



Hubungan antara kadar serum hepatitis B PreS1 antigen (PreS1-Ag) dengan HBV DNA pada pasien hepatitis B kronis

Monika Evelyn Hanjoyo^{1*}, Hani Susianti², Vincentia Maria Iriane³, I Putu Adi Santosa²



DOI : 10.36216/jpd.v5i2.173

Background: Chronic hepatitis B (CHB) prevalence in Indonesia is high, which some potentially develop cirrhosis and HCC complications with a high mortality rate. HBV DNA is the gold standard for diagnosis, but not all laboratories are equip with PCR. Serological markers are the alternative choice where PCR is not available. PreS1-Ag is one of the biomarkers that is considered to describe HBV infectivity well due to its function in initiating HBV entry into hepatocytes.

Objective: To determine the correlation between PreS1-Ag and HBV DNA levels in CHB patient.

Methods: We conducted a cross-sectional study with consecutive sampling in CHB patients at Dr. Saiful Anwar General Hospital Malang. The subjects were divided into 2 groups, positive and negative HBV DNA. PreS1-Ag was measured by ELISA method and HBV DNA by real-time PCR. Comparative test using Mann-Whitney test. Correlation between PreS1-Ag and HBV DNA was tested using Spearman's correlation, where $p < 0.05$ considered significant.

Result: Seventy samples was collected, 47 (67.1%) were positive HBV and 23 (32.9%) were negative HBV. There was no significant difference in age and gender between 2 groups. Median level of PreS1-Ag (8.68 ng/mL vs 3.67 ng/mL) and HBV DNA (19600 IU/mL vs 0.22 IU/mL) were higher in positive HBV DNA group. The Spearman's test showed positive correlation between PreS1-Ag and HBV DNA with moderate correlation ($r = 0.629$; $p < 0.05$).

Conclusion: There is a moderate positive correlation between PreS1-Ag and HBV DNA levels CHB patients. The higher HBV DNA level, the higher PreS1-Ag.

Keywords: PreS1-Ag, HBV DNA, chronic hepatitis B.

Latar Belakang: Prevalensi hepatitis B kronis (HBK) di Indonesia masih cukup tinggi, sebagian diantaranya berpotensi mengalami komplikasi sirosis dan HCC dengan angka kematian yang tinggi. HBV DNA merupakan pemeriksaan baku emas untuk diagnosis dan inisiasi terapi, namun tidak semua laboratorium memiliki pemeriksaan PCR. Marker pemeriksaan serologi dapat menjadi pilihan alternatif dalam penegakan diagnosis pasien HBK di tempat-tempat dengan keterbatasan PCR. PreS1-Ag merupakan salah satu biomarker yang dipercaya menggambarkan infektivitas HBV dengan baik karena berfungsi mengawali masuknya HBV ke dalam hepatosit.

Tujuan: Tujuan penelitian ini untuk mengetahui korelasi antara kadar PreS1-Ag dan HBV DNA pada pasien HBK.

Metode: Desain penelitian adalah studi *cross-sectional* dengan metode *consecutive sampling* pada pasien HBK di RSUD Dr. Saiful Anwar Malang. Subjek penelitian dibedakan menjadi kelompok HBV DNA positif dan negatif. Pengukuran PreS1-Ag menggunakan metode ELISA dan HBV DNA menggunakan metode *real-time* PCR. Uji beda dengan *Mann-Whitney test*. Uji korelasi antara kadar PreS1-Ag dan HBV DNA menggunakan *Spearman test*, dimana $p < 0,05$ dianggap signifikan.

Hasil: Tujuh puluh sampel terkumpul, 47 (67,1%) HBV positif dan 23 (32,9%) HBV negatif. Tidak didapatkan perbedaan signifikan usia dan jenis kelamin antara kedua kelompok. Median kadar PreS1-Ag (8,68ng/mL dibanding 3,67ng/mL) dan HBV DNA (19.600 IU/mL dibanding 0,22 IU/mL) didapatkan lebih tinggi pada kelompok HBV DNA positif. Hasil *Spearman test* menunjukkan korelasi positif antara kadar PreS1-Ag dan HBV DNA dengan kekuatan sedang ($r = 0,629$; $p < 0,05$).

