

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Landasan Teori

1. HIV dan AIDS

Acquired Immune Deficiency Syndrome (AIDS) adalah kumpulan tanda dan gejala yang disebabkan oleh infeksi *Human Immunodeficiency Virus* (HIV) (Kasper *et al.*, 2015; Enumah *et al.*, 2016). Berbagai upaya prevensi primer maupun sekunder serta kemajuan di bidang kesehatan dan obat-obatan telah dilakukan namun angka kesakitan dan kematian masih tetap tinggi (UNAIDS., 2018). Penderita terinfeksi HIV tidak segera menunjukkan gejala penyakit, namun dapat menularkan kepada orang lain (Younai., 2013).

Infeksi HIV di Indonesia ditemukan pertama kali pada tahun 1987 di provinsi Bali dan sampai akhir tahun 2018 telah tersebar di 460 (89,5%) kota/kabupaten di seluruh provinsi. Infeksi HIV di provinsi Jawa Tengah menduduki urutan kelima tertinggi di Indonesia. Jumlah kumulatif penderita AIDS di Indonesia sampai dengan bulan Desember 2018 mencapai 114.065 orang dan dari tahun ke tahun infeksi HIV-AIDS semakin meningkat secara nyata di seluruh dunia (Ditjen Pencegahan dan Pengendalian Penyakit., 2019).

Berdasar laporan tahun 2018 Ditjen P2P, di Indonesia didapatkan jumlah kumulatif tertinggi AIDS adalah kelompok usia dewasa yaitu 20-29 tahun (32,3%), selanjutnya kelompok usia 30-39 (30,9%), 40-49 tahun (13,4%), 50-59 tahun (5%) dan 15-19 tahun (3,3%). Persentase jenis kelamin laki-laki 58% dan perempuan 33%, sedangkan 9% tidak melaporkan jenis kelamin. Menurut pekerjaan/status, terbanyak adalah karyawan/tenaga non profesional (16.867 orang), sedangkan faktor risiko penularan terbanyak melalui heteroseksual (70,3%) (Ditjen Pencegahan dan Pengendalian Penyakit., 2019).

AIDS adalah keadaan imunodefisiensi berat yang disebabkan oleh infeksi HIV, yaitu virus yang pertama kali diidentifikasi oleh Luc Montainer di Paris tahun 1983 yang digolongkan dalam famili retrovirus, subfamili

lentivirinae. Retrovirus ini menginfeksi sel limfosit T CD4, makrofag, sel dendritik dan menyebabkan disfungsi sistem imun secara progresif sehingga menurunkan jumlah sel limfosit T CD4. Virus biasanya terdapat pada darah, cairan semen, cairan vagina dan serviks, serta pada air susu ibu (Abbas *et al.*, 2017).

Penyebaran/penularan HIV melalui 3 cara. Penularan terbanyak adalah melalui kontak seksual baik pada pasangan heteroseksual maupun homoseksual pada laki-laki. Penularan dari ibu ke anak merupakan cara penularan yang terbanyak pada kasus AIDS anak. Selain itu, penularan juga bisa terjadi melalui produk darah yang terinfeksi (Abbas *et al.*, 2017; Rovira *et al.* 2016).

HIV termasuk virus RNA dengan berat molekul 9,7 kilobase (kb). Masing-masing untai RNA memiliki 9 gen (gag, pol, vif, vpr, vpu, env, rev, tat, nef). Bagian luar terdapat kapsul yang terdiri dari protein p24 dan dikelilingi kapsid sebagai envelope, yang disusun oleh rangkaian protein membran glikoprotein 120 (gp 120) dan glikoprotein 41 (gp 41). HIV memiliki 3 enzim yaitu *reverse transcriptase* yang mensintesis DNA dari RNA, *integrase* yang membantu integrasi provirus dengan kromosom sel host, *protease* yang mengkatalisasi polipeptida menjadi protein dan enzim fungsional pada inti virus baru (Abbas *et al.*, 2017; Owen *et al.*, 2013). Terdapat 2 sub tipe HIV, yaitu HIV-1 dan HIV-2. Infeksi HIV-2 banyak di Afrika Barat, sedangkan infeksi HIV-1 banyak di Afrika Tengah dan yang paling banyak tersebar di seluruh dunia (Abbas *et al.*, 2017; Klatt., 2016). HIV memiliki kemampuan mutasi yang tinggi sehingga virus dapat menghindari respon imun host dan menjadi resisten terhadap terapi obat. Variasi genetik, belum adanya pengetahuan pasti mengenai kekebalan yang bersifat protektif, dan kesulitan dalam mengembangkan antigen yang sangat imunogenik menyebabkan masalah dalam menciptakan vaksin yang efektif terhadap HIV (Maartens., 2014).

Obat lini pertama untuk infeksi HIV berdasar rekomendasi WHO 2010 adalah NRTI (*Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitors*), antara lain

zidovudine (AZT), *stavudine* (d4T), dan *lamivudine* (3TC) (Singh *et al.*, 2014). Sesuai panduan WHO, *zidovudine* adalah obat lini pertama golongan NRTI yang direkomendasikan untuk negara-negara berkembang, termasuk Indonesia (Kuwalairat *et al.*, 2014; Adediran *et al.* 2016). Jumlah ODHA di Indonesia yang sedang menjalani terapi menggunakan ARV sampai bulan Desember 2018 adalah 105.167 orang. Sembilan puluh enam koma sembilan persen (96,9%) menggunakan obat lini pertama, termasuk *zidovudine* (Ditjen Pencegahan dan Pengendalian Penyakit., 2019).

Peningkatan penggunaan terapi antiretroviral (ARV) merupakan kontributor terbesar terhadap turunnya angka kematian karena AIDS di Indonesia sejak tahun 2005 hingga kini (UNAIDS., 2017). Data terbaru dari berbagai negara menunjukkan bahwa angka kematian akibat penyakit terkait AIDS menurun, yang sebagian besar didorong oleh peningkatan terapi antiretroviral, tetapi tidak cukup cepat untuk mencapai target General Assembly 2020 (UNAIDS., 2018).

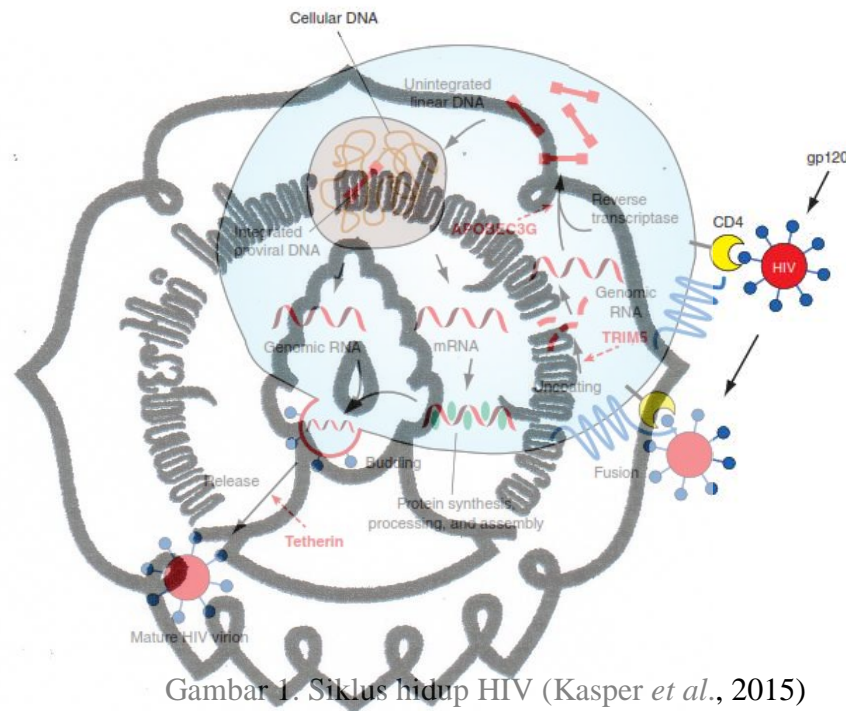
a. Immunopatogenesis Infeksi HIV

Infeksi HIV pada tubuh manusia akan menyebabkan terjadinya disfungsi sistem imun tubuh, yaitu terjadi defisiensi sekaligus aktivasi sistem imun itu sendiri (Abbas *et al.*, 2017). Defisiensi imun terutama terjadi pada limfosit T CD4 karena limfosit T CD4 merupakan reseptor primer HIV. Selain limfosit T CD4 juga dibutuhkan koreseptor untuk masuknya HIV ke dalam sel target. HIV memiliki dua koreseptor mayor yaitu CCR5 dan CXCR4. Makrofag mempunyai koreseptor CCR5 sedangkan limfosit T CD4 mempunyai koreseptor CCR5 dan CXCR4. CCR5 dan CXCR4 juga merupakan reseptor primer dari beberapa sitokin kemoatraktif (kemokin). Mekanisme deplesi limfosit T CD4 telah diteliti secara *in vitro*; di antaranya adalah infeksi langsung dan destruksi sel limfosit T CD4 oleh HIV, klirens sistem imun terhadap sel yang terinfeksi, kematian sel terkait dengan aktivasi sistem imun yang menyimpang, dan aktivasi imun kronik serta inflamasi kronik. Aktivasi sistem imun diakibatkan oleh kegagalan respon imun tubuh untuk menekan replikasi

HIV. Aktivasi imun akan meningkatkan kadar sitokin pro-inflamasi, yaitu TNF-alfa, IL-1, IL-2, IL-6, IL-12, dan IFN-gamma (Abbas *et al.*, 2017; Kasper *et al.*, 2015; Miedema *et al.*, 2013; Zhang & Su., 2012; Swanstorm & Coffin., 2012).

HIV masuk sel dengan cara berikatan dengan limfosit T CD4 dan terjadi interaksi antara gp 120 virus dengan reseptor limfosit T CD4 yang terdapat pada permukaan sel target. Glikoprotein 41 yang terdapat pada selubung virus (*envelope*) berperan pada fusi kedua membran. Inti nukleokapsid masuk ke dalam sitoplasma sel target dan mengalami proses internalisasi, kemudian genom virus ditranskripsi menjadi dsDNA dari ssRNA dengan bantuan enzim *reverse transcriptase*. Dengan bantuan enzim polimerase, DNA yang terbentuk akan mengalami polimerisasi menjadi 2 untai DNA dan diintegrasikan ke dalam genom pada inti sel target dengan bantuan enzim integrase dan menetap lama namun tidak aktif sebagai provirus. Kondisi tersebut disebut sebagai keadaan laten. Ketika sel inang menjadi aktif oleh induktor seperti antigen, sitokin atau faktor lain, maka sel akan memicu *nuclear factor kappa B* (NFKB) sehingga menjadi aktif dan berikatan pada 5'LTR (*Long Terminal Repeats*) yang mengapit gen-gen tersebut. NFKB memicu replikasi HIV. Potongan DNA yang sesuai dengan genom virus ditranskripsikan oleh enzim polimerase RNA, yang ditambahkan ke dalam untaian yang baru disintesis berupa ribonukleotida. Terbentuklah ssRNA virus juga mRNA sebagai prekursor protein virus. RNA keluar dari nukleus, mRNA mengalami translasi menghasilkan polipeptida. Polipeptida akan bergabung dengan RNA menjadi inti virus baru. Inti beserta perangkat lengkap virion baru membentuk tonjolan (*budding*) pada permukaan sel host, selanjutnya polipeptida dipecah oleh enzim protease menjadi protein dan enzim yang fungsional. Inti virus baru dilengkapi kolesterol dan glikolipid dari permukaan sel host sehingga terbentuk virus baru yang matang dan siap menginfeksi sel target lain (Gambar 1) (Klatt., 2016; Owen *et al.*, 2013). Beberapa faktor seluler yang mencegah replikasi vHIV

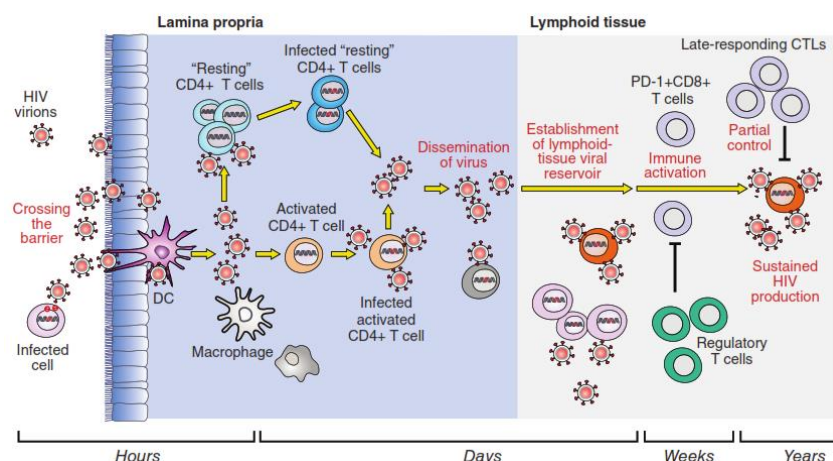
antara lain adalah TRIM 5 (mencegah proses pelepasan kapsid virus), APOBEC3G (mencegah *reverse transcriptase*), dan tetherin (mencegah pelepasan virus matur) namun HIV terus bermutasi untuk dapat lolos dari faktor seluler tersebut sehingga dapat terus melakukan replikasi (Kasper *et al.*, 2015).



