

BAB V. HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

Penelitian mengenai peran polimorfisme gen *MTFHR* C665T dalam kejadian anemia makrositik pada penderita terinfeksi HIV etnis Jawa yang mendapat terapi *zidovudine* dilakukan di 12 fasilitas pelayanan kesehatan di Jawa Tengah. Populasi penelitian terdiri dari 503 penderita terinfeksi HIV yang berobat pada 12 fasilitas pelayanan kesehatan tersebut di atas.

Kategori jenis kelamin, kelompok usia, status marital, pekerjaan, perilaku berisiko dibagi berdasarkan Laporan Ditjen P2P (2018). Kategori usia dikelompokkan menjadi 4 kelompok yaitu kelompok usia 20-29 tahun, 30-39 tahun, 40-49 tahun dan 50-59 tahun. Status marital dikategorikan menjadi tidak menikah (belum menikah dan duda/janda) dan menikah. Pekerjaan subjek penelitian dikategorikan menjadi 3 kelompok yaitu ibu rumah tangga, karyawan, wiraswasta. Perilaku berisiko dikategorikan menjadi heteroseksual, homoseksual, biseksual dan lain-lain. Tingkat pendidikan subjek dibagi dalam 2 kategori yaitu pendidikan rendah dan pendidikan tinggi (Martoni, 2012). Pendidikan rendah meliputi tidak bersekolah sampai dengan lulus SMP (sesuai program pemerintah Indonesia wajib belajar 9 tahun dan pengetahuan dalam menerima informasi yang dinilai masih kurang), selebihnya dikategorikan sebagai pendidikan tinggi (Wahyuni, 2014). Kategori IMT dibagi berdasar kriteria WHO. Status gizi dibagi menjadi tiga kriteria yaitu *underweight* (IMT <18,5 kg/m²), *normoweight* (IMT 18,5-24,9 kg/m²), dan IMT ≥25 kg/m² dikategorikan sebagai *overweight* (Lim *et al.*, 2017).

Pemeriksaan hematologi dilakukan pada total populasi. Sejumlah 421 orang (83,7%) mengalami makrositosis (MCV >96 fL), dan sejumlah 148 orang menderita anemia (29,4%), yang terdiri dari 116 orang (78,4%) menderita anemia makrositik, sedangkan 24 orang (16,2%) mengalami anemia normositik dan 8 orang (5,4%) mengalami anemia mikrositik.

Tabel 4. Karakteristik subjek penelitian

| Karakteristik Subjek | Total Subjek Penelitian n = 232 | Kelompok Kasus n = 116 | Kelompok Kontrol n = 116 | Nilai p | OR; CI (95%) |
|---------------------------|------------------------------------|---------------------------|-----------------------------|---------------------|------------------|
| Jenis kelamin, n (%) | | | | <0,001* | |
| Laki-laki | 113 (48,7%) | 39 (33,62%) | 74 (63,79%) | | Ref |
| Perempuan | 119 (51,3%) | 77 (66,38%) | 42 (36,21%) | | 3,48; 2,03-5,97 |
| Usia (tahun) | | | | <0,001 ^a | 1,08; 1,04-1,11 |
| Rata-rata±SD | 39,01 ± 9,3 | 41,9 ± 9,4 | 36,2 ± 8,3 | | |
| Kelompok usia | | | | <0,001* | |
| 20-29 tahun | 36 (15,5%) | 10 (8,6%) | 26 (22,4%) | | Ref |
| 30-39 tahun | 101 (43,5%) | 46 (39,7%) | 55 (47,4%) | | 2,18; 0,95-4,98 |
| 40-49 tahun | 56 (24,2%) | 31 (26,7%) | 25 (21,6%) | | 3,00; 1,22-7,37 |
| 50-59 tahun | 39 (16,8%) | 29 (25,0%) | 10 (8,6%) | | 7,54; 2,71-20,99 |
| Status marital, n (%) | | | | 0,236* | |
| Tidak menikah | 126 (54,3%) | 58 (50,00%) | 68 (58,62%) | | 0,71; 0,42-1,19 |
| Menikah | 106 (45,7%) | 58 (50,00%) | 48 (41,38%) | | Ref |
| Tingkat pendidikan, n (%) | | | | <0,001* | |
| Rendah | 111 (47,8%) | 74 (63,8%) | 37 (31,9%) | | 3,76; 2,18-6,48 |
| Tinggi | 121 (52,2%) | 42 (36,2%) | 79 (68,1%) | | Ref |
| Pekerjaan, n (%) | | | | 0,021 [¥] | |
| Tidak bekerja | 9 (3,8%) | 3 (2,58%) | 6 (5,16%) | | Ref |
| Ibu rumah tangga | 65 (28,0%) | 49 (43,10%) | 16 (13,79%) | | 6,13; 1,37-27,35 |
| Karyawan | 118 (50,9%) | 41 (34,48%) | 77 (66,37%) | | 1,07; 0,25-4,48 |
| Wirawasta | 40 (17,3%) | 23 (19,84%) | 17 (14,68%) | | 2,71; 0,59-12,38 |
| Perilaku berisiko, n (%) | | | | 0,001* | |
| Homoseksual | 46 (19,8%) | 7 (6,0%) | 39 (33,6%) | | Ref |
| Heteroseksual | 164 (70,8%) | 102 (87,9%) | 62 (53,4%) | | 9,17; 3,86-21,75 |
| Biseksual | 11 (4,7%) | 3 (2,6%) | 8 (6,9%) | | 2,09; 0,44-9,86 |
| Lain-lain | 11 (4,7%) | 4 (3,5%) | 7 (6,1%) | | 3,18; 0,73-13,83 |
| IMT (kg/m ²) | | | | | |
| Rata-rata±SD | 22,6±3,68 | 22,11±3,63 | 22,65±3,63 | 0,236 ^a | |
| Status gizi | | | | 0,759* | |
| Normoweight [®] | 145 (62,5%) | 71 (61,2%) | 74 (63,8%) | | Ref |
| Underweight | 34 (14,7%) | 19 (16,4%) | 15 (12,9%) | | 1,32; 0,62-2,80 |
| Overweight | 53 (22,8%) | 26 (22,4%) | 27 (23,3%) | | 1,00; 0,54-1,88 |
| Lama pemakaian zidovudine | | | | | |
| ≤ 6 bulan | 21 (9,1%) | 15 (12,9%) | 6 (5,2%) | 0,039* | Ref |
| > 6 bulan | 211 (90,9%) | 101 (87,1%) | 110 (94,8%) | | 0,37; 0,14-0,98 |