Simpulan: Terdapat korelasi positif antara kadar PreS1-Ag dan HBV DNA pada pasien HBK, semakin tinggi kadar HBV DNA semakin tinggi pula kadar PreS1-Ag.

Kata kunci: PreS1-Ag, HBV DNA, hepatitis B kronis.

¹PPDS Patologi Klinik, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya/RSUD Dr. Saiful Anwar, Malang, Indonesia;

²Departemen/SMF Patologi Klinik, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, RSUD Dr. Saiful Anwar, Malang, Indonesia;

³Departemen Patologi Klinik RSUD Lawang, Malang, Indonesia;

*Korespondensi:

Monika Evelyn Hanjoyo;
PPDS Patologi Klinik, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya/RSUD Dr. Saiful Anwar, Malang, Indonesia;
moniq.evelyn@gmail.com

Tanggal diterima : 18 Juli 2021

Tanggal Disetujui : 29 Agustus 2021

Tanggal Diterbitkan : 28 Desember 2021

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara dengan endemisitas tinggi hepatitis B, terbesar kedua di *South East Asian Region*

(SEAR) setelah Myanmar.¹ Diperkirakan sejumlah 240 juta orang di dunia terinfeksi hepatitis B secara kronis (HBK), 20% hingga 30% dari HBK akan mengalami komplikasi berupa sirosis dan *hepatocellular carcinoma* (HCC) dengan tingkat



kematian diperkirakan mencapai 650.000 orang per tahun.²

Hepatitis B virus DNA (HBV DNA) merupakan pemeriksaan baku emas untuk mendiagnosis hepatitis B dan kadarnya dijadikan acuan untuk memulai terapi antivirus pada pasien HBK.³ Pemeriksaan HBV DNA menggunakan metode amplifikasi asam nukleat dengan *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Namun pemeriksaan PCR memerlukan waktu yang lama serta memakan biaya yang relatif mahal, disebabkan karena pengerjaannya memerlukan alat yang kompleks, persiapan khusus, serta tenaga terlatih, sehingga tidak semua laboratorium memilikinya. Marker pemeriksaan serologi (deteksi antigen atau antibodi) dapat menjadi pilihan alternatif yang membantu para klinisi dalam menegakkan diagnosis, menentukan fase infeksi, pemantauan terapi, serta penentuan prognosis pasien HBK di tempat-tempat dengan keterbatasan PCR.

PreS1 antigen (PreS1-Ag) terletak di bagian distal dari protein HBsAg yang terdapat pada semua virion matur.⁴ Fungsinya adalah untuk mengawali masuknya HBV ke dalam hepatosit melalui ikatan spesifik dengan reseptor NTCP (*Sodium taurocholate cotransporting polypeptide*) di permukaan hepatosit.⁵ Berdasarkan kemampuannya tersebut, maka PreS1-Ag dipercaya sebagai biomarker yang baik untuk menggambarkan infektivitas HBV.⁶ Infektivitas virus didefinisikan sebagai kemampuan virus untuk memasuki sel inang dan memanfaatkannya untuk bereplikasi dan memproduksi virus lain yang kemudian menyebabkan infeksi dan penyakit lanjutan pada inang.⁷ Namun penelitian mengenai peranan PreS1-Ag pada HBK masih sangat sedikit terutama di Indonesia, sehingga marker tersebut menarik untuk diteliti lebih lanjut. Penelitian ini bertujuan untuk mencari hubungan antara kadar PreS1-Ag dengan HBV DNA pada pasien HBK.

METODE

Penelitian ini merupakan studi *cross-sectional* dengan metode *consecutive sampling* terhadap pasien-pasien HBK yang dilakukan perawatan (rawat inap atau rawat jalan) di RSUD Dr. Saiful Anwar Malang yang bersedia mengikuti penelitian ini pada tahun 2021. Diagnosis HBK dibuktikan dengan hasil HBsAg dan/atau HBV DNA persisten selama 6 bulan atau lebih. Adapun kriteria inklusi subjek penelitian yaitu berusia ≥ 18 tahun yang didiagnosis HBK baik yang telah mendapatkan terapi ataupun belum. Pasien dengan koinfeksi virus hepatitis C dieksklusi. Subjek penelitian yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi kemudian diperiksa HBV DNA dan PreS1-Ag secara bersamaan dan dibedakan menjadi dua kelompok berdasarkan kadar HBV DNA, yaitu HBV DNA positif dan HBV DNA negatif.