Gambar 1. Siklus hidup HIV (Kasper *et al.*, 2015)

Perjalanan dari infeksi HIV dapat dibagi menjadi tiga fase yaitu infeksi akut, infeksi kronik, dan AIDS. Enam puluh sampai tujuh puluh persen penderita terinfeksi HIV akan mencapai stadium AIDS dalam 10-11 tahun (*typical progressor*), 10-20% menjadi AIDS kurang dari 5 tahun (*rapid progressor*), sebagian kecil belum menjadi AIDS dalam waktu 20 tahun (*slow progressor*), dan 1% penderita merupakan *long term non progressor*. Perbedaan progresivitas penyakit ditentukan dari variasi genetik pasien, respon imun pasien dan virulensi serta titer virus dalam plasma. Tingginya titer RNA HIV setelah menurun dari puncaknya disebut *virologic set point*, menentukan prognosis progresivitas penyakit (Kasper *et al.*, 2015; Abbas., 2017).

Virus dapat melewati mukosa melalui transport dari sel langerhans menuju ke sel target di lamina propria. Kelainan-kelainan pada mukosa, seperti adanya luka pada kemaluan dapat mempermudah virus masuk sehingga mencapai sel limfosit T CD4, yang merupakan sel target. Sel yang terinfeksi akan mengadakan replikasi di sel limfoid mukosa, submukosa, dan kelenjar limfe terdekat. Dalam beberapa hari, virus tidak dapat dideteksi di dalam plasma, yang disebut sebagai periode “*eclipse*”. Virus akan terus bereplikasi dalam beberapa hari sampai beberapa minggu, dan tersebar ke kelenjar-kelenjar limfe dan organ limfoid di tubuh sehingga terjadi viremia. Organ limfoid penting yang menjadi target utama infeksi HIV adalah *gut-associated lymphoid tissue* (GALT) karena terdapat banyak sel limfosit T CD4 di jaringan tersebut. Setelah replikasi virus mencapai batas dan virus telah tersebar luas, jumlah virus akan menurun drastis bahkan sampai kadar tidak terdeteksi walaupun tanpa ARV, dan kadar yang dicapai ini disebut *virologic set point*. Secara klinis pada infeksi akut akan timbul gejala seperti infeksi mononucleosis/*flu like syndrome* berupa demam, sakit kepala, mual, letargi, dan anoreksia. Virus yang masuk ke tubuh melalui aliran darah akan tersebar melalui limpa dan organ limfoid lain di mana penyebarannya akan menjadi lebih luas dibandingkan lewat mukosa (Gambar 2) (Kasper *et al.*, 2015)



Gambar 2. Immunopatogenesis infeksi HIV (Kasper *et al.*, 2015)

commit to user

Setelah 6 bulan infeksi akut, sebagian besar pasien akan masuk ke dalam fase asimtomatik, di mana kadar virus mencapai *set point*. Ini menandakan adanya respon sistem imun tubuh (imun bawaan dan imun adaptif). Infeksi kronik pada HIV terjadi karena HIV dapat lolos dari sistem imun tubuh akibat mutasi dan rekombinasi yang cepat dari HIV. Limfosit CD8 berperan dalam eliminasi HIV dari tubuh penderita, sedangkan Sel T regulator berperan dalam pengaturan respon imun. HIV memiliki beberapa mekanisme untuk menghindari dari sistem imun tubuh seperti mutasi dan rekombinasi yang cepat, pembentukan *pooling* yang stabil dalam limfosit CD4, dan kemampuan replikasi yang cepat (Abbas *et al.*, 2017; Kasper *et al.*, 2015).

HIV memiliki tropisme pada limfosit T CD4. Kontak HIV dengan CD4 menyebabkan ekspresi reseptor CD43 (*sialophorin*) pada permukaan limfosit T. Ekspresi RCD43 mengaktifasi baik limfosit CD4 dan HIV serta mempengaruhi peningkatan ekspresi CD69 dan CD40L. Aktivasi limfosit T CD4 menginduksi Th-1 untuk mensekresi IL-1 β , IL-2, TNF- α dan IFN- γ sehingga meningkatkan kadar ROS. IL-1 β , IL-2, TNF- α , IFN- γ , CD69 dan CD40L secara simultan meningkatkan aktivitas protein-protein yang terlibat pada protein *signaling* termasuk protein kinase C (PKC) dan mobilisasi Ca²⁺ mitokondria limfosit T-CD4 (Barat & Tremblay., 2002; Mohamad *et al.*, 2015). Peningkatan aktivitas PKC disertai mobilisasi kalsium transmembran mitokondria meningkatkan produksi ATP dan ROS (Barat & Tremblay 2002; Nasronudin 2013). DNA inti dan DNA mitokondria merupakan target oksidasi oleh radikal bebas. Oksidasi enzimatis biomolekul oleh ROS yang tidak terkontrol dapat mengganggu struktur dan fungsi sel sehingga berpotensi terjadi genotoksik. Basa DNA yang mudah mengalami kerusakan akibat oksidasi adalah basa guanin karena memiliki potensial reduksi paling rendah. Proses oksidasi menyebabkan penambahan gugus hidroksil pada molekul *guanine* dan menghasilkan 8-*oxo*-7,8-dihydro-2'-deoxyguanosin (8-*oxodG*) yang dapat berpasangan baik dengan *adenine* maupun *cytosine* dan

menimbulkan mutasi transversi GC-AT. *8-oxodG* bersifat stabil dan dapat dipakai sebagai marker stres oksidatif, bersifat promutagenik kuat (Deavall *et al.*, 2012; Loon & Hubscher., 2009; Cheng *et al.*, 2013; Koczor *et al.*, 2015; Chen *et al.*, 2017; Saichua *et al.*, 2015).

HIV yang telah berada di limfosit T CD4 menginduksi terbentuknya kompleks TCR-CD3 dan CD28. Kedua kompleks tersebut bersama-sama mempengaruhi HIV menjadi lebih aktif. Peningkatan aktivitas transkripsi, translasi protein dan replikasi HIV lebih lanjut di sirkulasi darah menyebabkan viremia (Natarajan *et al.*, 2010). Meningkatnya kadar ROS berpengaruh terhadap aktivitas gen *c-Jun amino-terminal kinase* (JNK) dan *extracellular signal-regulated kinase* (ERK) yang berpotensi menyebabkan apoptosis limfosit T CD4 (Dhanasekaran & Reddy., 2017; Kim *et al.*, 2017). JNK mempengaruhi kerja protein Fas mengaktifkan reseptor p55 dan caspase-8 (Dhanasekaran & Reddy., 2017). Sedangkan peningkatan ERK memicu sekresi sitokrom C mitokondria T CD4 mengaktivasi caspase-9 (Snyder *et al.*, 2011). Aktivitas caspase-9 bersama dengan caspase-8 akan memicu aktivasi caspase-3 untuk melakukan fragmentasi mtDNA. Rangkaian ini menyebabkan kematian T CD4 melalui jalur apoptosis (Nasronudin., 2013).

b. Anemia pada Infeksi HIV

Anemia didefinisikan sebagai kondisi yang ditandai oleh jumlah dan kapasitas pembawa oksigen sel darah merah tidak cukup untuk memenuhi kebutuhan fisiologis tubuh. Beberapa kondisi dapat menjadi faktor risiko anemia seperti usia, jenis kelamin, dan kehamilan. Diagnosis anemia ditandai dengan kadar hemoglobin (Hb) <12.0 g/dL pada perempuan dan <13.0 g/dL pada laki-laki. Konsentrasi Hb menggambarkan total masa atau status prekursor eritroid dalam sumsum tulang dan sel darah merah matur dalam sirkulasi (*erythron*), sehingga lebih akurat dibandingkan dengan hematokrit untuk menentukan kondisi anemia (WHO., 2011; Kufel *et al.*, 2016). Berdasarkan tingkat

keparahannya, anemia dibedakan menjadi beberapa jenis sesuai kadar hemoglobinnya (Tabel 1) (WHO., 2011).

Tabel 1. Derajat anemia berdasar kadar Hb (g/dL) (WHO., 2011)

Jenis Kelamin	Derajat anemia		
	Ringan	Sedang	Berat
Laki-laki	11,0-12,9	8,0-10,9	<8,0
Perempuan	11,0-11,9	8,0-10,9	<8,0

Anemia merupakan kelainan hematologi tersering (47,8%) pada infeksi HIV, dibandingkan dengan kelainan hematologi lainnya, yaitu leukopenia (24,3%), bisitopenia (19,6%), dan trombositopenia (8,3%). Anemia juga merupakan prediktor independen morbiditas dan mortalitas pada infeksi HIV (Kyeyune *et al.*, 2014; Nirmala *et al.*, 2015; Melese *et al.*, 2017; Mihiretie *et al.*, 2015; Cahyani *et al.*, 2015). Proses inflamasi menjadi dasar terjadinya anemia pada infeksi HIV maupun terapi dengan antiretroviral, mirip dengan anemia yang terjadi pada penyakit kronis lain (Redig & Berliner., 2013). Analisis retrospektif didapatkan hubungan antara anemia, penurunan ketahanan hidup, dan peningkatan keparahan penyakit pada ODHA. *Survival rate* 96,9% pada pasien non anemia dibandingkan dengan 84,1% pada pasien dengan anemia Hb <12 g/dL pada perempuan dan Hb <14 g/dL pada laki-laki dengan nilai $p < 0,001$ (Volberding *et al.*, 2004).

Anemia pada infeksi HIV dipengaruhi oleh jenis kelamin, kadar CD4 dan riwayat infeksi tuberkulosis (TB). Laki-laki diketahui memiliki risiko anemia lebih besar pada infeksi HIV dibandingkan perempuan pada penelitian di Ethiopia. Prevalensi anemia meningkat seiring dengan turunnya kadar CD4. Anemia pada HIV paling sering didapatkan pada pasien dengan CD4 <200 sel/mm³ (Alamdo *et al.*, 2015). Anemia pada penderita terinfeksi HIV dapat disebabkan oleh karena penyakit kronik maupun karena efek samping pengobatan HIV. *Zidovudine* merupakan obat HIV yang paling sering menyebabkan anemia makrositik. Selain itu, anemia makrositik pada penderita terinfeksi HIV sering disebabkan karena defisiensi vitamin B12 yang ditandai dengan peningkatan kadar

homosistein dan MMA (Goyal *et al.*, 2016). Anemia lebih sering didapatkan pada penderita terinfeksi HIV dengan infeksi oportunistik TB dibandingkan yang tidak. Infeksi TB diketahui memicu respon mediator inflamasi yang mensupresi eritopoiesis sehingga menyebabkan anemia (Alamdo *et al.*, 2015). *Tumor necrosis factor* (TNF) merupakan sitokin yang menyebabkan penurunan eritopoiesis pada infeksi oportunistik HIV seperti TB dan kandidiasis (Assefa *et al.*, 2015).

Patofisiologi anemia pada infeksi HIV meliputi 4 mekanisme dasar, yaitu: a) kehilangan darah akibat kondisi medis; b) produksi eritrosit yang tidak adekuat karena infiltrasi virus ke sumsum tulang, terapi HIV yang bersifat mielosupresif, produksi eritropoietin (EPO) endogen yang inadekuat atau respon EPO yang tidak efektif; c) peningkatan destruksi eritrosit akibat hemolisis dan d) defisiensi nutrisi seperti besi, folat dan vitamin B12 (Geletaw *et al.*, 2017; Tsiakalos *et al.*, 2010; Meidani *et al.*, 2012; Opie., 2012; Alani *et al.*, 2010; Adediran *et al.*, 2016).

- **Kehilangan darah akibat kondisi medis**

Kehilangan darah pada infeksi HIV disebabkan berbagai kondisi seperti keganasan yaitu sarkoma kaposi dan limfoma non hodgkin pada traktus gastrointestinalis atau lesi saluran cerna akibat infeksi oportunistik sitomegalovirus dan kandida (Opie., 2012).