*Uji Chi-square ^aUji t tidak berpasangan [¥]Uji Mann-Whitney U

1. Analisis Deskriptif Karakteristik Subjek Penelitian

Subjek penelitian pada kelompok kontrol didominasi jenis kelamin laki-laki 74 orang (63,79%). Subjek penelitian pada kelompok kasus didominasi jenis kelamin perempuan 77 orang (66,38%). Hasil analisis dengan uji *Chi-square* diperoleh nilai $p < 0,001$ sehingga menunjukkan adanya perbedaan signifikan jenis kelamin antara kedua kelompok.

Rata-rata usia subjek penelitian pada kelompok kasus $41,9 \pm 9,4$ dan kelompok kontrol $36,2 \pm 8,3$. Hasil uji Kolmogorov Smirnov didapatkan data berdistribusi normal dengan nilai $p = 0,091$. Uji beda *t* tidak berpasangan didapatkan nilai $p < 0,001$. Hal tersebut menunjukkan bahwa rata-rata usia antara kedua kelompok berbeda secara signifikan. Kelompok usia terbanyak adalah kelompok usia 30-39 tahun baik pada kelompok kasus (39,7%) maupun kelompok kontrol (47,4%). Hasil uji *Chi-square* diperoleh nilai $p < 0,001$, yang menunjukkan bahwa terdapat perbedaan signifikan antara kedua kelompok.

Status marital pada kelompok kasus sama banyak antara status menikah dan tidak menikah 58 orang (50,0%), sedangkan pada kelompok kontrol sebagian besar 68 orang (58,6%) tidak menikah. Hasil uji *Chi-square* menunjukkan bahwa status marital tidak berbeda signifikan antara kelompok kasus dan kelompok kontrol ($p = 0,236$).

Subjek penelitian pada kelompok kontrol sebagian besar berpendidikan tinggi 79 orang (68,1%) dan pada kelompok kasus berpendidikan rendah 74 orang (63,8%). Hasil uji *Chi-square* diperoleh nilai $p < 0,001$ sehingga menunjukkan adanya perbedaan tingkat pendidikan antara kedua kelompok.

Pekerjaan paling banyak pada kelompok kasus adalah ibu rumah tangga (43,01%), sedangkan pada kelompok kontrol adalah karyawan (66,37%). Hasil uji Mann Whitney U diperoleh nilai $p = 0,021$ yang menunjukkan perbedaan signifikan pekerjaan antara kedua kelompok.

Perilaku berisiko terbanyak pada kelompok kasus maupun kontrol adalah heteroseksual yaitu masing-masing 102 orang (87,9%) dan 62 orang

(53,4%). Hasil uji *Chi-square* diperoleh nilai $p=0,001$ yang menunjukkan ada perbedaan signifikan perilaku berisiko antara kedua kelompok.

Rata-rata IMT kelompok kasus $22,11\pm 3,63$ dan kelompok kontrol $22,65\pm 3,63$. Berdasarkan uji Kolmogorov Smirnov didapatkan data berdistribusi normal dengan nilai $p=0,064$. Hasil uji beda t tidak berpasangan didapatkan nilai $p=0,236$ yang menunjukkan rata-rata IMT antar kelompok penelitian tidak berbeda signifikan. Kelompok kasus maupun kelompok kontrol sebagian besar berstatus gizi normal (IMT 18,5-24,9), dengan jumlah masing-masing 71 orang (61,2%) dan 74 orang (63,8%). Hasil uji *Chi-square* didapatkan nilai $p=0,759$, yang berarti tidak terdapat perbedaan signifikan status gizi antara kedua kelompok.