Sampel pasien yang diperiksa berupa serum.

Pemeriksaan HBV DNA menggunakan AccuPower® BIONEER *real-time* PCR secara kuantitatif menghasilkan satuan IU/mL. Batas bawah deteksi alat PCR HBV DNA adalah 6,02 IU/mL, dan hasilnya dikatakan positif apabila kadarnya ≥ 15 IU/mL. Pemeriksaan PreS1-Ag menggunakan Human Hepatitis B Virus Pre-S1 Antigen ELISA Kit MyBioSource katalog No. MBS030791 dengan metode *sandwich Enzyme-linked Immunosorbent Assay* (ELISA) secara kuantitatif dengan satuan ng/mL. Rentang pengukurannya adalah 0,25 – 8 ng/mL.

Analisis statistik menggunakan *software IBM SPSS Statistics 25*. Uji normalitas menggunakan *Kolmogorov-Smirnov*. Nilai-nilai dengan distribusi normal disajikan sebagai rerata $\pm$ standar deviasi dan nilai dengan distribusi tidak normal disajikan sebagai median(Q1-Q3). Variabel kategorikal disajikan dalam angka dan persentase. Uji komparasi menggunakan *independent T-test* untuk menganalisa perbedaan usia dan *Mann-Whitney test* untuk menganalisa perbedaan kadar PreS1-Ag dan HBV DNA antara kedua grup. Chi-square digunakan untuk membandingkan jenis kelamin antara kedua grup. Hubungan antara kadar PreS1-Ag dengan HBV DNA dianalisa dengan *Spearman correlation*. Nilai $p < 0,05$ dianggap signifikan.

HASIL

Terdapat 70 orang subjek penelitian dengan HBK yang dilibatkan dalam penelitian ini, terdiri dari kelompok dengan HBV positif (67,1%) dan HBV negatif (32,9%). Sebagian besar sampel adalah laki-laki baik pada kelompok HBV positif (55,3%) maupun HBV negatif (60,9%), namun tidak berbeda signifikan. Demikian pula halnya dengan usia subjek, tidak ditemukan perbedaan signifikan pada kedua kelompok. Terdapat perbedaan signifikan pada kadar PreS1-Ag dan HBV DNA antara kedua kelompok (*Tabel 1*).

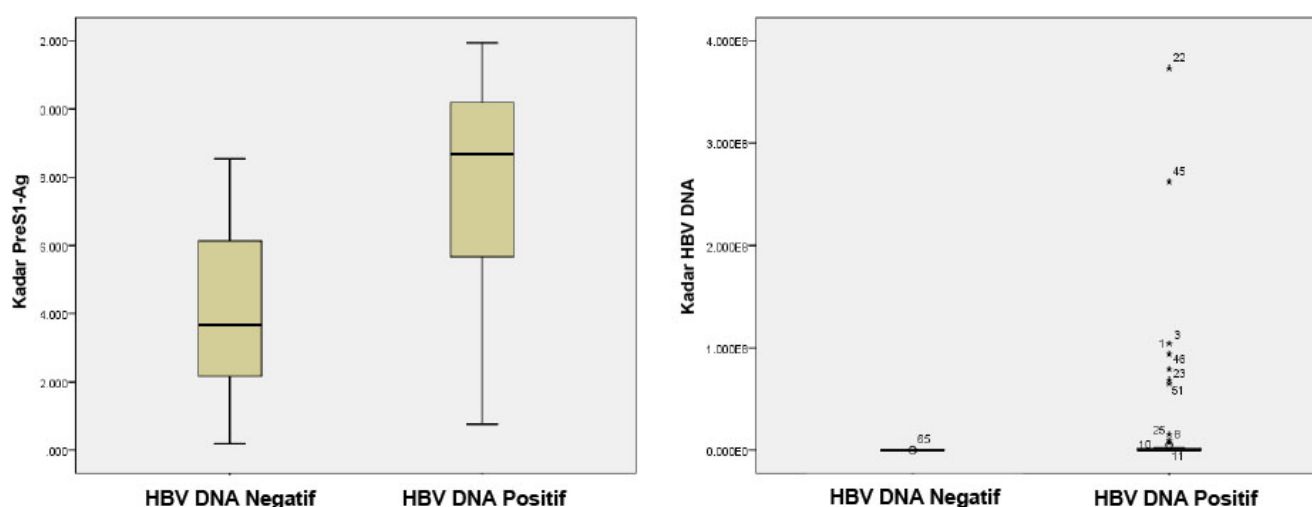
Hasil uji komparatif *Mann-Whitney* menunjukkan perbedaan bermakna kadar PreS1-Ag dan HBV DNA pada dua kelompok pasien, dimana kadarnya ditemukan lebih tinggi pada kelompok HBV positif. *Gambar 1* menunjukkan median PreS1-Ag (8,68 ng/mL dibanding 3,67 ng/mL; $p = < 0,001$) dan median HBV DNA (19.600 IU/mL dibanding 0,22 IU/mL; $p = < 0,001$) pada kelompok HBV DNA positif lebih tinggi daripada kelompok HBV DNA negatif.