- **Produksi eritrosit yang tidak adekuat**

HIV mampu bereplikasi pada CD34+ menyebabkan inhibisi proliferasi sel progenitor hematopoietik tersebut. Inhibisi tersebut dapat menyebabkan abnormalitas hemopoiesis dan supresi sumsum tulang. Penelitian di Malawi pada anak-anak yang terinfeksi HIV menunjukkan bahwa konsentrasi progenitor hematopoietik CD34+ dan progenitor eritroid yang lebih rendah pada kelompok anemia berat dibandingkan dengan yang tidak. Kegagalan sumsum tulang memproduksi sel darah merah yang diakibatkan oleh autoantibodi terhadap protein HIV p-17 yang menyerupai eritropoietin merupakan penyebab penting anemia berat pada anak-anak yang terinfeksi HIV (Adediran *et al.*, 2016; Calis

et al., 2010; Redig & Berliner., 2013; Reddy *et al.*, 2017). Kerentanan sel terhadap infeksi oleh HIV ditentukan oleh ekspresi CD4, kemokin reseptor CXCR4 atau CCR5 yang mengikat HIV-1 dan menjadi mediator masuknya virus ke dalam sel yang berhubungan dengan kegagalan hematopoiesis pada infeksi HIV (Nixon *et al.*, 2013). Sitokin pro inflamasi juga berperan dalam mencegah dan mengurangi proses hematopoiesis atau supresi sumsum tulang (Enumah *et al.*, 2016; Khare *et al.*, 2015; Lipshultz *et al.*, 2015).

Protein HIV-1 p17 menunjukkan molekular mimikri dengan EPO endogen. Kemiripan tersebut menyebabkan autoantibodi melawan EPO endogen akibat respon sitokin terhadap infeksi HIV. Konsentrasi anti-EPO pada fase pre-ART merupakan prediktor terhadap anemia (OR = 2.15, [95% CI: 1.29-3.56]). Anti-EPO berhubungan dengan peningkatan risiko anemia pada infeksi HIV (OR = 5,07 [95% CI: 1,25-20,49]). Afinitas anti-EPO terhadap reseptor lebih tinggi dari pada EPO endogen. Afinitas dan *binding capacity* yang tinggi tersebut menyebabkan netralisasi EPO di sirkulasi (Tsiakalos *et al.*, 2010; Redig & Berliner., 2013). Penelitian menunjukkan bahwa protein p17 memiliki kemiripan dengan struktur epitope Ep1 yang menyebabkan gangguan domain fungsional EPO (Tsiakalos *et al.*, 2011). Efek supresi dari HIV akan menyebabkan gangguan pada proses hematopoiesis akibat adanya perubahan ekspresi dan produksi dari eritropoietin dan *granulocyte-colony stimulating factor* (Kufel *et al.*, 2016).

Penggunaan obat pada infeksi HIV yang menekan sumsum tulang antara lain antiretroviral (*Zidovudine*, *Zalcitabine*), agen antiviral lain (*Ganciklovir*, *Foscarnet*, *Sidofavir*), agen antifungal (*Flusitosin*, *Amfoterisin*), antibiotik (*Sulfonamide*, *Trimethoprim*, *Pirimethamin*, *Pentamidin*), agen antineoplastik (*Siklofosamid*, *Doksorubisin*, *Metotreksat*, *Paclitaxel*, *Vinblastin*). *Immune response modifiers* yang digunakan seperti IFN- γ juga memiliki konsekuensi untuk menimbulkan anemia (Dai *et al.*, 2016; Barik., 2016).

- **Peningkatan destruksi eritrosit**

Peningkatan penghancuran dini sel darah merah dalam lien atau sirkulasi dapat terjadi pada pasien dengan infeksi HIV. Anemia hemolitik dimungkinkan karena autoantibodi terhadap sel darah merah, sindroma *hemophagocytosis*, *disseminated intravascular coagulation (DIC)*, *trombthotic thrombocytopenic purpura*, atau defisiensi *glukosa-6-phosphate dehydrogenase (G6PD)*. Hemolisis juga dapat disebabkan karena penggunaan obat (Meidani *et al.*, 2012; Volberding *et al.*, 2004).

- **Defisiensi nutrisi**

Defisiensi nutrisi dihubungkan dengan patologi virus pada saluran cerna yang merupakan salah satu pintu masuk infeksi HIV, tempat terjadinya infeksi oportunistik dan malignansi. Imunitas saluran cerna disusun oleh *Gut-associated lymphoid tissue (GALT)* yang dipengaruhi oleh ekspresi sel T CD4+ dan koreseptor CCR5 (Sincu *et al.*, 2014). HIV menginfeksi sel limfosit T helper melalui ikatan glikoprotein permukaan gp120 dan CD4 serta koreseptor CCR5 membentuk kompleks gp120, CD4 dan CCR5. Proses ini memungkinkan gp41 melakukan fusi dengan membran sel inang (McGowan & Shah., 2010). Anti-gp120 ditemukan predominan pada mikrovili sel parietal gaster. Abnormalitas fungsi sekresi sel parietal didapatkan pada awal infeksi HIV dan mempengaruhi sekresi faktor intrinsik (FI) (Lake-Bakaar *et al.*, 1996). Ikatan FI dengan vitamin B12 diperlukan untuk absorpsi vitamin di ileum distal (Hoffbrand & Moss., 2016). Defisiensi vitamin B12 pada penderita terinfeksi HIV juga disebabkan oleh intake yang kurang, diare, vomitus dan terapi ARV. Defisiensi vitamin B12 secara signifikan didapatkan lebih tinggi pada subjek terapi ARV-naïve daripada yang telah mengonsumsi ARV pada penelitian studi belah lintang di Nigeria (Adediran *et al.*, 2016).

Penurunan nafsu makan, peningkatan *metabolic rate* dan tingginya *turnover* sel menjadi faktor risiko defisiensi folat pada infeksi HIV. HIV memiliki waktu *turnover* yang cepat karena mampu

memproduksi 10 miliar virion dalam waktu 24 jam. Plasma folat didapatkan menurun pada 48,% penderita terinfeksi HIV dan 52,8% pada penderita terinfeksi HIV yang memiliki Hb <10 g/dL. Kadar folat memiliki korelasi positif dengan CD4 dan korelasi negatif dengan *viral load*. Replikasi virus menyebabkan penurunan konsentrasi folat yang signifikan (Alani *et al.*, 2010; Adediran *et al.*, 2016).

2. Zidovudine (AZT)

Zidovudine/Azidotimidin (AZT) merupakan bubuk putih atau kecoklatan yang larut dalam air dan methanol dengan rumus kimia $C_{10}H_{13}N_5O_4$. Nama kimia *zidovudine* yaitu 3-azido-2',3'-dideoxythymidine dan dikategorikan sebagai antiviral golongan *nucleoside analog reverse transcriptase inhibitor (NRTI)* (Committee for Medicinal Products for Human Use., 2010). *Zidovudine* merupakan obat penting untuk terapi infeksi HIV. *Zidovudine* efektif dalam terapi HIV karena selektif menghambat kerja enzim *reverse transcriptase* HIV tanpa mengganggu aktivitas DNA polimerase manusia (Katzung & Trevor., 2015; Ghodkea *et al.*, 2012).

Bioavailabilitas *zidovudine* secara oral berkisar antara 60% dengan waktu paruh dalam serum sekitar 1,1 jam. Metabolisme *zidovudine* terjadi melalui proses fosforilasi di limfosit melibatkan 3 jalur aktivitas kinase seluler dan menghasilkan *zidovudine trifosfat* (AZT-TP), glukoronil AZT (GAZT) dan *aminodeoksitimidin* (AMT) (Katzung & Trevor., 2015).

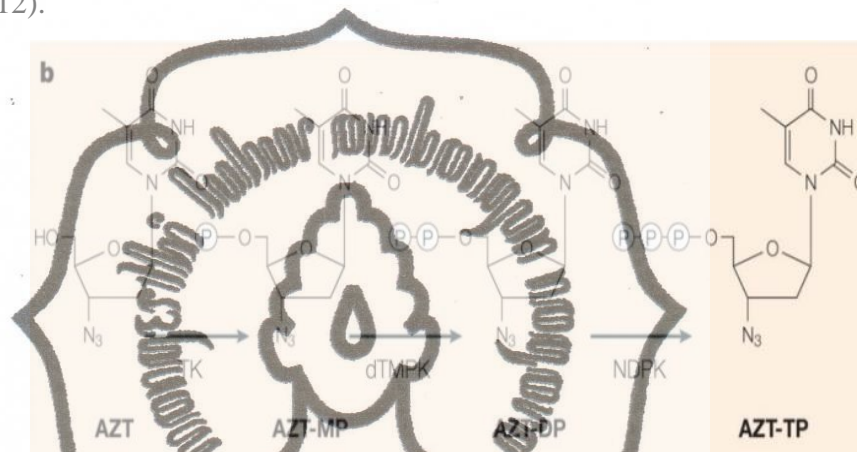
Zidovudine tidak menyembuhkan infeksi HIV, tetapi menurunkan perkembangan virus dan menghambat progresivitas dari HIV positif menjadi AIDS. *Zidovudine* digunakan bersama dengan antiretroviral lain dengan cara kerja yang berbeda untuk mencegah resistensi virus terhadap obat (Katzung & Trevor., 2015; Akhtar *et al.*, 2008). *Zidovudine* merupakan obat lini pertama yang direkomendasikan WHO untuk terapi infeksi HIV sejak tahun 2010. *Zidovudine* dengan kombinasi antiviral lain menjadi standar terkini untuk pengobatan penderita terinfeksi HIV/AIDS karena dapat menurunkan *viral load* pada infeksi HIV-AIDS (Singh *et al.*, 2014; Reddy *et al.*, 2017). *Stavudin* merupakan obat lini pertama pada infeksi HIV sebelum *zidovudine*,

dan sekarang sudah tidak direkomendasikan lagi sebagai lini pertama karena efek toksiknya yang tinggi terhadap mitokondria pada penggunaan jangka lama yang mengakibatkan neuropati perifer, asidosis laktat, dan lipodistrofi (Singh *et al.*, 2014; Agarwal *et al.*, 2010; Kiragga *et al.*, 2010). Penggunaan *zidovudine* jangka panjang dapat menyebabkan peningkatan produksi *reactive oxygen species* (ROS). Penelitian *invitro* pada kultur sel otot manusia, *zidovudine* menyebabkan penurunan proliferasi, peningkatan produksi laktat, dan penurunan aktivitas sitokrom C oksidase. Biopsi otot juga menunjukkan adanya delesi dan mutasi pada DNA mitokondria sehingga menyebabkan disfungsi dari mitokondria (Koczor *et al.*, 2015). Keadaan tersebut mengindikasikan *zidovudine* berpotensi mempengaruhi fungsi mitokondria (Akhtar *et al.*, 2008). Penelitian pada tikus transgenik dengan penurunan ekspresi *superoxide dismutase* (SOD) berhubungan dengan kardiomiopati, sedangkan pada tikus dengan over ekspresi SOD didapatkan perlindungan pada jantung. Keadaan ini menandakan adanya hidrogen peroksida sebagai produk dari intoksikasi *zidovudine*. Komponen *zidovudine* yang diduga menyebabkan pelepasan ROS adalah komponen *azido*, karena *thymidine* sendiri tidak meningkatkan pelepasan ROS/RNS (Deavall *et al.*, 2012).

a. Farmakokinetik *Zidovudine* (AZT)

Jalur metabolik pertama *zidovudine* melalui fosforilasi. *Zidovudine* mengalami fosforilasi intraseluler dengan bantuan 3 kinase seluler: *thymidine kinase* mengubah *zidovudine* (AZT) menjadi AZT-*monophosphate* (AZT-MP), selanjutnya diubah menjadi AZT-*diphosphate* (AZT-DP) oleh *thymidylate kinase*, yang merupakan bagian dari pembuangan *zidovudine* (AZT) (Gambar 3). Perubahan AZT-DP menjadi metabolit aktif trifosfat melalui enzim *nucleoside diphosphat kinase*. Jalur metabolik kedua untuk inaktivasi *zidovudine* melalui glukoronidasi yang menghasilkan bentuk *3'-azido-3'-deoxy-5'-D-glucopyranuronosyl thymidine* (*5'-glucuronyl zidovudine*: GAZT) yang merupakan bentuk inaktif. Ekskresi obat 60%-70% melalui urine dalam

bentuk glukoronida, menunjukkan bahwa jalur glukoronida dominan dalam metabolisme *zidovudine*. Jalur metabolisme *zidovudine* ketiga reduksi dari azido menjadi bentuk 3'-amino-3'- deoxythymidine (AMT) melibatkan *cytochrome P450s* dan *P450 reduktase*. Toksisitas *zidovudine* diperantarai oleh AMT yang menunjukkan 5-7 kali lebih toksik pada sel progenitor hematopoietik (Katzung & Trevor., 2015; Ghodkea *et al.*, 2012).