Sebagian besar subjek penelitian pada kelompok kasus 101 orang (87,1%) dan kelompok kontrol 110 orang (94,8%) telah mengonsumsi *zidovudine* >6 bulan. Hasil uji *Chi-square* diperoleh nilai $p=0,039$ yang menunjukkan adanya perbedaan signifikan pada lama pemakaian *zidovudine* antara kedua kelompok.

2. Gambaran Hasil Pemeriksaan Laboratorium Subjek Penelitian

Gambaran hasil pemeriksaan laboratorium subjek penelitian dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Gambaran Hasil Pemeriksaan Laboratorium pada Subjek

| Hasil Pemeriksaan Laboratorium | Total Subjek Penelitian n = 232 | Kelompok Kasus n = 116 | Kelompok Kontrol n = 116 | Nilai p | OR; CI (95%) |
|----------------------------------|------------------------------------|---------------------------|-----------------------------|---------------------|-----------------|
| Kadar Hb (g/dL) | | | | | |
| Rata-rata (\pm SD) | 12,7 \pm 2,0 | 11,2 \pm 1,3 | 14,3 \pm 1,4 | <0,001 [¥] | |
| Median (min-maks) | 12,4 (4,6-17,8) | 11,5 (4,6-12,9) | 14,3(12,0-17,8) | | |
| Kategori Hb | | | | <0,001* | |
| Anemia | 116 (50,0%) | 116 (100%) | 0 (0%) | | |
| Bukan Anemia | 116 (50,0%) | 0 (0%) | 116 (100%) | | |
| Nilai MCV (fL) | | | | <0,001 ^a | |
| Rata-rata (\pm SD) | 109,3 \pm 8,9 | 112,0 \pm 7,3 | 106,6 \pm 9,5 | | |
| Kategori MCV | | | | 0,001* | |
| >96 fL | 219 (94,4%) | 116 (100%) | 103 (88,8%) | | |
| \leq 96 fL | 13 (5,6%) | 0 (0%) | 13 (11,2%) | | |
| Kadar MMA (ng/mL) | | | | | |
| Rata-rata (\pm SD) | 11,79 \pm 8,12 | 10,26 \pm 4,65 | 13,31 \pm 10,29 | <0,001 [¥] | |
| Median (min-maks) | 10,03 (5,55-112,75) | 8,67(5,55-38,35) | 11,71(5,81-112,75) | | |
| Kategori MMA | | | | 0,622 [®] | |
| >24,8 ng/mL | 4 (1,7%) | 1 (0,9%) | 3 (2,6%) | | 0,33;0,03-3,20 |
| \leq 24,8 ng/mL | 228 (98,3%) | 115 (99,1%) | 113 (97,4%) | | Ref |
| Kadar Homosistein (μ mol/L) | | | | | |
| Rata-rata (\pm SD) | 11,54 \pm 7,09 | 10,13 \pm 5,51 | 12,95 \pm 8,17 | <0,001 ^a | |
| Kategori Homosistein | | | | <0,001* | |
| >10 μ mol/L | 116 (50,0%) | 42 (36,2%) | 74 (63,8%) | | 0,32; 0,19-0,55 |
| \leq 10 μ mol/L | 116 (50,0%) | 74 (63,8%) | 42 (36,2%) | | Ref |
| Hasil PCR RFLP | | | | 0,474 [¥] | |
| Genotip CC | 172 (74,1%) | 83 (71,6%) | 89 (76,7%) | | |
| Genotip CT | 54 (23,3%) | 32 (27,5%) | 22 (19,0%) | | |
| Genotip TT | 6 (2,6%) | 1 (0,9%) | 5 (4,3%) | | |
| Polimorfisme gen <i>MTHFR</i> | | | | 0,453* | |
| Ya (C665T,T665T) | 60 (25,9%) | 33 (28,4%) | 27 (23,3%) | | 1,31; 0,73-2,36 |
| Tidak (C665C) | 172 (74,1%) | 83 (71,6%) | 89 (76,7%) | | Ref |

^a Uji t tidak berpasangan [¥]Uji Mann-Whitney U [®]Uji Fischer Exact *Uji Chi-square

Rata-rata kadar Hb kelompok kasus $11,2 \pm 1,3$ g/dL dan kelompok kontrol $14,3 \pm 1,4$ g/dL. Hasil uji normalitas didapatkan data kadar Hb berdistribusi tidak normal dan hasil uji Mann Whitney U didapatkan nilai $p < 0,001$ yang menunjukkan adanya perbedaan kadar Hb yang signifikan antara kedua kelompok. Kadar Hb dibagi menjadi dua kategori yaitu anemia dan bukan anemia. Berdasarkan uji *Chi-square* didapatkan nilai $p < 0,001$ yang menunjukkan terdapat perbedaan signifikan kategori kadar Hb antara kedua kelompok.