Hubungan antara kadar PreS1-Ag dan HBV DNA yang dianalisa menggunakan *Spearman correlation* pada *Gambar 2* menunjukkan adanya korelasi positif antara kadar PreS1-Ag dengan HBV DNA ($r = 0,629$; $p < 0,001$). Peningkatan PreS1-Ag sebagai marker infektivitas sebanding dengan peningkatan HBV DNA sebagai marker baku emas diagnosis infeksi hepatitis B.

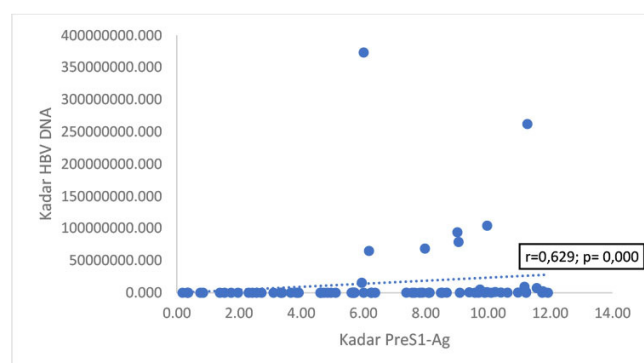
Tabel 1. Karakteristik Subjek Penelitian.

Karakteristik	HBV Positif (n = 47)	HBV Negatif (n = 23)	p value
			0,798
Jenis Kelamin, n (%)			
Laki-laki	26 (55,3%)	14 (60,9%)	
Perempuan	21 (44,7%)	9 (39,1%)	
Usia, tahun, (rerata ± SB)	41,21 ± 12.68	41,61 ± 14.58	0,912
PreS1-Ag, ng/mL, median (Q1-Q3)	8,68 (5,62 – 10,24)	3,67 (1,75 – 6,25)	< 0,001
HBV DNA, IU/mL, median (Q1-Q3)	19600 (339 – 2240000)	0,22 (0 – 2,21)	< 0,001

HBV DNA, Hepatitis B Virus DNA; PreS1-Ag, PreS1 Antigen; SB, Simpang baku



Gambar 1. Kadar PreS1-Ag dan HBV DNA antara kelompok HBV DNA positif dengan HBV DNA negatif.



Gambar 2. Korelasi antara kadar PreS1-Ag dan HBV DNA.

DISKUSI

PreS1 antigen merupakan bagian dari protein LHBs (*Large HBs*) yang terdapat pada virion matur yang infeksius.⁴

Terdapat tiga macam protein *envelope* yaitu *large* (L), *middle* (M), dan *small* (S) *surface* antigen. L protein terdiri dari domain S, pre-S2, dan preS1. M protein terdiri dari domain S dan pre-S2, tanpa preS1. Sedangkan S protein hanya terdiri dari domain S. Ketiga protein ini akan disekresikan dalam jumlah yang berbeda. Pada virion matur (partikel Dane), LHBs, MHBs, dan SHBs disekresikan pada *envelope* dengan perbandingan 1:1:4. Domain PreS1 adalah bagian terpenting dari virion matur, karena dia menjadi regio yang akan berikatan dengan reseptor hepatosit, sehingga PreS1 harus dikeluarkan dari hepatosit bersama dengan seluruh virion. Virion matur yang dilengkapi oleh PreS1-Ag ini akan siap menginfeksi hepatosit lain yang masih sehat hingga tercetuslah respon imun *host* yang menyebabkan proses nekroinflamasi hepatosit.^{4,8}