Gambar 3. *Zidovudine* (AZT), hasil metabolit dan enzim yang diperlukan dalam proses metabolisme (Lewis *et al.*, 2003)

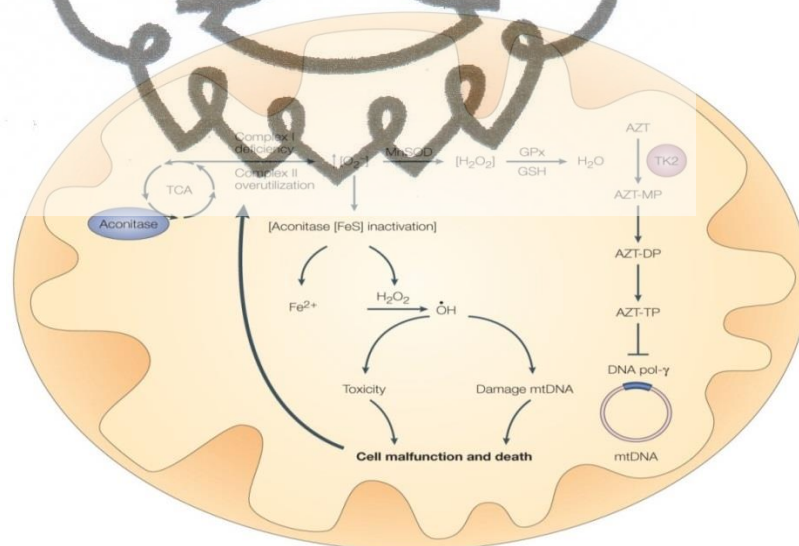
b. Farmakodinamik *Zidovudine* (AZT)

Struktur *zidovudine* mirip dengan timidin endogen sehingga dapat berperan sebagai inhibitor kompetitif pada mekanisme replikasi virus. Gugus azido dari *zidovudine* menempel pada gugus hidroksil (-OH) pada posisi 3' dari cincin deoksiribosa. Ikatan DNA virus dengan gugus trifosfat AZT-TP mencegah pembentukan ikatan fosfodiester yang dibutuhkan untuk membentuk *DNA-backbone* sehingga menyebabkan putusnya rantai DNA pada replikasi HIV dan memutus rantai pembentukan virus baru. *Zidovudine* konsentrasi rendah dapat menghambat sel *hematopoietic progenitor*, namun demikian dasar molekuler *zidovudine* menginduksi hematotoksisitas belum dapat dijelaskan (Ghodkea *et al.*, 2012; Katzung & Trevor., 2015).

Zidovudine mempunyai satu atom C aktif, dapat meningkatkan ROS dan menyebabkan kerusakan mtDNA akibat akumulasi mutasi acak

frekuensi rendah (*low frequency random mutation*) yang dikenal dengan *mutational load* yang membentuk berbagai tingkatan kerusakan mitokondria dan memunculkan gejala klinis. Mutasi acak yang dikenal dengan *mutational load* memungkinkan terjadinya *Single Nucleotide Polymorphisms* (SNPs). Delesi atau insersi sepotong DNA dalam suatu regio pengkode atau regio *regulatory* dapat menyebabkan perubahan ekspresi gen yang berakibat timbulnya penyakit (Weil., 2015).

Respon terapi dan toksisitas antiretroviral/ *Highly Active Antiretroviral Therapy* (HAART) bervariasi antar individu, yaitu dipengaruhi lama penggunaan dan resistensi terhadap terapi ARV. Variabilitas hasil pengobatan dipengaruhi oleh regulasi bioavailabilitas obat, farmakodinamik dan aktivitas virus. Variabilitas antar individu dalam bioavailabilitas dan distribusi ARV dipengaruhi oleh faktor genetik (gen *CYP2 B6*) maupun lingkungan, antara lain interaksi obat-makanan, interaksi antar obat, jenis kelamin, IMT (Francia *et al.*, 2014).



Gambar 4. Efek NRTIs pada mitokondria (Lewis *et al.*, 2003)

c. Zidovudine (AZT) dan Anemia

Pengobatan dengan *zidovudine* pada penderita terinfeksi HIV diketahui memiliki hubungan erat dengan kejadian anemia serta memerlukan monitoring rutin efek toksiknya terhadap kadar hemoglobin

(Hb) (Melese *et al.*, 2017; Barik., 2016; Goyal *et al.*, 2016; Kallianpur *et al.*, 2016; Phe *et al.*, 2013). Monitoring dilakukan pada awal pemberian, setelah 1 bulan, setelah 3 bulan dan 6 bulan pemberian atau atas indikasi klinis. Kadar Hb kurang dari 8 g/dL pada awal pengobatan merupakan kontraindikasi pemberian *zidovudine*. Kriteria WHO untuk toksisitas *zidovudine* terhadap sel darah merah adalah: Derajat 1: Hb 8 - < 9,5 g/dL, derajat 2: Hb 7- 8,0 g/dL, derajat 3: Hb 6,5 - < 7 g/dL, derajat 4: Hb <6,5 g/dL (Phe *et al.*, 2013). Anemia paling sering muncul setelah 4-12 minggu setelah inisiasi terapi *zidovudine* (Kiragga *et al.*, 2010). Sebagian penelitian menyebutkan bahwa anemia pada penderita terinfeksi HIV timbul setelah 6 bulan mendapatkan terapi *zidovudine* (Agarwal *et al.*, 2010; Dash *et al.*, 2015; Sharma., 2010; Kuwalairat *et al.*, 2014; Assefa *et al.*, 2015; Singh *et al.*, 2014). Prevalensi tinggi anemia makrositik (80,6%) setelah 6 bulan pemakaian *zidovudine* (Tadele *et al.*, 2014). Kadar Hb akan kembali pulih setelah 1 bulan pasca penghentian terapi *zidovudine* pada sebagian besar pasien. Efek myelotoksitas *zidovudine* dapat bertahan hingga 3 bulan dan menyebabkan pemulihan kadar Hb yang lebih lama (Dash *et al.*, 2015). Toksisitas hematologis pada sebagian besar pasien terjadi dalam waktu 3-6 bulan dan bersifat reversibel (Ejeliogu *et al.*, 2014; Sharma., 2010). Prevalensi, beratnya anemia dan derajat makrositosis menurun setelah pemberian terapi *zidovudine* bulan ke 6-12 (Tadele *et al.*, 2014).

AZT-TP dapat memiliki efek merugikan yaitu menghambat replikasi DNA mitokondria manusia dengan cara menghambat enzim DNA polimerase sehingga menyebabkan gangguan pada sintesis DNA (Ghodkea *et al.*, 2012; Ukoha *et al.*, 2015; Barik., 2016). Disfungsi DNA mitokondria (mtDNA) menyebabkan toksisitas hematologi pada penggunaan *zidovudine* (Ghodkea *et al.*, 2012). *Zidovudine* menghambat replikasi mtDNA secara tidak langsung menyebabkan deplesi mtDNA. Efek toksisitas *zidovudine* diawali dengan penurunan konsentrasi ATP dan

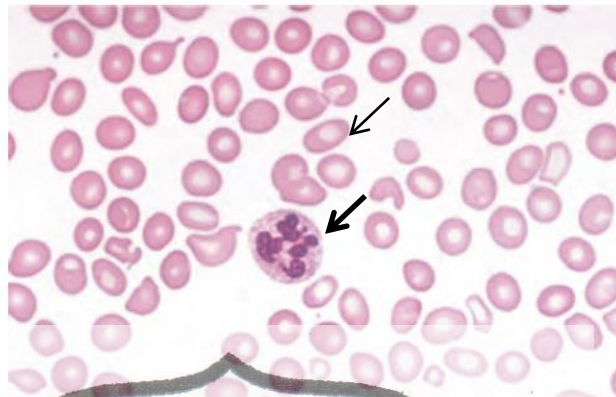
depleksi glutation sebelum terdeteksinya kerusakan mtDNA (Scruggs & Naylor., 2008; Salem *et al.*, 2016; Vaneet *et al.*, 2015).

Makrositosis pada infeksi HIV lebih berhubungan dengan penggunaan terapi analog timidin (*zidovudine*, *stavudine*) daripada infeksi HIV sendiri. Insiden anemia pada penggunaan *stavudine* lebih rendah daripada *zidovudine*. Pasien yang mendapat terapi mengandung *zidovudine* memiliki rerata MCV dan RDW yang lebih tinggi daripada kontrol. Peningkatan MCV didapatkan lebih nyata pada pasien yang menerima *zidovudine* pertama kali (*AZT-naïve*). Pemeriksaan MCV bersama dengan *red cell distribution width* (RDW) dianjurkan oleh beberapa penelitian sebagai parameter yang murah dan mudah untuk menilai ketaatan pasien mengkonsumsi *zidovudine* (Adediran *et al.*, 2016). Peningkatan MCV sebesar 8% pada 12 minggu memiliki sensitifitas dan spesifisitas 89% terhadap perbaikan status virologi pada pasien yang mendapat terapi *zidovudine* (Mugisha *et al.*, 2012; Kufel *et al.*, 2016). Peningkatan MCV pada terapi *zidovudine* mengalami puncak pada 20-24 minggu. Gangguan pada sintesis DNA pada sel prekursor eritrosit menghambat maturasi di sumsum tulang sehingga menyebabkan makrositosis yang ditandai dengan peningkatan MCV (Kufel *et al.*, 2016). Penggunaan terapi *zidovudine* setelah 4 bulan berhubungan dengan kejadian anemia makrositik. *Red cell distribution width* (RDW) juga sering didapatkan meningkat pada penderita terinfeksi HIV. RDW meningkat bila >14,5%. Tingginya RDW mengindikasikan status virologi yang tinggi dan perburukan klinis pasien yang terinfeksi HIV (Sharma & Yadav., 2014). Pada pasien anemia makrositik akibat terapi HIV juga didapatkan kadar homosistein yang meningkat setelah 6 bulan terapi diakibatkan oleh karena gangguan pada jalur metabolik homosistein (Coria-Ramirez *et al.*, 2010). Peningkatan kadar homosistein dapat diakibatkan oleh disfungsi sistem imun ataupun gangguan pada jalur remetilasi (abnormalitas fungsi enzim *methyltetrahydrofolate reductase*)

dan transsulfurasi (abnormalitas fungsi enzim *cystathionine-beta-synthase*) (Coria-Ramirez *et al.*, 2010; Ni *et al.*, 2017).

3. Anemia Makrositik pada Infeksi HIV

Makrositosis ditunjukkan dengan rerata ukuran sel darah merah lebih besar dibanding normal yaitu >96 fL di semua usia (Obirikorang *et al.*, 2016). Makrositosis eritrosit pada gambaran darah hapus merupakan tanda awal anemia makrositik. Peningkatan MCV terjadi bertahap sebelum kadar Hb turun. Kadar EPO berhubungan dengan keparahan anemia dengan rentang nilai yang bervariasi (Carmel., 2014). Terapi pada infeksi HIV diketahui sebagai salah satu penyebab makrositosis. Anemia makrositik secara garis besar dibagi menjadi megaloblastik dan non-megaloblastik (Tabel 2). Hal ini berdasarkan eritroblast yang ditemukan pada sumsum tulang. Megaloblastik ditandai dengan peningkatan RDW serta terdapatnya makro ovalosit dan neutrofil hipersegmentasi pada gambaran darah tepi (Gambar 5). Jenis non-megaloblastik ditandai dengan makrosit bulat atau makroretikulosit (Veda., 2013; Wintrobe., 2014). Prevalensi makrositosis pada populasi umum berkisar 1,7-3,6%. Makrositosis tanpa anemia terkadang merupakan varian normal, makrositosis fisiologik dapat dijumpai pada kehamilan, neonatus, dan bayi. Hasil positif palsu makrositosis dapat diakibatkan oleh faktor genetik, *cold agglutinin*, hiperglikemia, leukositosis, retikulositosis, dan pemrosesan sampel yang lama (Veda., 2013). Etiologi tersering makrositosis adalah alkoholisme, defisiensi folat dan vitamin B12, serta medikasi (seperti pada terapi HIV) (Veda., 2013; Kufel *et al.*, 2016). Makrositosis pada penderita terinfeksi HIV lebih sering disebabkan karena terapi HIV dibandingkan infeksi HIV itu sendiri, sehingga makrositosis dengan atau tanpa anemia bisa digunakan sebagai prediktor *adherence* dan respon terhadap terapi HIV. *Zidovudine* merupakan obat HIV yang paling sering menyebabkan anemia makrositik (Kufel *et al.*, 2016).



Gambar 5. Anemia megaloblastik ditandai dengan makro ovalosit (panah tipis) dan neutrofil hipersegmentasi (panah tebal) (Hoffbrand & Moss., 2016)

Panmyelosis sering menyertai anemia megaloblastik dan kadang menimbulkan misdiagnosis. Hiperplasia eritroid yang ditunjukkan dengan munculnya nukleus megaloblastik dapat disertai dengan proliferasi myeloid sumsum tulang. Penanda khas untuk anemia megaloblastik yaitu disosiasi rasio nukleus-sitoplasma. Standar diagnosis ditegakkan paling utama dari identifikasi penanda tersebut pada sel prekursor eritrosit dari aspirasi sumsum tulang. Sel megaloblastik memiliki nukleus yang lebih besar, kromatin yang tersebar akibat keterlambatan kondensasi (Carmel., 2014).

