

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Hepatitis B merupakan penyakit yang telah menjadi permasalahan kesehatan global. Virus hepatitis B dapat menyebabkan infeksi akut (jangka pendek) maupun infeksi kronis (jangka panjang) (Learned, 2006). Pada infeksi kronis, virus terus bereproduksi dalam hati sehingga dapat menyebabkan kerusakan parah pada hati seperti sirosis dan *hepatocellular carcinoma* (HCC) atau kanker hati (Learned, 2006). *Hepatitis B virus* (HBV) bahkan 100 kali lebih infeksius dari pada *human immunodeficiency virus* (HIV) (Learned, 2006). Saat ini diperkirakan bahwa di dunia terdapat kira-kira 400 juta kasus hepatitis B kronis, dan dari jumlah ini sekitar 75% terdapat di Asia (Nuraeny, 2007). Data dari Departemen Kesehatan Indonesia menyebutkan bahwa terdapat 14-16 juta orang Indonesia yang terinfeksi HBV dan 200.000 orang meninggal dunia karena hepatitis B setiap tahunnya (Achmadi, 2002).

Vaksinasi merupakan cara terbaik dalam pencegahan infeksi HBV (Youm *et al.*, 2006; Learned, 2006). Pemberian vaksin dapat mencegah 95% infeksi kronis hepatitis B dan kanker hati (Nuraeny, 2007). Pengendalian infeksi HBV tergantung pada ketersediaan vaksin yang aman, efektif dan terjangkau oleh masyarakat. Vaksin hepatitis B generasi pertama merupakan vaksin yang mengandung Hepatitis B *surface antigen* (HBsAg) yang telah dimurnikan dari plasma darah penderita kronis hepatitis B (Youm *et al.*,

2006). Vaksin tersebut dikenal dengan istilah *plasma-derived vaccines*. Vaksin jenis kedua adalah *yeast-derived vaccines* yang merupakan vaksin rekombinan hasil rekayasa genetik yang dibuat dengan cara menyisipkan HBsAg ke dalam plasmid ekspresi yang kemudian diproduksi di dalam sel ragi.

Menurut *World Health Organization (WHO)* (2002), kedua jenis vaksin tersebut telah diproduksi secara massal dan dinyatakan aman. Namun, harga vaksin per dosisnya masih terbilang mahal akibat biaya produksi yang cukup tinggi. Kedua jenis vaksin di atas memerlukan suhu yang dingin dalam penyimpanannya. Terlebih lagi, pemberian vaksin secara injeksi intramuskular harus melibatkan praktisi kesehatan. Harga vaksin yang mahal, menurunnya efektifitas vaksin akibat distribusi yang tidak baik, cara penyimpanan vaksin yang tidak tepat, menyebabkan belum memungkinkannya pengadaan vaksinasi secara massal, terutama di negara-negara berkembang dan negara-negara miskin.

Akibat keterbatasan-keterbatasan tersebut, para peneliti berusaha menemukan cara yang lebih efektif dalam produksi vaksin. Baru-baru ini, sebuah sistem produksi vaksin baru tengah dikembangkan, yaitu menggunakan tanaman sebagai inang dalam produksi vaksin rekombinan. Vaksin yang dihasilkan dengan mengekspresikan antigen suatu virus pada jaringan tanaman tersebut dinamakan *plant-derived vaccines*.

Plant-derived vaccines atau vaksin edibel memiliki keunggulan jika dibandingkan dengan vaksin konvensional, diantaranya adalah 1) harga

produksi rendah karena tidak memerlukan proses pemurnian sebagaimana yang biasa dilakukan pada produksi vaksin subunit (Radji, 2004), 2) dapat diproduksi cepat dalam jumlah yang banyak, 3) tidak memerlukan penyimpanan dalam suhu dingin sehingga lebih mudah dalam pendistribusiannya (Radji, 2004), 4) mengurangi kebutuhan akan jarum suntik, praktisi medis dan perlengkapan steril (Streatfield & Howard, 2003), 5) dapat langsung dimakan dan 6) menstimulus produksi antibodi mukosal yang lebih efektif dibandingkan vaksin yang disuntik. Hal ini penting mengingat sistem imun mukosal merupakan pertahanan tubuh yang pertama melawan organisme patogen (Rathore, 2004).

Arntzen (2004) menyatakan bahwa vaksin yang diproduksi dalam bahan pangan mentah seperti pisang merupakan alternatif yang efektif untuk mengendalikan penyebaran penyakit di negara-negara berkembang. HBsAg, baik yang berasal dari serum penderita kronis hepatitis B, ragi, maupun tanaman transgenik, ternyata membentuk struktur bulat *virus like particle* (VLP) (Biemans *et al.*, 1992; Kamimura *et al.*, 1981; Kong *et al.*, 2001; Smith *et al.*, 2003 dalam Huang & Mason, 2004) yang sangat menguntungkan karena dapat menginduksi respon imun (Streatfield & Howard, 2003).