PreS1-Ag mengandung *receptor-binding site* hepatosit.⁹ Liu dkk. mengemukakan bahwa PreS1 antigen secara langsung berpartisipasi dalam ikatan dengan reseptor NTCP (*Sodium*



taurocholate cotransporting polypeptide receptor) di hepatosit.¹⁰ Reseptor NTCP merupakan transporter asam empedu. NTCP diekspresikan di membran basolateral sel hepatosit, yang terbuka ke ruang Disse dan terpisah dari aliran darah oleh fenestrata endothelium. Reseptor NTCP bersifat spesifik terhadap PreS1-Ag sehingga membuat HBV menjadi spesifik hanya menginfeksi organ hati. Ikatan antara PreS1Ag dengan NTCP kemudian akan menginisiasi masuknya virion yang berlangsung secara endositosis.⁵ Kemampuannya tersebut menjadi alasan yang masuk akal bagi Lin untuk mempercayai PreS1-Ag sebagai biomarker yang baik dalam menggambarkan infektivitas HBV.⁶ Penelitian Liu menyimpulkan bahwa terdapat korelasi yang baik antara HBV DNA dan PreS1-Ag ($X^2 = 36,01$, $p < 0,001$).¹⁰ Penelitian Zhang juga melaporkan korelasi yang baik antara kedua marker tersebut dengan $r = 0,628$.¹¹ Hasil kedua penelitian tersebut sesuai dengan penelitian ini dimana didapatkan korelasi positif antara PreS1-Ag dengan HBV DNA ($r = 0,629$; $p = 0,000$). Beberapa laporan menyebutkan bahwa hilangnya PreS1 antigen dari serum dengan hepatitis B akut berkorelasi dengan hilangnya gejala klinis.⁹ Jurnal lain mengatakan bahwa konsentrasi PreS1-Ag menggambarkan replikasi HBV terutama pada populasi dengan HBeAg negatif. Pada HBK, serum PreS1-Ag yang persisten mengindikasikan suatu progresifitas penyakit, sehingga pemantauan serum PreS1Ag disarankan untuk mengevaluasi efikasi terapi antiviral.⁹ Keterbatasan penelitian ini adalah desain studi *cross-sectional* yang menyebabkan tidak dapat dinilainya peranan marker-marker tersebut terhadap perjalanan klinis, prognosis dan terapi HBK di masa mendatang.

Sebagai tambahan, pada penelitian Liu dan Zhang dianalisis juga korelasi antara HBV DNA dan HBeAg. HBeAg telah secara luas dikenal sebagai marker replikasi yang menggambarkan infektivitas HBV.¹² Pada kedua penelitian tersebut didapatkan korelasi yang lebih kuat antara HBV DNA dengan PreS1-Ag daripada HBV DNA dengan HBeAg.^{10,11} Salah satu penyebab yang dipaparkan yaitu akibat adanya mutasi pada regio *precore* yang menyebabkan tidak terbentuknya HBeAg.¹⁰ Penyebab lain yang mungkin adalah karena pada siklus hidupnya HBeAg tidak turut dimasukkan ke dalam virion matur, tetapi antigen ini disekresikan secara bebas oleh sel terinfeksi sebagai pengalih respon imun, berbeda dengan PreS1-Ag yang selalu didapatkan bersamaan dengan HBV DNA pada virion matur.^{4,8,13} Penyebab lain yang dipaparkan adalah akibat fase HBK yang dinamis.¹⁴ Penelitian Liu juga menyimpulkan PreS1-Ag memiliki sensitivitas yang baik sebagai marker infektivitas.¹⁰

Penelitian ini memiliki kelemahan. Penelitian ini menggunakan desain *cross-sectional* sehingga perjalanan klinis dikaitkan dengan marker tersebut tidak dapat diketahui. Selain itu, hubungan antara PreS1-Ag dengan prognosis

dan pengaruh terapi juga belum dilakukan. Penelitian lebih lanjut dapat menggunakan desain kohort untuk mengikuti perjalanan klinis pasien serta melihat prognosis dan pengaruh terapi antivirus terhadap marker tersebut. Penelitian lebih lanjut mengenai uji diagnostik PreS1-Ag dalam mendiagnosis hepatitis B juga dibutuhkan.