Rata-rata nilai MCV kelompok kasus $112,0 \pm 7,3$ fL dan kelompok kontrol $106,6 \pm 9,5$ fL. Hasil uji t tidak berpasangan didapatkan nilai $p < 0,001$ yang menunjukkan rata-rata nilai MCV antar kelompok berbeda signifikan. Nilai MCV dibagi menjadi dua kategori yaitu >96 fL dan ≤ 96 fL. Berdasarkan uji *Chi-square* didapatkan nilai $p = 0,001$ yang menunjukkan terdapat perbedaan signifikan kategori MCV antara kedua kelompok.

Rata-rata kadar MMA pada kelompok kasus $10,26 \pm 4,65$ ng/mL, sedangkan pada kelompok kontrol $13,31 \pm 10,29$ ng/mL. Hasil uji beda t tidak berpasangan didapatkan nilai $p < 0,001$ yang menunjukkan kadar MMA antar kelompok berbeda signifikan. Kadar MMA dibagi menjadi 2 kategori yaitu kadar MMA $>24,8$ ng/mL dan $\leq 24,8$ ng/mL. Kategori kadar MMA terbanyak $\leq 24,8$ ng/mL, kelompok kasus 115 orang, dan kelompok kontrol 113 orang. Berdasarkan uji *Fischer Exact* didapatkan nilai $p = 0,622$ yang menunjukkan kategori kadar MMA pada kelompok kasus maupun kontrol tidak berbeda signifikan.

Rata-rata kadar homosistein kelompok kasus $10,13 \pm 5,51$ $\mu\text{mol/L}$ lebih rendah secara signifikan dibandingkan dengan rata-rata kadar homosistein kelompok kontrol $12,95 \pm 8,17$ $\mu\text{mol/L}$ dengan nilai $p < 0,001$. Pada kelompok kasus, 74 orang (63,8%) memiliki kadar homosistein ≤ 10 $\mu\text{mol/L}$, sedangkan jumlah yang sama pada kelompok kontrol memiliki kadar homosistein >10 $\mu\text{mol/L}$. Perbedaan kadar homosistein pada kedua kelompok tersebut berbeda signifikan dengan menggunakan uji *Chi-square* ($p < 0,001$).

Polimorfisme pada kelompok kasus berjumlah 33 orang (28,4%) dan pada kelompok kontrol 27 orang (23,3%). Berdasarkan uji *Chi-square* didapatkan nilai $p=0,453$ yang menunjukkan polimorfisme gen *MTHFR* C665T pada subjek penelitian antara kedua kelompok tidak berbeda signifikan.

Hasil pemeriksaan PCR RFLP gen *MTHFR* C665T pada subjek penelitian didapatkan 172 (74,1%) dengan genotipe CC (*homozygote wild type*), 54 (23,3%) dengan genotip CT (*heterozygote*) dan 6 (2,6%) dengan genotip TT (*homozygote mutant type*). Genotip CC didapatkan pada 83 (71,6%) subjek dalam kelompok kasus dan 89 (76,7%) subjek dalam kelompok kontrol. Genotip CT didapatkan 32 subjek (27,5%) pada kelompok kasus dan 22 subjek (19,0%) pada kelompok kontrol. Genotip TT didapatkan 1 subjek (0,9%) dalam kelompok kasus dan 5 subjek (4,3%) dalam kelompok kontrol.

Tabel 6. Distribusi alel pada kelompok kasus dan kelompok kontrol

| No | Alel | Frekuensi n (%) | Kelompok kasus n (%) | Kelompok kontrol n (%) |
|-------|------|-----------------|----------------------|------------------------|
| 1 | C | 398 (85,8%) | 198 (85,3%) | 200 (86,2%) |
| 2 | T | 66 (14,2%) | 34 (14,7%) | 32 (13,8%) |
| Total | | 464 | 232 | 232 |

