yang dideteksi dengan pelacak DNA berlabel radioaktif. Menurut BONINO *et al.*, MATSUYAMA *et al.*, dan NEGRO *et al.* yang dikutip oleh YOKOSUKA *et al.* [15], terdapatnya DNA VHB dalam serum, menunjukkan adanya replikasi virus dan bersifat sangat *infectious*.

## KESIMPULAN

Deteksi adanya VHB dalam serum darah dengan teknik PCR menggunakan primer oligonukleotida P1 & P2 lebih sensitif dibanding dengan pasangan primer PC1 & PC2. Sedangkan penggunaan primer PC1 & PC2 dengan 2 perlakuan (I.a. & I.b.) menunjukkan tes PCR I.b. lebih sensitif dari pada I.a.

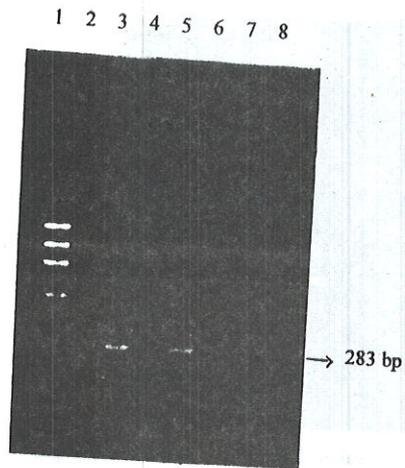
Sensitivitas teknik PCR dalam penelitian ini dapat ditingkatkan dengan menggunakan teknik yang lebih sensitif yaitu *nested PCR* atau teknik PCR dilanjutkan hibridisasi dan deteksi dengan menggunakan pelacak DNA berlabel radioaktif.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Sdr. Almaida, Sdr. Suheni, dan Sdr. Rika Heryani atas bantuan yang diberikan sehingga penelitian ini dapat terlaksana dengan baik dan lancar.