SIMPULAN

Terdapat korelasi positif antara kadar PreS1-Ag dan HBV DNA pada pasien Hepatitis B Kronis. Penanda PreS1-Ag yang makin tinggi berkaitan dengan jumlah HBV DNA yang makin tinggi.

KONFLIK KEPENTINGAN

Penulis menyatakan tidak terdapat konflik kepentingan terkait publikasi dari penelitian ini.

ETIKA PENELITIAN

Penelitian ini telah mendapatkan persetujuan dari Komite Etik RSUD Dr. Saiful Anwar Malang.

PENDANAAN

Penelitian ini tidak mendapatkan bantuan dana hibah dari pemerintah maupun sektor swasta lainnya.

KONTRIBUSI PENELITIAN

Seluruh penulis memiliki kontribusi yang sama dalam laporan penelitian ini baik dari penyusunan kerangka konsep, pengumpulan data, analisis data, hingga interpretasi hasil penelitian dalam bentuk publikasi ilmiah.

DAFTAR PUSTAKA

1. Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan RI. Situasi dan Analisis Hepatitis. 2014. [Diunduh dari: <https://pusdatin.kemkes.go.id/download.php?file=download/pusdatin/infodatin/infodatin-hepatitis.pdf>]
2. World Health Organisation. Guideline for the prevention, care and treatment of persons with chronic hepatitis B infection. 2015. [Diunduh dari: <https://www.who.int/publications/i/item/9789241549059>]
3. World Health Organisation. Guidelines for the prevention, care and treatment of persons with chronic hepatitis B infection. 2015. [Diunduh dari: <https://apps.who.int/iris/rest/bitstreams/688548/retrieve>]
4. Wu CC, Chen YS, Cao L, Chen XW, Lu MJ. Hepatitis B virus infection: defective surface antigen expression and pathogenesis. *World J Gastroenterol*. 2018;24(31):3488–3499.
5. Seeger C, Mason WS. Molecular biology of hepatitis B virus infection. *Virology*. 2015;479–480:672–686.
6. Lin WL, Hung JH, Huang W. Association of the hepatitis B virus large surface protein with viral infectivity and endoplasmic reticulum stress-mediated liver carcinogenesis. *Cells*. 2020;9(9):2052.
7. Rodríguez-Lázaro D, Kovac K, Hernández M. Molecular detection of viruses in foods and food-processing environments. *Viruses in Food and Water*. 2013;49–78.
8. Balmasova IP, Yushchuk ND, Mynbaev OA, dkk. Immunopathogenesis



Print ISSN: 2580-2925
Online ISSN: 2580-2933

ARTIKEL ASLI

Jurnal Penyakit Dalam Udayana
Udayana Journal of Internal Medicine
Volume 5, No 2: 2021 ; 32-36

- of chronic hepatitis B. *World J Gastroenterol*. 2014;20(39):14156–14171.
9. Hu Z, Li M, Huang B, dkk. Detection of hepatitis B virus PreS1 antigen using a time-resolved fluoroimmunoassay. *J Immunoass Immunochem*. 2012;33(2):156–165.
10. Liu X, Chen JM, Lou JL, dkk. Correlation between hepatitis B virus DNA levels and diagnostic tests for HBsAg, HBeAg, and PreS1-Ag in chronic hepatitis B. *Genet Mol Res*. 2016;15(2):1–9.
11. Zhang X, Ren S, Yu H, dkk. The clinical significance of PreS1Ag and anti-PreS1 in patients with chronic hepatitis B. *Chinese J Hepatol*. 2011; 19(9):674–677.
12. Liang TJ. Hepatitis B: The virus and disease. *Hepatology*. 2009;49(5 Suppl):S13–21.
13. Lamontagne RJ, Bagga S, Bouchard MJ. Hepatitis B virus molecular biology and pathogenesis. *Hepatoma Res*. 2016;2(7):163.
14. Seto WK, Lo YR, Pawlotsky JM, dkk. Chronic hepatitis B virus infection. *Lancet*. 2018;392(10161):2313–2324.



This work is licensed under a
[Creative Commons Attribution 4.0
International License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).