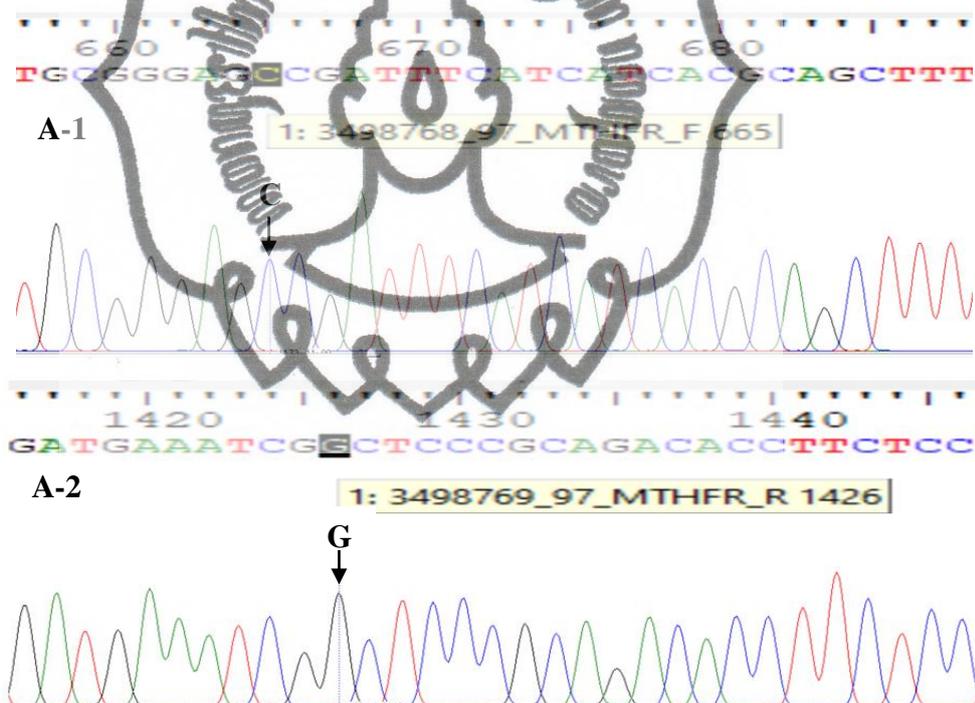


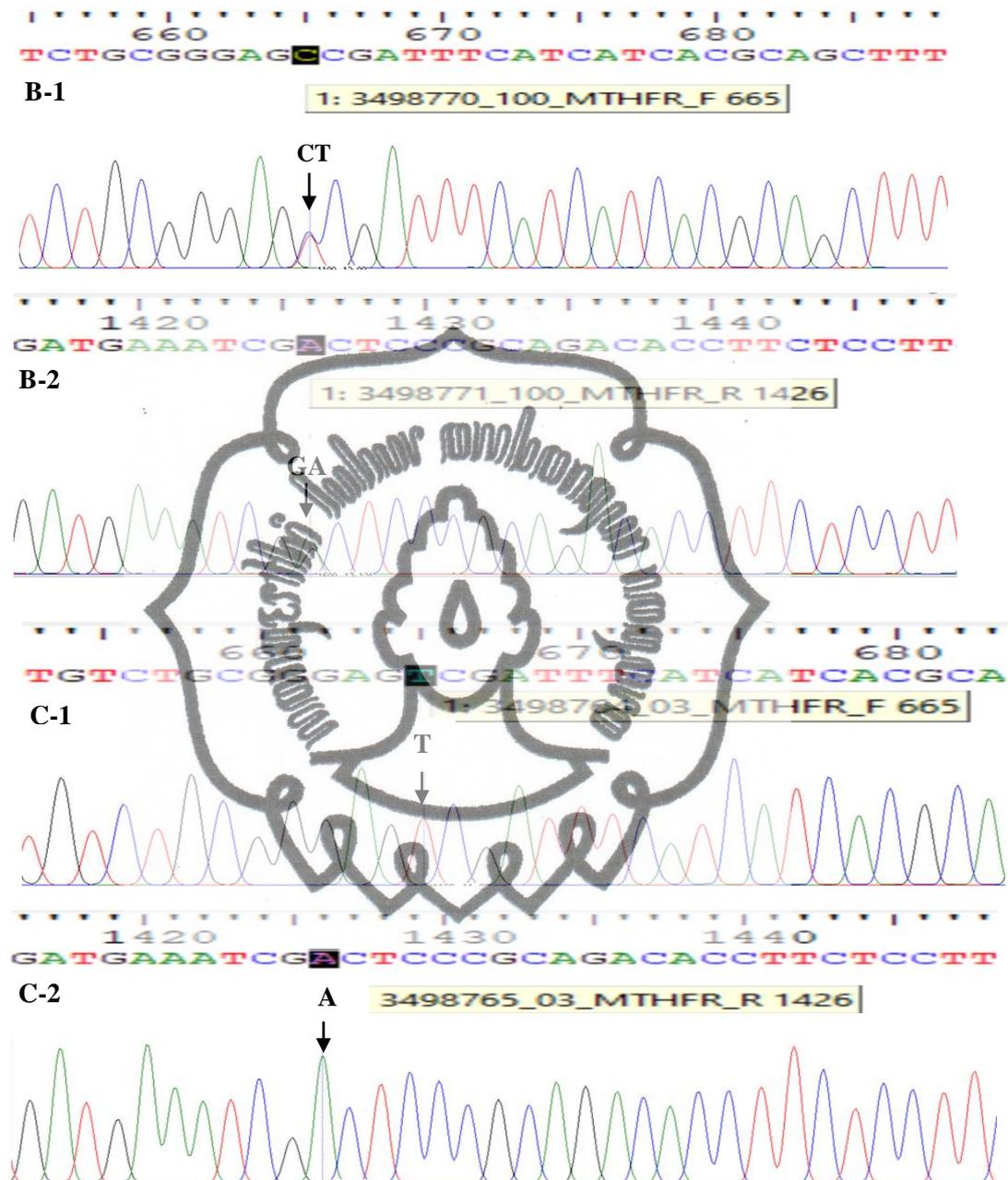
Gambar 15. Produk PCR-RFLP genotip *MTHFR* C665T yang didigesti dengan enzim *HinFI*

Keterangan :

Lane L menunjukkan marker *ladder*. Lane 116, 117, 122, dan 125 homozigot *wild type* (genotip CC) menunjukkan besar produk 294 bp. Lane 118, 120, 121, 123, dan 124 heterozigot (genotip CT) menunjukkan besar produk 294 bp, 168 bp dan 126 bp. Lane 119 homozigot *mutant* (genotip TT) menunjukkan besar produk 168 bp dan 126 bp.