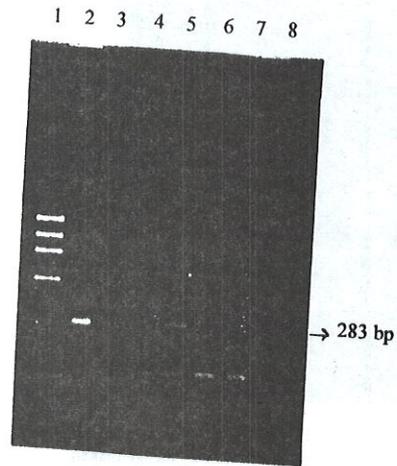
## DAFTAR PUSTAKA

1. HOLLINGER, F.B. Hepatitis B virus. In *Fields Virology* vol. 2, Fields, B.N., Knipe, D.M., Howley, P.M., Chanock, R.M., Melnick, J.L., and Straus, S.E. (eds.), 3<sup>rd</sup> edition, Lippincott-Raven Publisher, Philadelphia-New York (1999).
2. YOKOSUKA, O., TAGAWA, M., and OMATA, M. PCR detection of hepatitis B virus. In *Diagnostic Molecular Microbiology. Principles and Applications*, Persing, D.H., Smith, T.F., Tenover, F.C., and White, T.J. (eds.), American Society for Microbiology, Washington D.C. (1993).
3. CHISARI, F.V., and FERRARI, C. Viral hepatitis. In *Viral Pathogenesis*, Nathanson, N. *et al.* (eds.), Lippincott-Raven Publisher, Philadelphia - New York (1997).
4. DALIMARTHA, S. Ramuan tradisional untuk pengobatan hepatitis. Penerbit PT. Penebar Swadaya, edisi ke dua, Jakarta (1998).
5. WIDJAJA, S. Epidemiology of hepatitis B and hepatitis C virus infection in an urban area in Jakarta, Indonesia : A hospital and population based study. Thesis for the degree of Doctor in de Medische Wetenschappen, Leuven (1996).
6. BUDIUSODO, U., SULAIMAN, H.A., AKBAR, H.N. *et al.* Seroepidemiology of HBV and HCV infection in Jakarta, Indonesia. *Gastroenterology* 26 196 - 201 (1991).
7. ESCOBAR, M.R. Chronic viral hepatitis. In *Clinical Virology Manual*, Specter, S., and Lancz, G.J.(eds.), Elsevier Science Publishing Company Inc., New York (1986).
8. YAP, S.F., WONG, P.W., GOH, K.L., and WONG, N.W. A study of the frequency of infection of peripheral blood mononuclear cells of chronic hepatitis B virus carriers using the polymerase chain reaction and hybridization analysis. In *Radionuclides in Molecular Technology for Diagnosis of Communicable Diseases*, IAEA-TECDOC- 748, IAEA, Austria (1994).
9. PEREIRA, B.J.G., EDGAR, L., MILFORD, KIRMAN, R.L., and LEVEY, A.S. Transmission of hepatitis C virus by organ transplantation. *N. Eng. J. Med.* 325 7(1991).
10. NAZLY HILMY. Perkembangan bank jaringan di Indonesia. *Buletin Batan* (1999)
11. BOOM, R., SOL, C.J.A., SALIMANS, M.M.M., JANSEN, C.L., WERTHEIM van DILLEN, P.M.E., and van der NOORDAA, J. Rapid and simple methods for purification of nucleic acids. *J. Clin. Microbiol.* 28 3 (1990) 495 - 503.
12. PERSING, D.H. Target selection and Optimization of Amplification Reactions. In *Diagnostic Molecular Microbiology. Principles and Applications*, Persing, D.H., Smith, T.F., Tenover, F.C., and White, T.J. (eds.), American Society for Microbiology, Washington D.C. (1993).
13. Komunikasi pribadi
14. MULYONO, D.H. Indonesian specific hepatitis B virus : In search for the ideal prototype for the design of vaccine and laboratory detection. International Meeting on Liver Diseases. Gran Melia, Jakarta, Indonesia September 14 - 16 (2001).
15. YOKOSUKA, O., OMATA, M., HOSUDA, K., TADA, M., EHATA, T., and OHTO, M. Detection and direct sequencing of hepatitis B virus genome by DNA amplification method. *Gastroenterology* 100 (1991) 175 - 181.



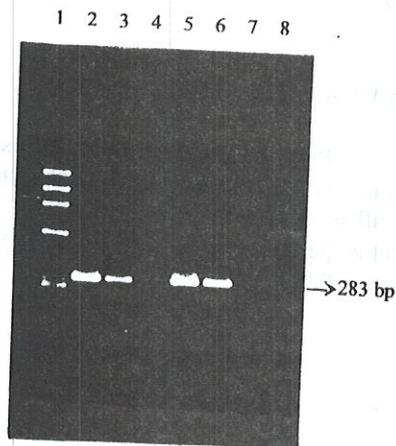
Gambar 1 Hasil PCR VHB dari serum dengan primer PC1 & PC2 (I.a.) menggunakan teknik elektroforesis gel agarosa

- Lajur 1 : Marker  $\phi$ X174 Hae III
- Lajur 2 : Kontrol +
- Lajur 3 : Sampel 1 (HBsAg +)
- Lajur 4 : Sampel 2 (HBsAg +)
- Lajur 5 : Sampel 3 (HBsAg +)
- Lajur 6 : Sampel 6 (HBsAg + lemah)
- Lajur 7 : Sampel 7 (HBsAg -)
- Lajur 8 : Kontrol -



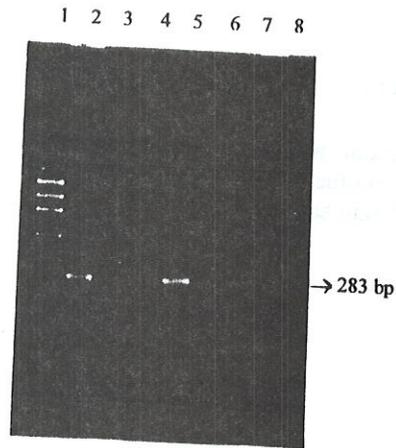
Gambar 2. Hasil PCR VHB dari serum dengan primer PC1 & PC2 (I.a.) menggunakan teknik elektroforesis gel agarosa.