Anemia megaloblastik paling sering disebabkan oleh alkoholisme (36,5%), defisiensi vitamin B12 (24,1%), obat-obatan (12,9%) termasuk di dalamnya adalah antikonvulsan dan kemoterapi, defisiensi folat (4,4%) (Tabel 2). Defisiensi vitamin B12 merupakan masalah kesehatan di seluruh dunia yang berkaitan dengan gaya hidup, predisposisi genetik, gangguan absorpsi dan transport dari vitamin B12 (Al-Batayneh *et al.*, 2018; Veda., 2013). Sel parietal gaster memproduksi mucin yang mengandung faktor intrinsik (FI) yang berikatan dengan faktor ekstrinsik (FE) yang berasal dari daging sebelum zat tersebut diabsorpsi tubuh. FE tersebut dalam hal ini dikenal sebagai vitamin B12. Defisiensi folat dan vitamin B12 menyebabkan hambatan maturasi nukleus eritrosit akibat gangguan sintesis DNA (Carmel., 2014; Castellanos-Sinco *et al.*, 2015; Barik., 2016; Wintrobe., 2014).

Tabel 2. Faktor etiologi anemia makrositik (Veda., 2013)

Faktor etiologi	Jumlah kasus (%)
Alkoholisme	65 (36,5)
Defisiensi vitamin B12	43 (24,1)
Tidak diketahui	41 (23)
Pengaruh obat-obatan	23 (12,9)
Defisiensi folat	8 (4,4)
Penyakit hepar	8 (4,4)
Hemodialisis	4 (2,2)
Mielodisplasia sindrom	3 (1,6)
Hipotiroid	3 (1,7)
Anemia aplastik	2 (1,1)

Terdapat 2 bentuk aktif vitamin B12 yaitu *methylcobalamin* dan *adenosyl cobalamin*. *Methylcobalamin* merupakan koenzim *methionine synthase* (*methyl tetra hydrofolate-homocysteine methyl transferase*) yang terlibat pada sintesis metionin dan tetrahidrofolat dari *methyltetrahydrofolate* dan homosistein. *Adenosyl cobalamin* merupakan koenzim *methyl malonyl-CoA* yaitu enzim yang terlibat pada produksi asam suksinat dari MMA. *Methyltetrahydrofolate* tidak dapat mengalami demetilasi oleh *methionine synthase* tanpa vitamin B12. Defisiensi vitamin B12 dan folat bersama-sama berperan pada anemia megaloblastik. *Methyltetrahydrofolate* tidak dapat dimetilasi oleh *methionine synthase* tanpa adanya vitamin B12. *Methyltetrahydrofolate* tidak dapat terpoliglutamisasi sehingga tidak dapat masuk ke dalam sel dan tidak dapat dimanfaatkan tubuh. Tetrahidrofolat juga harus didapatkan dalam jumlah yang cukup. Defisiensi tetrahidrofolat menyebabkan simpanan *methyltetrahydrofolate* tidak dapat dikonversi menjadi *formate-mediated formyltetrahydrofolate* yang digunakan untuk sintesis purin (Castellanos-Sinco *et al.*, 2015).

Defisiensi folat dan vitamin B12 dapat menyebabkan defisiensi *thymidylate* pada untai DNA menyebabkan posisinya digantikan oleh urasil. Ketika urasil terdapat pada susunan yang seharusnya murni struktur DNA, *enzyme repair* mendeteksi eror dan mencoba melakukan koreksi. Untai DNA yang salah akan didegradasi dan menyebabkan apoptosis seluler yang

dimediasi oleh p-53. Hal ini menyebabkan maturasi asinkron antara nukleus dan sitoplasma (Shane., 2008).

Defisiensi folat dan vitamin B12 menyebabkan gangguan pada maturasi inti eritrosit yang berpengaruh pada keterlambatan pembelahan sel sehingga sel menjadi lebih besar (Veda., 2013; Hoffbrand & Moss., 2016). Makrositosis karena alkoholisme terjadi akibat toksisitas langsung pada membran sel eritrosit. Makrositosis pada sindrom mielodisplasia diakibatkan oleh proses displasia pada prekursor eritrosit. Pada penyakit hepatobilier dan miksedema, makrositosis diakibatkan deposit lipid pada membran sel eritrosit (Veda., 2013).

4. Peran Folat dan Vitamin B12 pada Eritropoiesis

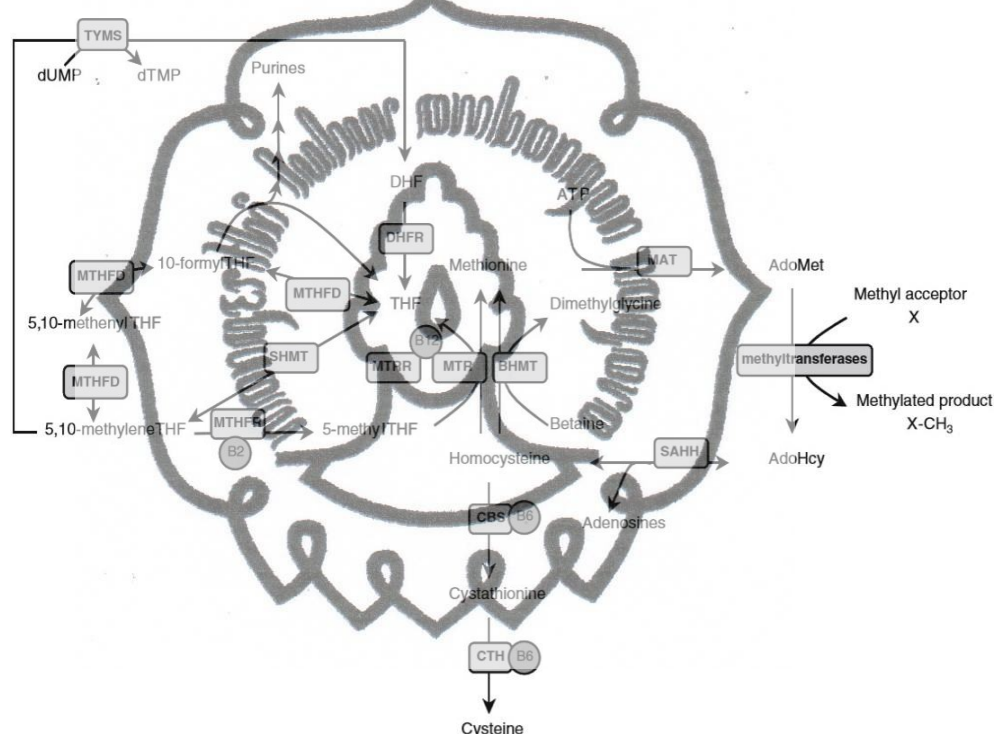
Folat merupakan golongan vitamin B9 yang diekstrak pertama kali dari daun bayam. Folat berasal dari kata “folium” yang berarti daun. Folat dapat pula diekstrak dari jamur dan dipakai sebagai terapi untuk anemia makrositik pada ibu hamil di tahun 1931. Folat terdiri dari cincin pteridin, asam p-aminobenzoat dan asam monoglutamat (asam pteroylglutamat). Asam folat merupakan bentuk sintesis dari folat. Bentuk asam diketahui lebih stabil sehingga dapat digunakan sebagai suplemen atau bahan untuk fortifikasi makanan (Talaulikar & Arulkumaran., 2011; Wintrobe., 2014). Manusia tidak dapat mensintesis struktur folat sehingga memerlukan asupan folat dari vitamin dan makanan (Mehta & Hoffbrand., 2014).

Makanan yang mengandung folat akan dihidrolisis menjadi bentuk asam monoglutamat dan diabsorpsi melalui transport aktif di mukosa usus halus. Suplemen folat diabsorpsi lebih cepat di bagian proksimal usus halus melalui difusi pasif. Monoglutamat diubah menjadi tetrahidrofolat (THF) di hepar (Liew., 2016). Kadar folat serum normal yaitu antara 5-15 ng/mL. Defisiensi folat ditegakkan bila kadar folat serum <5 ng/mL sedangkan bila kadar folat <2 ng/mL akan menyebabkan anemia megaloblastik (Liew., 2016; Wintrobe., 2014). Defisiensi folat dapat ditemukan pada ibu hamil (Wintrobe., 2014).

Dalam proses sintesis DNA dan metilasi DNA melibatkan metabolisme homosistein dan folat (Gambar 6). Pada proses transmetilasi, *methionine adenosyltransferase* (MAT) akan mengkatalisis biosintesis *S-adenosylmethionine* (AdoMet) dari metionin dan ATP. AdoMet dengan bantuan *methyltransferase* akan menghasilkan *S-adenosylhomocysteine* (AdoHcy). AdoHcy akan dihidrolisis oleh *AdoHcy hydrolase* (SAHH) menjadi adenosin dan homosistein. Baik homosistein dan adenosin perlu dimetabolisme atau diangkut keluar dari sel untuk mencegah akumulasi dari AdoHcy. Selanjutnya remetilasi homosistein menjadi metionin dikatalisis oleh enzim *methionine synthase* (MS). MS membutuhkan vitamin B12 sebagai kofaktor. *Methionine synthase reductase* (MTRR) mengaktifkan kembali kompleks MS-Cbl (II) dengan metilasi reduktif, menggunakan AdoMet sebagai donor metil. Pada proses transsulfurasi, molekul homosistein dipertahankan selama reaksi remetilasi dan transmetilasi, tetapi dalam jalur transsulfurasi, homosistein akan terdegradasi menjadi sistein. Transsulfurasi difasilitasi oleh dua enzim yang bergantung pada vitamin B6 yaitu *cystathionine β -synthase* (CBS) dan *cystathionine γ -lyase* (CTH). CBS mengkatalisis kondensasi homosistein dan serin menjadi sistationin sedangkan CTH selanjutnya mengkatalisis hidrolisis sistationin menjadi sistein dan α -ketobutirat (Blom & Smulders, 2011).

Pada metabolisme folat, metilasi homosistein menjadi metionin membutuhkan enzim *methionine synthase* (MS)/*5-methyltetrahydrofolate-homocysteine methyltransferase* (MTR). *Tetrahydrofolat* (THF) yang dihasilkan dikonversi menjadi 5,10-metilen THF dengan bantuan *serine hydroxymethyltransferase* (SHMT). Konversi THF menjadi 5,10-metilen THF, melalui 10-formilTHF dan 5,10-metenilTHF, dikatalisis oleh enzim trifungsional *methylenetetrahydrofolate dehydrogenase* (MTHFD1). 10-formylTHF dapat menyumbangkan gugus satu karbon untuk biosintesis purin, sedangkan 5,10-methyleneTHF dapat direduksi menjadi 5-methylTHF oleh riboflavin (vitamin B2) yang berikatan dengan enzim *methylenetetrahydrofolate reductase* (MTHFR). Fungsi enzim MTHFR

sangat penting untuk pengaturan 5-metilTHF yang tersedia untuk remetilasi homosistein. *Methylenetetrahydrofolate dehydrogenase* (MTHFD) adalah enzim yang terlibat dalam metabolisme folat, protein trifungsional yang berperan sebagai perantara interkonversi 5,10-MTHF, 5,10-methenilTHF, dan 10-formilTHF. 5,10-MTHF dan 10-formilTHF adalah kofaktor donor untuk biosintesis de novo purin dan pirimidin yang berperan dalam biosintesis DNA (Blom & Smulders, 2011).



Gambar 6. Jalur metabolisme homosistein dan folat (Blom & Smulders., 2011).

Vitamin B12 yang merupakan vitamin larut air juga memiliki peran penting sebagai koenzim berbagai reaksi biokimia dan memberikan suplai gugus metil yang diperlukan untuk sintesis DNA serta protein. Metil B12 merupakan kofaktor untuk sintesis metionin, sedangkan deoksiadenosil B12 digunakan untuk konversi koenzim-A menjadi suksinil koenzim-A. Vitamin B12 diserap di ileum ketika telah terikat di faktor intrinsik yang dihasilkan oleh sel parietal di mukosa lambung (Hoffbrand & Moss., 2016). Sumber utama vitamin B12 adalah makanan hewani seperti daging dan susu. Defisiensi vitamin B12 dapat terjadi pada anemia pernisiiosa akibat defisiensi

faktor intrinsik di dalam lambung maupun pada pasien dengan gangguan absorpsi, pencernaan, dan juga obat-obatan. Vitamin B12 terikat dengan protein makanan. Saat dicerna dalam gaster, HCl akan melepaskan ikatan vitamin B12 dengan protein pembawanya yaitu haptocorrin dan transkobalamin (Mahmood., 2014; Vashi *et al.*, 2016).

Sebagian besar vitamin B12 yang bersirkulasi terikat oleh haptocorrin, namun transkobalamin mengikat 22-37% plasma vitamin B12, dan bertanggung jawab atas 99% transportasi vitamin B12 ke dalam jaringan. Pada manusia, gen yang mengkode transkobalamin (TCN2) bersifat polimorfik (Sachadyn *et al.*, 2010). Salah satu bentuk aktif vitamin B12 adalah sebagai adenosil B12 (AdoB12). Pada defisiensi vitamin B12 akan terjadi penurunan kadar adenosil B12 (AdoB12) yang akan mengakibatkan penurunan aktivitas *methyl malonil CoA mutase/ MCM* sehingga kadar metil malonil CoA meningkat. Metil malonil CoA akan dipecah oleh *D-methyl malonil CoA hydrolase* menjadi CoA dan *methyl malonil acid* (MMA). Jika metil malonil CoA meningkat maka kadar MMA juga meningkat (Hannibal *et al.*, 2016).