Perbedaan lokasi potongan basa dengan menggunakan enzim restriksi *HinF1* pada subjek penelitian menunjukkan adanya polimorfisme gen *MTHFR* C665T. Pemeriksaan selanjutnya adalah sekuensing DNA yang dilakukan pada 6 subjek yaitu subjek nomor 3, 93, 97, 100, 148, dan 174. Tujuan sekuensing adalah untuk mengkonfirmasi substitusi basa nukleotida tunggal yaitu C menjadi T. Masing-masing genotip berdasarkan hasil PCR-RFLP pada subjek tersebut yaitu genotip CC terdapat pada subjek 97 dan 148, genotip CT pada subjek nomor 100 dan 174, serta genotip TT pada subjek nomor 3 dan 93. Hasil sekuensing sesuai dengan hasil pemeriksaan PCR-RFLP (Gambar 16).





Gambar 16. Hasil sekuensing DNA polimorfisme gen *MTHFR* C665T

Keterangan:

Sekuens genotip CC: **A-1** tanda panah menunjukkan sekuens *forward* nukleotida C, **A-2** tanda panah menunjukkan sekuens *reverse* nukleotida G; Sekuens genotip CT: **B-1** tanda panah menunjukkan sekuens *forward* nukleotida CT dan **B-2** tanda panah menunjukkan sekuens *reverse* nukleotida GA; Sekuens genotip TT: **C-1** tanda panah menunjukkan sekuens *forward* nukleotida T dan **C-2** tanda panah menunjukkan sekuens *reverse* nukleotida A.

— : Nukleotida C — : Nukleotida T — : Nukleotida G — : Nukleotida A

3. Polimorfisme Gen *MTHFR* C665T dan Peningkatan Kadar Homosistein >10 $\mu\text{mol/L}$.

Peran polimorfisme gen *MTHFR* C665T dalam peningkatan kadar homosistein >10 $\mu\text{mol/L}$ dibuktikan dengan analisis hubungan menggunakan uji *Chi-square*. Pada penelitian ini didapatkan nilai $p=1,000$ yang menunjukkan polimorfisme gen *MTHFR* C665T tidak berperan dalam peningkatan kadar homosistein >10 $\mu\text{mol/L}$ (Tabel 7).

Tabel 7. Polimorfisme Gen *MTHFR* C665T dan Peningkatan Kadar Homosistein >10 $\mu\text{mol/L}$

| Polimorfisme Gen <i>MTHFR</i> C665T | Kadar homosistein | | Nilai p | OR; CI 95% |
|-------------------------------------|-----------------------|---------------------------|---------|-----------------|
| | >10 $\mu\text{mol/L}$ | $\leq 10 \mu\text{mol/L}$ | | |
| Ya (CT dan TT) | 30 (25,9%) | 30 (25,9%) | 1,000* | 1,00; 0,56-1,80 |
| Tidak (CC) | 86 (74,1%) | 86 (74,1%) | | Ref |

*Uji *Chi-square*

4. Polimorfisme Gen *MTHFR* C665T dan Peningkatan Kadar MMA >24,8 ng/mL

Peran polimorfisme gen *MTHFR* C665T dalam peningkatan kadar MMA >24,8 ng/mL dapat dilihat pada Tabel 8. Berdasarkan uji *Fischer Exact* didapatkan nilai $p=0,276$ yang menunjukkan polimorfisme gen *MTHFR* C665T tidak berperan dalam peningkatan kadar MMA >24,8 ng/mL.

Tabel 8. Polimorfisme Gen *MTHFR* C665T dan Peningkatan Kadar MMA >24,8 ng/mL

| Polimorfisme Gen <i>MTHFR</i> C665T | Kadar MMA | | Nilai p | OR; CI 95% |
|-------------------------------------|-------------|---------------------------|--------------------|------------------|
| | >24,8 ng/mL | $\leq 24,8 \text{ ng/mL}$ | | |
| Ya (CT dan TT) | 2 (50%) | 58 (25,4%) | 0,276 [‡] | 2,93; 0,40-21,28 |
| Tidak (CC) | 2 (50%) | 170 (74,6%) | | Ref |

[‡] Uji *Fischer Exact*

5. Analisis Multivariat

Berdasarkan analisis bivariat, karakteristik dan hasil pemeriksaan laboratorium subjek penelitian dengan nilai $p>0,25$ adalah status gizi ($p=0,759$), kategori MMA ($p=0,622$), polimorfisme gen *MTHFR* ($p=0,453$). Variabel-variabel tersebut tidak memenuhi syarat untuk dianalisis multivariat dengan uji regresi logistik ganda (Tabel 9).