- Lajur 1 : Marker  $\phi$ X174 Hae III
- Lajur 2 : Kontrol +
- Lajur 3 : Sampel 8 (HBsAg -)
- Lajur 4 : Sampel 4 (HBsAg +)
- Lajur 5 : Sampel 5 (HBsAg +)
- Lajur 6 : Sampel 9 (HBsAg -)
- Lajur 7 : Sampel 10 (DNA VHB -)
- Lajur 8 : Kontrol -



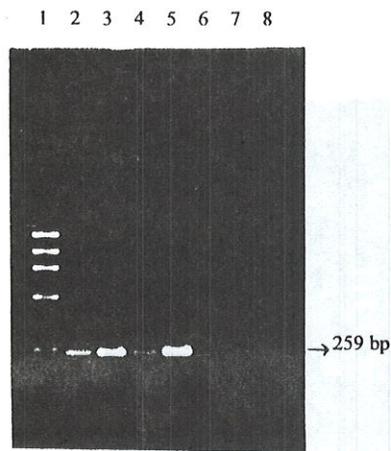
Gambar 3 Hasil PCR VHB dari serum dengan primer PC1 & PC2 (I.b.) menggunakan teknik elektroforesis gel agarosa

- Lajur 1 : Marker  $\phi$ X174 Hae III
- Lajur 2 : Kontrol +
- Lajur 3 : Sampel 2 (HBsAg +)
- Lajur 4 : Sampel 7 (HBsAg -)
- Lajur 5 : Sampel 1 (HBsAg +)
- Lajur 6 : Sampel 3 (HBsAg +)
- Lajur 7 : Sampel 6 (HBsAg + lemah)
- Lajur 8 : Kontrol -



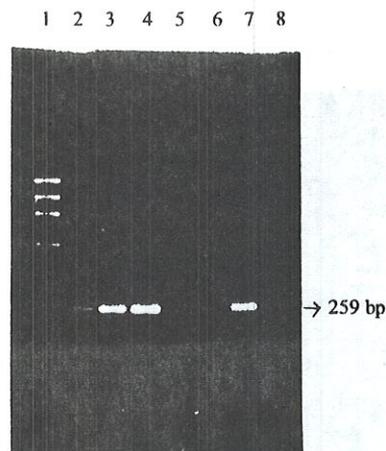
Gambar 4. Hasil PCR VHB dari serum dengan primer PC1 & PC2 (I.b.) menggunakan teknik elektroforesis gel agarosa.

- Lajur 1 : Marker  $\phi$ X174 Hae III
- Lajur 2 : Kontrol +
- Lajur 3 : Sampel 8 (HBsAg -)
- Lajur 4 : Sampel 4 (HBsAg +)
- Lajur 5 : Sampel 5 (HBsAg +)
- Lajur 6 : Sampel 9 (HBsAg -)
- Lajur 7 : Sampel 10 (DNA VHB -)
- Lajur 8 : Kontrol -



Gambar 5 Hasil PCR VIIB dari serum dengan primer P1 & P2 menggunakan teknik elektrodispresis gel agarosa

Lajur 1 : Marker  $\phi$ X174 Hae III  
Lajur 2 : Kontrol +  
Lajur 3 : Sampel 1 (HBsAg +)  
Lajur 4 : Sampel 2 (HBsAg +)  
Lajur 5 : Sampel 3 (HBsAg +)  
Lajur 6 : Sampel 6 (HBsAg +lemah)  
Lajur 7 : Sampel 6 (HBsAg -)  
Lajur 8 : Kontrol -



Gambar 6. Hasil PCR VIIB dari serum dengan primer P1 & P2 menggunakan teknik elektroforesis gel agarosa.

Lajur 1 : Marker  $\phi$ X174 Hae III  
Lajur 2 : Kontrol +  
Lajur 3 : Sampel 4 (HBsAg +)  
Lajur 4 : Sampel 5 (HBsAg +)  
Lajur 5 : Sampel 8 (HBsAg -)  
Lajur 6 : Sampel 9 (HBsAg -)  
Lajur 7 : Sampel 10 (DNA VHB -)  
Lajur 8 : Kontrol -

## DISKUSI

KRISNA LUMBANRAJA

Anda menggunakan alat baru (PCR) apakah anda sudah dapat mengkomersilkan ? dan berapakah biaya operasional untuk satu sampel ?

MARIA LINA

PCR (DNA Thermocycler) sudah ada sejak 7 tahun yang lalu, alat ini sudah dapat dikomersilkan asalkan dana pendukungnya cukup, biaya operasional untuk persatu sampel pemeriksaan virus hepatitis B ± Rp. 400.000,-