Bersama dengan folat, vitamin B12 memiliki peran penting dalam siklus metionin. Vitamin B12 merupakan koenzim untuk reaksi biokimia, yaitu sebagai metil B12 yang merupakan kofaktor untuk *methionine synthase*, yaitu enzim yang bertanggung jawab untuk metilasi homosistein menjadi metionin menggunakan *5-methyltetrahydrofolate* (MTHF/metil THF) sebagai donor metil. Sebagai deoksiadenosil B12 (Ado B12), akan membantu konversi MMA menjadi suksinil Co A. Vitamin B12 juga merupakan donor metil untuk sekitar 100 substrat yang berbeda, termasuk DNA, RNA, hormon, protein, dan lemak. Pemeriksaan homosistein (dengan metode pemeriksaan ELISA atau HPLC), MMA plasma, MMA serum, dan MMA urin 24 jam (ketiganya dengan menggunakan metode pemeriksaan HPLC/ELISA) digunakan sebagai uji untuk mengetahui adanya defisiensi vitamin B12, yang mana kadarnya akan meningkat (Mehta & Hoffbrand., 2014; Adediran *et al.*, 2016; Coria-Ramirez *et al.*, 2010; Vashi *et al.*, 2016; Haloi & Das., 2014;

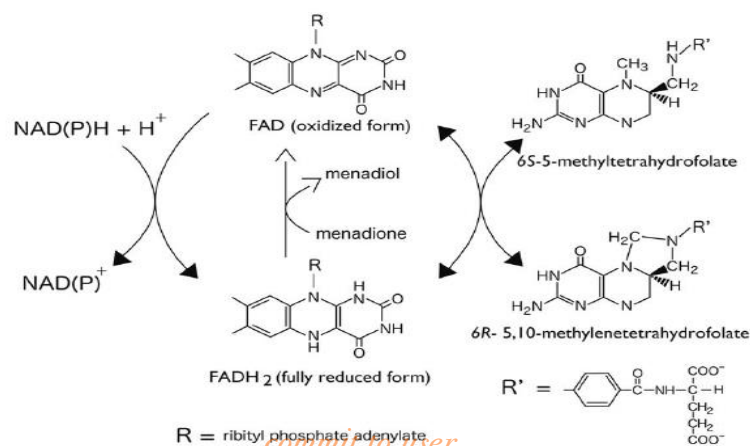
Wintrobe., 2014). Pemeriksaan MMA plasma juga bisa menjadi prediktor adanya gangguan pada jalur pembentukan homosistein (Coria-Ramirez *et al.*, 2010). Pemeriksaan MMA lebih spesifik dalam mengetahui defisiensi vitamin B12 dibanding pemeriksaan homosistein (Vashi *et al.*, 2016).

Kadar homosistein plasma merupakan penanda yang sensitif terhadap defisiensi folat dan vitamin B12. Pengukuran kadar folat darah mudah dilakukan namun tidak sensitif dan spesifik. Kadar folat dalam darah sangat dipengaruhi oleh intake yang dimakan dan kadar folat dalam eritrosit. Disfungsi MTHFR menghambat konversi homosistein menjadi metionin dan menyebabkan naiknya kadar homosistein (Yasar *et al.*, 2012; Ni *et al.*, 2017). Defisiensi folat pada infeksi HIV dipengaruhi oleh intake dari makanan yang kurang atau perubahan patologi anatomi dari jejunum. Defisiensi vitamin B12 pada penderita terinfeksi HIV mungkin disebabkan oleh malabsorpsi pada ileum atau kelainan pada gaster akibat kerusakan susunan mukosa karena infeksi virus (Mata-Marín *et al.*, 2010). Status nutrisi seseorang penting untuk diketahui dalam pengukuran kadar homosistein plasma karena metabolismenya sangat tergantung status vitamin dan makanan, sehingga pemeriksaan homosistein biasanya dilakukan dalam keadaan puasa (Coria-Ramirez *et al.*, 2010).

Peningkatan kadar homosistein dapat menyebabkan peningkatan radikal bebas karena homosistein menginduksi translokasi sitokrom C dan menghambat aktivitas kompleks dari mitokondria serta aktivasi beberapa sitokin dan peroksidasi lipid. Sitokrom C merupakan protein yang berguna dalam respirasi mitokondria dan sebagai inisiator apoptosis. Homosistein juga dapat meningkatkan kadar 8-OHdG karena perubahan dalam kompleks rantai transfer elektron yang menyebabkan *electron leakage*. 8-OHdG adalah marker sensitif untuk stress oksidatif (Chen *et al.*, 2017; Yasar *et al.*, 2012). Peningkatan kadar homosistein berkaitan dengan penyakit kardiovaskular (penyakit jantung koroner, penyakit serebrovaskular, dan trombosis vena), penipisan saraf pada retinopati diabetik, penyakit ginjal, diabetes, *neural tube defect*, dan sindrom Down (Liu *et al.*, 2017; Srivastav *et al.*, 2016).

5. *Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR)*

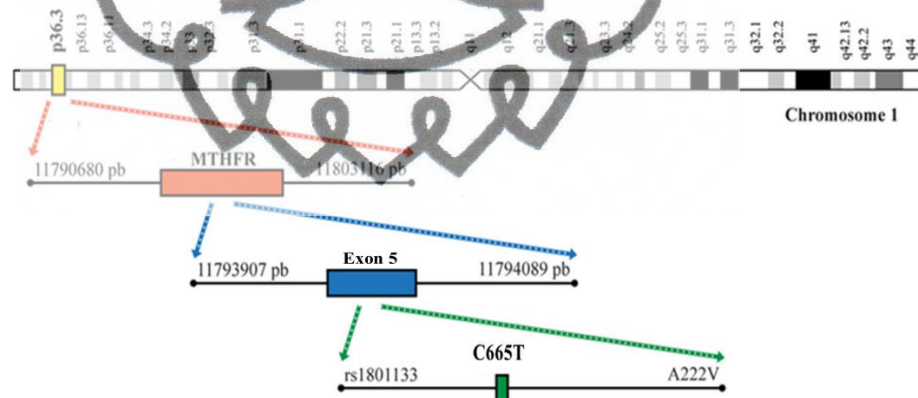
Methylenetetrahydrofolate reductase/MTHFR yaitu enzim yang berperan dalam remetilasi yang mengkonversi homosistein menjadi metionin. Enzim tersebut bertanggung jawab terhadap distribusi folat dan peningkatan konsentrasi homosistein total plasma. Enzim MTHFR adalah flavoprotein yang dibentuk oleh dimer, membutuhkan flavin adenin dinukleotida (FAD) sebagai kofaktor untuk fungsi katalitiknya. MTHFR mengkatalisasi reaksi ireversibel dalam metabolisme homosistein. Aktivitas MTHFR dipengaruhi oleh adanya fosforilasi, dimana fosforilasi dapat menurunkan aktivitas MTHFR melalui peningkatan sensitivitas enzim terhadap S-Adenosilmetionin. Fosforilasi MTHFR dapat menurunkan aktivitas kerja enzim sampai 20% sehingga lebih mudah dihambat oleh S-Adenosilmetionin. MTHFR menggunakan NAD(P)H untuk mereduksi FAD, selanjutnya FAD yang tereduksi akan mereduksi *methylenetetrahydrofolate* (Shahzad *et al.*, 2013). MTHFR adalah homodimer dan setiap subunit (70~77 kDa) terdiri dari sebuah *catalytic domain* dan sebuah *regulatory domain*. Setiap monomer mengandung *N-terminal catalytic domain* yang mengikat kofaktor dan folat FAD, dan *C-terminal regulatory domain* yang mengikat *allosteric S-adenosylmethionine* yang akan menghambat aktivitas enzim sebagai respon terhadap metionin dalam sel. Di setiap monomer, *catalytic domain* terletak di posisi 665 dan *regulatory domain* di posisi 1286 (Igari *et al.*, 2011; Uniprot., 2019) (Gambar 7).



Gambar 7. Reaksi katalisis enzim MTHFR

Kurangnya produksi folat di tubuh dapat disebabkan oleh kelainan analisis pengkodean genetik pada enzim yang berperan dalam jalur metabolisme yaitu MTHFR (Li *et al.*, 2015; Ni *et al.*, 2017; Leclerc *et al.*, 2013; Al-Batayneh *et al.*, 2018). Faktor genetik sangat dipercaya sebagai penyebab berbagai kelainan walaupun faktor lingkungan juga sangat berpengaruh. Beberapa genotip berhubungan dengan faktor lingkungan spesifik seperti salah satunya adalah nutrisi. Faktor ini dapat memberikan dampak yang sangat bermakna pada terjadinya anemia (Bortolus *et al.*, 2014).

Gen *MTHFR* terletak pada kromosom 1p36.3 (kromosom 1 lengan pendek pada regio 3 band 6 sub-band 3) dengan panjang 2.2 kb (Gambar 8). *MTHFR* terdiri dari 12 ekson yang mengkode 656 asam amino penyusun ~70 kDa protein. Polimorfisme yang paling sering adalah C665T yang terletak pada ekson 5. C665T diketahui berhubungan dengan defisiensi enzim *MTHFR* dan menyebabkan peningkatan kadar homosistein (Mahood *et al.*, 2015; Yasar *et al.*, 2012).



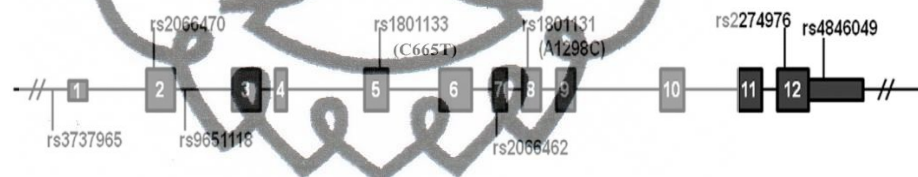
Gambar 8. Lokus Gen *MTHFR* pada kromosom 1 dan lokasi polimorfisme C665T (rs1801133) di ekson 5 (López-Cortés *et al.*, 2015).

a. Polimorfisme Gen *MTHFR*

Polimorfisme adalah variasi alami dari gen, sekuens DNA, atau kromosom yang tidak menyebabkan efek pada individu dan terjadi dalam jumlah yang cukup besar pada populasi. Polimorfisme mengenai satu atau lebih varian sekuens DNA. Tipe polimorfisme yang paling umum adalah variasi dari satu pasang basa (*single nucleotide polymorphism*: SNPs).

Missense mutation atau polimorfisme dapat mengubah struktur protein. *Silent polymorphysm* dan *point mutation* pada intron atau *untranslated region* yang tidak mengubah struktur protein dapat juga mengubah fungsi gen. Mutasi yang berada pada intron maupun ekson dapat mengakibatkan lompatan pada ekson atau membuat lokasi penyambungan baru yang mempunyai efek pada mRNA (Granner & Anthony., 2013).