Salah satu faktor yang membatasi perkembangan teknologi vaksin edibel hepatitis B adalah akumulasi protein antigenik yang masih relatif rendah dalam jaringan tanaman. Penelitian-penelitian tentang modifikasi konstruksi gen HBsAg yang bertujuan untuk meningkatkan akumulasi HBsAg pada jaringan tanaman telah banyak dilakukan. HBsAg telah berhasil

diekspresikan pada tanaman tembakau (Mason *et al.*, 1992) dan (Sojikul *et al.*, 2002), selada (*Lactuca sativa L.* cv. Burpee Bibb) (Kapusta *et al.*, 1999), pisang (Kumar *et al.*, 2005), tomat (Lou *et al.*, 2007) dan lain-lain.

Berdasarkan hasil penelitian Sojikul *et al.* (2002), diketahui bahwa penambahan sinyal peptida retikulum endoplasma (RE) kedelai (VSP α S) yang berasal dari gen *vegetative storage protein (vspA)* kedelai pada HBsAg dapat mempengaruhi peningkatan akumulasi HBsAg pada tembakau transgenik (*Nicotiana tabacum*). Menurut penelitian tentang konstruksi sinyal peptida tumbuhan dengan antigen permukaan hepatitis B tersebut, dilaporkan bahwa penambahan sinyal peptida RE tumbuhan pada HBsAg ternyata menghasilkan vaksin yang lebih imun jika dibandingkan dengan HBsAg tanpa modifikasi (Sojikul *et al.*, 2002). Peningkatan imunogenitas dari konstruksi VSP α S-HBsAg mungkin disebabkan karena terjadinya peningkatan pada proses oligomerisasi dan stabilitas antigennya (Sojikul *et al.*, 2002).

Berdasarkan permasalahan tersebut, maka dalam penelitian ini telah dibuat suatu konstruksi gen S (HBsAg), yang berasal dari genom HBV yang diisolasi dari serum darah penderita hepatitis B dari Rumah Sakit Hasan Sadikin (RSHS) Bandung, yang kemudian ditambahkan dengan urutan sinyal peptida RE kedelai (VSP α S). Sinyal peptida ditambahkan pada hasil kloning gen HBsAg dengan menggunakan *extended primer* berbasis urutan VSP α S yang berasal dari gen *vegetative storage protein (vspA)* kedelai. Fusi gen HBsAg dengan VSP α S diharapkan dapat menghasilkan vaksin edibel hepatitis B yang lebih efektif.

B. Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini adalah: "Bagaimanakah hasil kloning gen S (HBsAg) yang berasal dari genom virus penderita hepatitis B di Rumah Sakit Hasan Sadikin Bandung dengan penambahan sinyal peptida RE VSP α S?". Rumusan masalah ini dijabarkan menjadi beberapa pertanyaan penelitian sebagai berikut:

1. Bagaimanakah hasil kloning gen S (HBsAg)?.
2. Bagaimanakah hasil penambahan VSP α S pada klon gen S (HBsAg)?.
3. Apakah subtipe HBV jika ditentukan berdasarkan urutan gen S (HBsAg)?.
4. Apakah genotipe HBV jika ditentukan berdasarkan program *Viral Genotyping Tools* yang tersedia pada situs *National Center for Biotechnology Information* (NCBI)?.

C. Batasan Masalah

Agar penelitian ini tidak terlalu meluas, maka dibatasi oleh beberapa batasan masalah yaitu:

1. Sampel yang digunakan dari penelitian adalah serum penderita hepatitis B yang menyerang orang Indonesia.
2. Serum berasal dari Rumah Sakit Hasan Sadikin Bandung.
3. Urutan sinyal peptida yang digunakan berbasis urutan gen *vspA* kedelai Rhee & Staswick (1992), dimana pada ujung aminonya diduga mengandung sinyal peptida RE (VSP α S) sepanjang 21 asam amino (aa)

(Nielsen *et al.*, 2000 *dalam* Sojikul *et al.*, 2002) yaitu:
MAMKVLVFFVATILVAWQ-CHT.

D. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk:

1. Membuat konstruksi dan klon gen S (HBsAg) + sinyal peptida RE kedelai (VSP α S).
2. Mengetahui hasil kloning gen S (HBsAg).
3. Mengetahui hasil penambahan VSP α S pada klon gen S (HBsAg).
4. Mengetahui sub tipe HBV berdasarkan urutan asam amino gen S (HBsAg) dan mengetahui genotipe HBV berdasarkan program *Viral Genotyping Tools* yang tersedia pada situs NCBI.

E. Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini antara lain adalah:

1. Mengembangkan desain konstruk plasmid yang dapat meningkatkan ekspresi HBsAg di tanaman.
2. Konstruksi dan klon fusi gen S (HBsAg) + sinyal peptida RE kedelai (VSP α S) akan digunakan dalam penelitian selanjutnya yaitu penelitian yang mengembangkan vaksin edibel hepatitis B yang diperuntukkan bagi orang Indonesia.