Tabel 9. Hasil analisis multivariat faktor-faktor risiko anemia makrositik pada penderita terinfeksi HIV yang mendapatkan *zidovudine*

| Karakteristik Subjek | Kelompok Kasus n=116 | Kelompok Kontrol n=116 | Analisis Multivariat Nilai p | adj OR; CI (95%) |
|--|----------------------|------------------------|------------------------------|------------------|
| Kelompok usia | | | | |
| 20-29 tahun | 10 (8,6%) | 26 (22,4%) | 0,012* | Ref |
| 30-39 tahun | 46 (39,7%) | 55 (47,4%) | 0,214 | 1,88; 0,70-5,08 |
| 40-49 tahun | 31 (26,7%) | 25 (21,6%) | 0,038* | 3,13; 1,06-9,22 |
| 50-59 tahun | 29 (25,0%) | 10 (8,6%) | 0,003* | 6,07; 1,86-19,77 |
| Tingkat pendidikan | | | | |
| Rendah | 74 (63,8%) | 37 (31,9%) | 0,002* | 2,78; 1,47-5,23 |
| Tinggi | 42 (36,2%) | 79 (68,1%) | | Ref |
| Pekerjaan | | | | |
| Tidak bekerja | 3 (2,58%) | 6 (5,16%) | 0,001* | Ref |
| Ibu rumah tangga | 49 (43,10%) | 16 (13,79%) | 0,136 | 3,83; 0,66-22,33 |
| Karyawan | 41 (34,48%) | 77 (66,37%) | 0,771 | 0,78; 0,14-4,26 |
| Wirawasta | 23 (19,84%) | 17 (14,68%) | 0,545 | 1,74; 0,29-10,52 |
| Lama pemakaian <i>zidovudine</i> (bulan) | | | | |
| ≤ 6 bulan | 15 (12,9%) | 6 (5,2%) | | Ref |
| > 6 bulan | 101 (87,1%) | 110 (94,8%) | 0,004* | 0,19; 0,06-0,58 |
| Kadar Homosistein | | | | |
| >10 µmol/L | 42 (36,2%) | 74 (63,8%) | 0,001* | 0,33; 0,18-0,62 |
| ≤ 10 µmol/L | 74 (63,8%) | 42 (36,2%) | | Ref |

*nilai p<0.05

Subjek penelitian kelompok usia 40-49 tahun lebih berisiko mengalami anemia makrositik 3,13 kali (95% CI 1,06-9,22) dan kelompok usia 50-59 tahun lebih berisiko 6,07 kali (95% CI 1,86-19,77) dibanding kelompok usia 20-29 tahun. Subjek kelompok tingkat pendidikan rendah lebih berisiko mengalami anemia makrositik 2,78 kali (95% CI 1,47-5,23) dibandingkan kelompok tingkat pendidikan tinggi. Odds penderita terinfeksi HIV yang mendapatkan *zidovudine* >6 bulan untuk terjadi anemia makrositik 0,19 (95% CI 0,06-0,58) yang menunjukkan bahwa lama penggunaan *zidovudine* >6 bulan adalah faktor proteksi dalam kejadian anemia makrositik. Odds kadar homosistein >10 µmol/L sebesar 0,33 (95% CI 0,18-0,62) menunjukkan bahwa kadar homosistein >10 µmol/L merupakan faktor proteksi dalam kejadian anemia makrositik. Karakteristik jenis pekerjaan subjek penelitian tidak berperan dalam kejadian anemia makrositik dengan nilai *compute to user* p>0,05 (Tabel 4).

B. Pembahasan

1. Pendekatan Prinsip Ontologi

Penyebab anemia pada penderita terinfeksi HIV dapat dikarenakan oleh penyakit kronik maupun akibat pemakaian obat HIV. Obat HIV yang paling sering menyebabkan anemia makrositik adalah *zidovudine*. Penyebab terbanyak anemia makrositik adalah defisiensi vitamin B12 dan folat. Parameter laboratorium untuk mengetahui adanya gangguan tersebut adalah adanya peningkatan kadar homosistein dan kadar MMA (Goyal *et al.*, 2016). Replikasi HIV pada CD34+ dapat menghambat eritropoesis (Calis *et al.*, 2010; Reddy *et al.*, 2017; Adediran *et al.*, 2016). Sitokin proinflamasi menyebabkan supresi sumsum tulang (Enumah *et al.*, 2016; Khare *et al.*, 2015; Lipshultz *et al.*, 2015).

Netralisasi EPO di sirkulasi dapat terjadi karena adanya protein HIV-1 p17 yang bersifat molekular mimikri dengan EPO endogen (Tsiakalos *et al.*, 2010; Redig & Berliner., 2013). Anti-gp120 ditemukan dominan pada sel parietal gaster dan menurunkan sekresi faktor intrinsik (FI) sehingga absorpsi vitamin B12 berkurang dan menyebabkan defisiensi (Kasper *et al.*, 2015, Hoffbrand & Moss., 2016). Penderita terinfeksi HIV dapat mengalami diare, vomitus, kekurangan *intake*, dan toksisitas ARV yang menyebabkan defisiensi vitamin B12 (Adediran *et al.*, 2016).