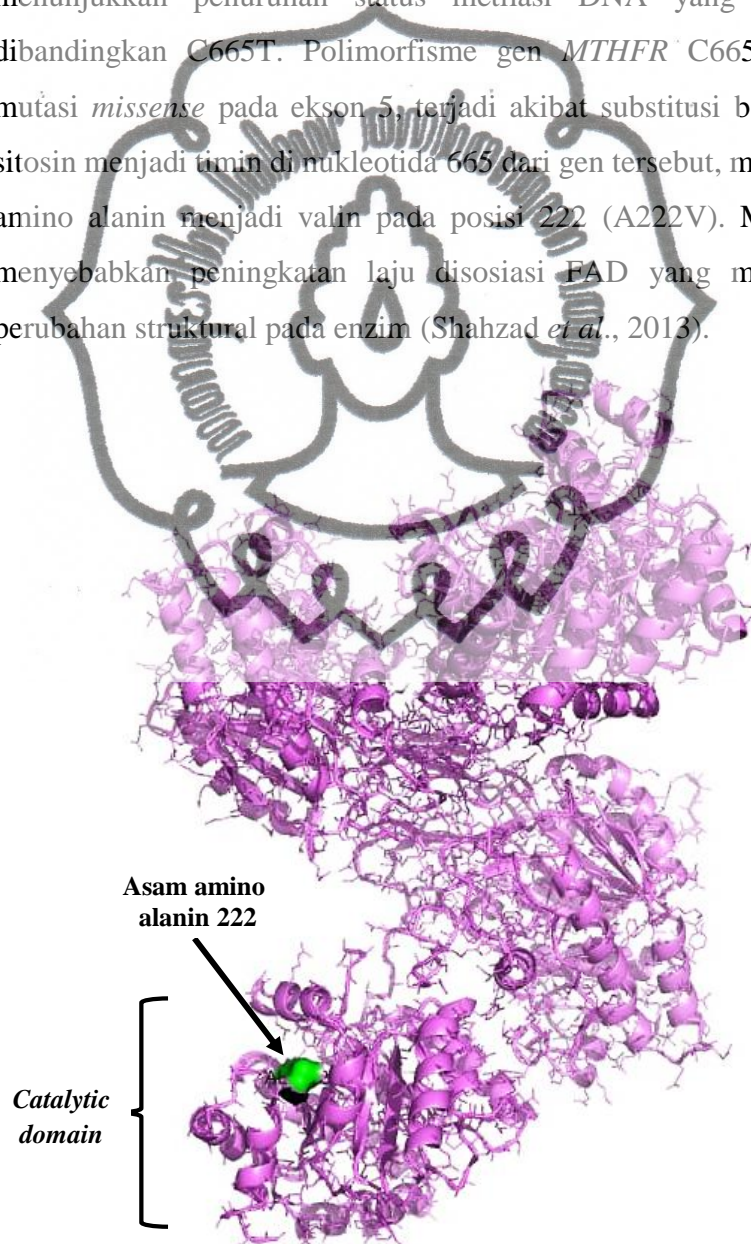
Faktor genetik memegang peran penting dalam berbagai gangguan. MTHFR merupakan enzim kunci dalam metabolisme metionin, folat dan proses sintesis DNA serta regulasi kadar homosistein in vivo (Li *et al.*, 2014; Mahood *et al.*, 2015). Para peneliti telah menunjukkan bahwa 2 polimorfisme genetik, *MTHFR* C665T dan *MTHFR* A1286C yang sebelumnya dikenal sebagai *MTHFR* C677T dan *MTHFR* A1298C, dapat mengurangi aktivitas MTHFR dan terkait dengan beberapa gangguan (Smolkin & Perrota., 2017; Dean, L., 2016; Ravel *et al.*, 2009) (Gambar 9).



Gambar 9. Struktur genomik *MTHFR* yang terdiri dari 12 ekson dan delapan (8) polimorfisme termasuk C665T (rs 1801133). Kotak 1-12 menunjukkan ekson, sedangkan garis diantara kotak menunjukkan intron. Jarak dan lokasi pada bagan adalah perkiraan (Spellicy *et al.*, 2012).

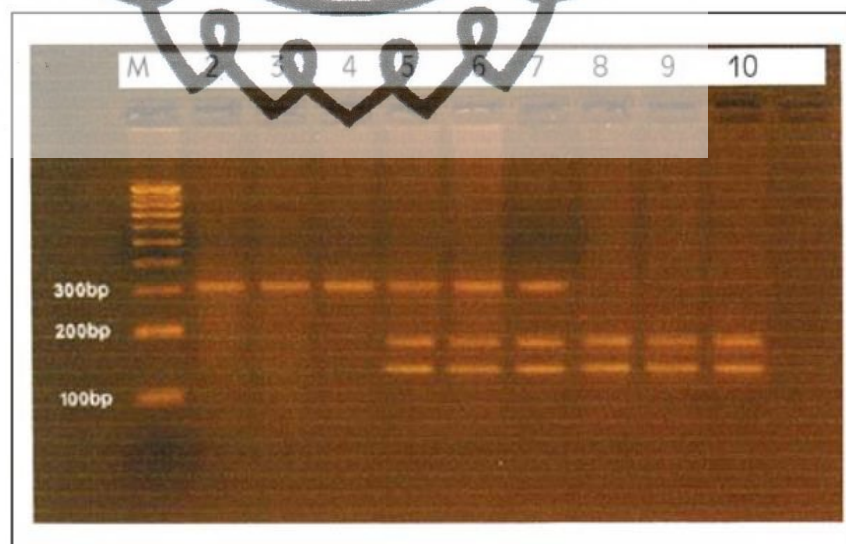
Antonarakis *et al* (1998) melaporkan bahwa terminasi C665T menggantikan C677T untuk polimorfisme gen *MTHFR* C665T. Publikasi-publikasi setelahnya masih banyak yang memakai terminasi C677T. Perbedaan tersebut disebabkan oleh penomoran nukleotida pertamanya. Konsensus penghitungan urutan basa nukleotida dimulai dari *start codon* ATG yang menyandi asam amino metionin. Pada polimorfisme gen *MTHFR* C677T, 12 basa nukleotida berada sebelum *start codon* yang tidak diketahui lokasinya (Ueland & Rozen., 2005).

Polimorfisme C665T merupakan polimorfisme tersering di gen *MTHFR*, sedangkan polimorfisme A1286C merupakan polimorfisme tersering kedua. Polimorfisme A1286C juga mempengaruhi aktivitas enzim MTHFR tanpa perubahan biokimia dan tidak berkaitan dengan defisiensi vitamin B12. Polimorfisme C665T berhubungan dengan penurunan signifikan dari status metilasi DNA, sedangkan A1286C menunjukkan penurunan status metilasi DNA yang lebih rendah dibandingkan C665T. Polimorfisme gen *MTHFR* C665T merupakan mutasi *missense* pada ekson 5, terjadi akibat substitusi basa nukleotida sitosin menjadi timin di nukleotida 665 dari gen tersebut, mengganti asam amino alanin menjadi valin pada posisi 222 (A222V). Mutasi A222V menyebabkan peningkatan laju disosiasi FAD yang mengarah pada perubahan struktural pada enzim (Shahzad *et al.*, 2013).



Gambar 10. Posisi *catalytic domain* dan asam amino alanin 222 pada struktur 3 dimensi enzim MTHFR genotip *wild type* (Uniprot., 2019).

Polimorfisme gen *MTHFR* diperiksa dengan metode PCR *Restriction Fragment Length Polymorphism* (RFLP) (Gambar 11) menggunakan primer *forward* F-5'CCT TGA ACA GGT GGA GGC CAG-3' dan *reverse* 5'GCG GTG AGA GTG GGG TGG AG-3' (Yasar *et al.*, 2012; Ni *et al.*, 2017; Leclerc *et al.*, 2013; Al-Batayneh *et al.*, 2018; Mahood *et al.*, 2015; Elhawary *et al.*, 2015). Posisi urutan 665 berlokasi pada domain enzim katalitik yang menyebabkan penurunan afinitas enzim sehingga enzim menjadi termolabil dan menurunkan aktivitas katalitik sebesar 50% yang meningkatkan kadar homosistein sekitar 25% (Mahood *et al.*, 2015). Populasi polimorfisme gen *MTHFR* C665T berkisar antara 4,5-44,9%. Polimorfisme gen *MTHFR* C665T akan menyebabkan enzim *MTHFR* menjadi termolabil (*MTHFR* kurang aktif pada temperatur tinggi) dan mengurangi aktivitas enzim tersebut sehingga berdampak pada menurunnya konsentrasi 5-MTHF dan meningkatnya kadar homosistein yang menyebabkan beberapa gangguan dan penyakit (Ni *et al.*, 2017; Leclerc *et al.*, 2013; Al-Batayneh *et al.*, 2018).



Gambar 11. *Genotyping* gen *MTHFR* C665T pada gel elektroforesis. Lajur 2-4 menunjukkan genotip CC, lajur 5-7 menunjukkan genotip CT dan lajur 8-10 menunjukkan genotip TT (Al-Batayneh *et al.*, 2018).

Penelitian oleh Zhang (2017) menunjukkan hubungan signifikan antara anemia megaloblastik dengan polimorfisme *MTHFR* C665T,

namun tidak berhubungan signifikan dengan polimorfisme gen *MTHFR* A1286C dan *MTRR* (5 methyl tetra hydro folate homocysteine methyl transferase reductase) A66G. Yang *et al* (2013) mendapatkan frekuensi polimorfisme gen *MTHFR* 665TT di Cina 23,2% sedangkan frekuensi polimorfisme gen *MTHFR* 1286CC 3,9%. Frekuensi alel 665T dan frekuensi genotip 665TT tidak berbeda signifikan antara pria dan wanita. Esfahani *et al* (2003) mendapatkan prevalensi perempuan Asia dengan polimorfisme *MTHFR* C665T genotip TT 3,8%, sedangkan untuk polimorfisme *MTHFR* A1286C genotip CC adalah 1,9%, dan mendapatkan polimorfisme *MTHFR* A1286C paling banyak didapat pada perempuan berkulit putih daripada etnis lain. Sadewa *et al* (2002) dalam penelitiannya tentang mutasi gen *MTHFR* C665T di Jawa mendapatkan frekuensi genotip CC 84%, genotip CT 16%, genotip TT 0%. Subjek penelitian berjumlah 68 orang tanpa memandang etnis.

Polimorfisme gen *MTHFR* C665T dapat menyebabkan anemia makrositik (Li *et al.*, 2015; Haloi & Das., 2014), *neural tube defect*, anensefali (Haloi & Das., 2014; Al-Batayneh *et al.*, 2018; Tsang *et al.*, 2015), penyakit vaskular gangguan neurologi seperti neuropati perifer (Adewumi *et al.*, 2013; Mitchell *et al.*, 2014), gangguan kognitif seperti demensia, gangguan psikiatri (gangguan bipolar, depresi, dan skizofrenia) (Mitchell *et al.*, 2014), hipertensi, vitiligo (Yasar *et al.*, 2012), kelainan hematologi, kanker (Al-Batayneh *et al.*, 2018), komplikasi pada kehamilan (preeklamsi, abortus spontan, solusio plasenta, stroke perinatal) (Mahood *et al.*, 2015).

b. Polimorfisme Gen *MTHFR* C665T pada Anemia Makrositik

Polimorfisme gen *MTHFR* C665T menyebabkan penurunan fungsi enzim *MTHFR* dan kadar folat, defisiensi vitamin B12, dan meningkatkan kadar homosistein plasma (Li *et al.*, 2015; Haloi & Das., 2014; Ni *et al.*, 2017; WHO., 2015). Defisiensi vitamin B12 diakibatkan gangguan metabolisme homosistein yang akan meningkatkan konsumsi vitamin B12. Polimorfisme gen *MTHFR* C665T juga berkaitan dengan gangguan

absorpsi vitamin B12, sehingga genotip *MTHFR* dapat menjadi salah satu marker potensial dalam perkembangan defisiensi vitamin B12 (Yasar *et al.*, 2012; Al-Batayneh *et al.*, 2018). Peningkatan kadar homosistein pada polimorfisme gen *MTHFR* C665T plasma dapat dikurangi dengan pemberian folat dan vitamin B12 (Haloi & Das., 2014; Ni *et al.*, 2017). Gangguan fungsi enzim *MTHFR* dapat mengakibatkan pergeseran keseimbangan hipometilasi. Tidak adanya donor metil dari 5-metilTHF pada siklus metionin-homosistein menyebabkan homosistein tidak dapat diubah kembali menjadi metionin sehingga meningkatkan produksi S-adenosilmetionin (SAM) yang berperan pada metilasi DNA. Sintesis purin dan pirimidin juga membutuhkan faktor esensial seperti 5,10-metilenTHF dan derivatnya. Hal ini menyebabkan aktivitas *MTHFR* sangat berhubungan dengan sintesis dan metilasi DNA. Defisiensi folat dan vitamin B12 serta gangguan pada sintesis DNA akan menyebabkan gangguan pada maturasi inti eritrosit yang berpengaruh pada keterlambatan pembelahan sel sehingga eritrosit menjadi lebih besar (makrositik) dan menimbulkan anemia makrositik (Christensen *et al.*, 2015; Veda., 2013; Hoffbrand & Moss., 2016).

Penurunan fungsi enzim *MTHFR* yang diakibatkan oleh polimorfisme C665T merupakan faktor yang berhubungan dengan peningkatan kadar homosistein plasma. Kadar folat eritrosit menggambarkan status folat pada saat eritropoiesis. Kadar homosistein didapatkan meningkat secara bermakna pada individu dengan genotip TT dibandingkan genotip CC. Polimorfisme gen *MTHFR* C665T menurunkan stabilitas dan aktivitas enzim sehingga membatasi utilisasi folat. Individu dengan genotip TT secara signifikan memiliki kadar homosistein yang lebih tinggi pada kondisi status folat rendah. Polimorfisme C665T berhubungan dengan peningkatan homosistein plasma pada kondisi status folat rendah. Alel T juga berhubungan pada populasi dengan defisiensi vitamin B12, penurunan aktivitas enzim *MTHFR*, penurunan kadar folat, dan peningkatan kadar homosistein (Ni *et al.*, 2017; Al-Batayneh *et al.*,

2018; Mahood *et al.*, 2015). Genotip *MTHFR* C665T bersamaan dengan A1286C dikaitkan dengan peningkatan risiko hiperhomosisteinemia (Yakub *et al.*, 2012).

6. Faktor yang Mempengaruhi Progresivitas Infeksi HIV

a. Anemia

Anemia merupakan masalah klinis pada penderita terinfeksi HIV. Penelitian di Rwanda dengan 200 subjek penelitian terinfeksi HIV dan 50 subjek penelitian tidak terinfeksi HIV didapatkan bahwa prevalensi anemia lebih tinggi secara signifikan pada subjek penelitian HIV positif (29%) dibandingkan dengan subjek penelitian HIV negatif (8%) (Redig & Berliner., 2013; Masaisa *et al.*, 2011). Beberapa penelitian kohort mendapatkan hasil bahwa anemia memiliki prognosis tidak baik terhadap morbiditas dan mortalitas yang signifikan pada penderita terinfeksi HIV, menurunkan ketahanan hidup (rasio hazard 26, 95% CI 1,9-3,4), dan mempercepat progresivitas penyakit pada penderita terinfeksi HIV (Redig & Berliner., 2013; Meidani *et al.*, 2012).

b. Jenis Kelamin

Penelitian di Afrika Selatan dengan subjek penelitian 7.354 pasien yang mendapatkan terapi ARV didapatkan bahwa laki-laki 20% lebih tinggi berisiko mengalami kematian pada terapi selama 24 bulan dan 36 bulan dibandingkan wanita. Jenis kelamin perempuan dan usia di bawah 40 tahun pada ODHA dengan infeksi TB yang mendapat kombinasi terapi ARV mengalami peningkatan jumlah CD4 yang lebih baik (Ezeamama *et al.*, 2015). Jenis kelamin berpengaruh pada jumlah sel CD4 pada kelompok yang terinfeksi HIV maupun kelompok yang tidak terinfeksi. Laki-laki memiliki jumlah sel CD4 lebih sedikit dibanding perempuan, sehingga rendahnya jumlah CD4 pada awal pengobatan merupakan konsekuensi dari rendahnya jumlah sel CD4 sebelum terinfeksi HIV (Malaza *et al.*, 2013).

c. Indeks Massa Tubuh (IMT)

Rerata IMT pada ODHA yang mendapat terapi ARV terjadi peningkatan 0,92 kg/m²/tahun (95% CI: 0,83-1) selama 0-1 tahun pertama dan 0,31 kg/m²/tahun pada 1-4 tahun. Perubahan IMT pada 0-1 tahun pertama berhubungan dengan umur (0,15 (0,06-0,24)) kg/m², jumlah sel CD4<199 sel/ μ L dibandingkan >350 sel/ μ L dengan nilai p=0,001, golongan ras kulit hitam dibanding kulit putih (0,28 (0,16-0,31)) kg/m², kombinasi terapi ARV secara individu hanya sedikit berbeda sebagai kontribusi perubahan IMT. Pada pasien wanita yang mendapat terapi HAART rutin, status gizi *overweight* sebelum terapi tidak berhubungan dengan penurunan risiko kematian akibat AIDS maupun non AIDS. Status gizi *underweight* sebelum terapi memiliki risiko 2 kali lebih tinggi terhadap kematian karena AIDS (Sharma & Yadav., 2014).

d. Usia

Usia penderita yang lebih tua dengan kadar Hb rendah atau IMT rendah meningkatkan risiko kematiannya. Pertambahan usia berhubungan dengan peningkatan kejadian anemia pada infeksi HIV. Anemia pada infeksi HIV 37,4% terjadi pada usia \leq 35 tahun, 40,8% pada usia 36-45 tahun dan 46,7% pada usia > 46 tahun (Fransiska & Kurniawaty., 2015). Pasien dengan *viral load* >400 copies/mL, usia yang lebih tua, dan mempunyai rerata CD4 lebih rendah meningkatkan angka kematian (Malaza *et al.*, 2013).

The flowchart illustrates the pathogenesis of macrocytic anemia in HIV patients receiving Zidovudine (AZT) therapy, highlighting the role of MTHFR polymorphism (C665T).

HIV Infection Pathway:

- HIV leads to **T CD4 di GALT** and **Anti-gp 120 di sel parietal gaster**.
- T CD4 di GALT** leads to **Infiltrasi GI**.
- Anti-gp 120 di sel parietal gaster** leads to **FI** (Folate Inadequacy).

Zidovudine (AZT) Pathway:

- Zidovudine is converted to **AZT MP**, **AZT DP**, **AZT TP**, and **AMT**.
- AZT MP** leads to **AZT DP**, which leads to **AZT TP**, which leads to **DNA pol**.
- AZT TP** leads to **DNA pol**.
- AMT** leads to **Progenitor Hematopoietik**.

MTHFR Polymorphism (C665T) and Folate Metabolism:

- Polimorfisme MTHFR C665T** leads to **Aktivitas MTHFR ↓**.
- Aktivitas MTHFR ↓** leads to **Folat ↓**.
- Folat ↓** leads to **Kadar Homosistein ↑**.
- Kadar Homosistein ↑** leads to **NADPH oksidase**, which leads to **ROS ↑**.
- ROS ↑** leads to **mt DNA** and **Sintesis DNA**.
- mt DNA** leads to **Sintesis DNA**.
- Sintesis DNA** leads to **Eritropoiesis**.

Intake and GI Effects:

- Intake ↓ Diare Vomitus** leads to **Vit B12 ↓**.
- Vit B12 ↓** leads to **Ado B12 ↓** and **Metil B12 ↓**.
- Ado B12 ↓** leads to **Kadar MMA ↑**.
- Metil B12 ↓** leads to **Folat ↓**.

Final Outcomes:

- Kadar MMA ↑** leads to **Anemia makrositik**.
- Kadar Hb ↓** and **Nilai MCV ↑** lead to **Anemia makrositik**.
- Perdarahan gastrointestinal**, **Lesi gastrointestinal**, and **Infeksi oportunistik** lead to **Kadar Hb ↓** and **Nilai MCV ↑**.

Gambar 12. Kerangka teori

Infeksi HIV pada tubuh manusia akan menyebabkan terjadinya disfungsi sistem imun tubuh, yaitu terjadi defisiensi sekaligus aktivasi sistem imun itu sendiri (Abbas *et al.*, 2017). Defisiensi imun terutama terjadi pada limfosit T

CD4 karena limfosit T CD4 merupakan reseptor primer HIV. Organ limfoid penting yang menjadi target utama infeksi HIV adalah *gut-associated lymphoid tissue* (GALT) karena terdapat banyak sel limfosit T CD4 di jaringan tersebut (Kasper *et al.*, 2015).

Anemia pada penderita terinfeksi HIV dapat disebabkan oleh karena penyakit kronik maupun karena efek samping pengobatan HIV. *Zidovudine* merupakan obat HIV yang paling sering menyebabkan anemia makrositik. Defisiensi vitamin B12 dapat menyebabkan anemia makrositik yang ditandai dengan peningkatan kadar homosistein dan *methylmalonic acid* (MMA) (Goyal *et al.*, 2016). Kehilangan darah pada traktus gastrointestinalis atau lesi saluran cerna akibat infeksi oportunistik juga dapat menyebabkan anemia pada infeksi HIV (Opie., 2012).

Anti-gp120 ditemukan predominan pada mikrovili sel parietal gaster. Abnormalitas fungsi sekresi sel parietal didapatkan pada awal infeksi HIV dan mempengaruhi sekresi faktor intrinsik (FI) (Kasper *et al.*, 2015). Ikatan FI dengan vitamin B12 diperlukan untuk absorpsi vitamin di ileum distal (Hoffbrand & Moss., 2016). Defisiensi vitamin B12 pada penderita terinfeksi HIV juga disebabkan oleh intake yang kurang, diare, vomitus dan terapi ARV (Adediran *et al.*, 2016).

Metabolisme *zidovudine* terjadi melalui proses fosforilasi di limfosit melibatkan 3 jalur aktivitas kinase seluler dan menghasilkan AZT-trifosfat (AZT-TP), glukoronil-AZT (GAZT) dan aminodeoksitimidin (AMT) yang bersifat toksik (Katzung & Trevor., 2015). Penggunaan *zidovudine* jangka panjang dapat menyebabkan peningkatan produksi *reactive oxygen species* (ROS). Penggunaan *zidovudine* konsentrasi rendah dapat menghambat sel progenitor hematopoietik, namun demikian dasar molekuler *zidovudine* menginduksi hematotoksisitas belum dapat dijelaskan (Katzung & Trevor., 2015; Ghodkea *et al.*, 2012). *Zidovudine* mempunyai satu atom C aktif yang dapat meningkatkan ROS dan menyebabkan kerusakan mtDNA akibat akumulasi mutasi acak frekuensi rendah (*low frequency random mutation*) yang dikenal dengan *mutational load* yang memungkinkan terjadinya *Single*

Nucleotide Polymorphisms (SNPs) (Weil., 2015). Anemia paling sering muncul setelah 4-12 minggu setelah inisiasi terapi *zidovudine* (Kiragga *et al.*, 2010). AZT-TP dapat memiliki efek merugikan yaitu menghambat replikasi DNA mitokondria manusia dengan cara menghambat enzim DNA polimerase sehingga menyebabkan gangguan pada sintesis DNA (Ghodkea *et al.*, 2012; Ukoha *et al.*, 2015; Barik., 2016). Disfungsi DNA mitokondria (mtDNA) menyebabkan toksisitas hematologi pada penggunaan *zidovudine* (Ghodkea *et al.*, 2012). Gangguan pada sintesis DNA pada sel prekursor eritrosit menghambat maturasi eritrosit di sumsum tulang dan menyebabkan makrositosis yang ditandai dengan peningkatan MCV. *Zidovudine* merupakan obat HIV yang paling sering menyebabkan anemia makrositik (Kufel *et al.*, 2016).

Defisiensi folat dan vitamin B12 menyebabkan gangguan pada maturasi inti eritrosit yang berpengaruh pada keterlambatan pembelahan sel sehingga sel menjadi lebih besar/makrositosis (Veda., 2013). Vitamin B12 memiliki peran penting sebagai koenzim berbagai reaksi biokimia dan memberikan suplai gugus metil yang diperlukan untuk sintesis DNA serta protein (Hoffbrand & Moss., 2016). Bersama dengan folat, vitamin B12 memiliki peran penting dalam siklus metionin. Vitamin B12 merupakan koenzim untuk reaksi biokimia, yaitu sebagai metil B12 yang merupakan kofaktor untuk *methionine synthase*, yaitu enzim yang bertanggung jawab untuk metilasi homosistein menjadi metionin menggunakan *5-methyltetrahydrofolate* (MTHF/metil THF) sebagai donor metil. Sebagai deoksiadenosil B12 (Ado B12), akan membantu konversi MMA menjadi suksinil Co A. Pemeriksaan homosistein, MMA digunakan sebagai uji untuk mengetahui adanya defisiensi vitamin B12, yang mana kadarnya akan meningkat pada keadaan defisiensi vitamin B12 (Mehta & Hoffbrand., 2014; Adediran *et al.*, 2016; Coria-Ramirez *et al.*, 2010; Vashi *et al.*, 2016; Haloi & Das., 2014; Wintrobe., 2014). Peningkatan kadar homosistein dapat menyebabkan peningkatan radikal bebas yang dimediasi oleh aktivasi NADPH oksidase (Chen *et al.*, 2017; Yasar *et al.*, 2012).

Methylenetetrahydrofolate/MTHFR merupakan enzim yang berperan dalam remetilasi, dimana homosistein diubah menjadi metionin (mengkatalisis

5,10 MTHF menjadi 5 MTHF). Enzim tersebut bertanggung jawab terhadap distribusi folat dan peningkatan konsentrasi homosistein total plasma. Kurangnya produksi folat di tubuh dapat disebabkan oleh kelainan analisis pengkodean genetik pada enzim yang berperan dalam jalur metaboliknya yaitu MTHFR (Li *et al.*, 2015; Leclerc *et al.*, 2013; Al-Batayneh *et al.*, 2018; Ni *et al.*, 2017). Polimorfisme gen *MTHFR* C665T akan menyebabkan MTHFR menjadi termolabil dan aktivitasnya berkurang sehingga berdampak pada menurunnya konsentrasi 5-MTHF yang selanjutnya menurunkan kadar vitamin B12 dan folat serta meningkatkan kadar homosistein sehingga menyebabkan beberapa gangguan dan penyakit (Ni *et al.*, 2017; Leclerc *et al.*, 2013; Al-Batayneh *et al.*, 2018). Polimorfisme gen *MTHFR* C665T menyebabkan penurunan fungsi enzim dan kadar folat, meningkatkan kadar homosistein plasma dan hipometilasi genom DNA (Li *et al.*, 2015; Haloi & Das., 2014; WHO., 2015; Ni *et al.*, 2017). Polimorfisme gen *MTHFR* C665T berkaitan gangguan metabolisme homosistein yang akan meningkatkan konsumsi vitamin B12 sehingga genotip *MTHFR* dapat menjadi salah satu marker potensial dalam perkembangan defisiensi vitamin B12 (Yasar *et al.*, 2012; Al-Batayneh *et al.*, 2018; Mahood *et al.*, 2015).