Peningkatan produksi ROS dapat terjadi oleh karena penggunaan *zidovudine* jangka panjang, sedangkan penggunaan *zidovudine* konsentrasi rendah dapat menghambat sel progenitor hematopoietik. Dasar molekuler *zidovudine* menginduksi hematotoksisitas sejauh ini 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 4-12 minggu setelah inisiasi terapi *zidovudine* (Kiragga *et al.*, 2010). Prevalensi anemia makrositik tinggi (80,6%) setelah 6 bulan pemakaian *zidovudine* (Tadele *et al.* 2014). Toksisitas hematologis pada sebagian besar pasien terjadi dalam waktu 3-6 bulan dan bersifat reversibel (Ejeliogu *et al.*, 2014; Sharma., 2010). Anemia pada penderita terinfeksi HIV yang mendapat *zidovudine* lebih banyak terjadi pada perempuan dibandingkan laki-laki. Hal ini dikarenakan pada wanita memiliki risiko kehilangan darah melalui menstruasi, serta berkurangnya cadangan besi akibat kehamilan dan persalinan (Assefa *et al.*, 2015; Agarwal *et al.* 2010).

Adediran *et al* (2016) mendapatkan makrositosis pada infeksi HIV lebih berhubungan dengan penggunaan terapi analog timidin (*zidovudine*, *stavudine*) daripada infeksi HIV itu sendiri. Kufel *et al* (2016) menyatakan bahwa *zidovudine* merupakan inhibitor kompetitif timidin endogen virus dan memiliki potensi yang lebih rendah menghambat DNA polimerase dan mitokondrial pol- γ manusia. Gangguan pada sintesis DNA sel prekursor eritrosit menyebabkan maturasi eritrosit di sumsum tulang terhambat yang ditandai dengan peningkatan MCV yang dikenal dengan kondisi makrositik. *Zidovudine* merupakan obat HIV yang paling sering menyebabkan anemia makrositik.

Gangguan maturasi inti eritrosit dapat menyebabkan keterlambatan pembelahan sel sehingga sel menjadi lebih besar/makrositosis. Kondisi ini dapat disebabkan oleh karena defisiensi folat dan vitamin B12 (Veda., 2013). Vitamin B12 memiliki peran penting dalam siklus metionin bersama dengan folat. Vitamin B12 mempunyai dua peran yaitu sebagai metil B12 yang merupakan koenzim untuk reaksi biokimia, yaitu sebagai kofaktor untuk *methionine synthase*, yang bertanggung jawab dalam proses metilasi homosistein menjadi metionin menggunakan *5-methyltetrahydrofolate* (MTHF/metil THF) sebagai donor metil. Peran yang kedua yaitu sebagai deoksiadenosil B12 (Ado B12) yang membantu konversi MMA menjadi suksinil Co A. Apabila terjadi kekurangan vitamin B12 maka kadar MMA

dalam sirkulasi meningkat. MMA menjadi biomarker yang digunakan secara luas untuk mengetahui status fungsional vitamin B12 karena bersifat lebih stabil daripada vitamin B12 serum dan konsentrasi MMA meningkat sebelum konsentrasi vitamin B12 serum turun (Pedersen *et al.*, 2011). Pemeriksaan homosistein dan 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).

Enzim *methyltetrahydrofolate reductase*/MTHFR bertanggung jawab terhadap distribusi folat dan peningkatan konsentrasi homosistein total plasma (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 aktivitas enzim tersebut berkurang sehingga akan berdampak pada penurunan kadar 5-MTHF, kadar vitamin B12 dan folat serta meningkatkan kadar homosistein serum dan hipometilasi genom DNA (Ni *et al.*, 2017; Leclerc *et al.*, 2013; Al-Batayneh *et al.*, 2018; Li *et al.*, 2015; Haloi & Das., 2014; WHO., 2015; Ni *et al.*, 2017). Polimorfisme gen *MTHFR* tidak selalu bermanifestasi karena anemia makrositik dipengaruhi oleh faktor genetik dan nongenetik. Faktor genetik yang turut terlibat selain gen *MTHFR* C665T adalah gen penyandi enzim *methionine synthase* (MS)/ *5-methyltetrahydrofolate-homocysteine methyl transferase* (MTR) dan *methylenetetrahydrofolate dehydrogenase* (MTHFD1) yang berperan dalam jalur metabolisme homosistein dan folat, serta interaksi fisik lain diduga berinteraksi dengan gen *MTHFR* (Rahimi *et al.*, 2019). Metabolisme homosistein dipengaruhi oleh enzim *cystathionine synthase* (CBS), reseptor transkobalamin 2 (TCN2) dan enzim *methionine synthase reductase* (MTRR) (Mitchell *et al.*, 2014). Sedangkan faktor nongenetik seperti status folat, status riboflavin, efek pengobatan, dan usia juga dapat memodifikasi risiko yang dikontribusikan oleh polimorfisme gen *MTHFR* C665T (Ueland & Rozen., 2005).

Single Nucleotide Polymorphism (SNPs) adalah variasi genom yang paling umum dijumpai. Polimorfisme merupakan variasi urutan basa nukleotida, bukan merupakan mutasi (Worth *et al.*, 2006). SNPs merefleksikan variasi produk gen yaitu pada struktur protein, enzim, dan lain-lain. Hanya sekitar 25% SNPs yang berefek pada fungsi gen (Ng & Henikoff, 2002; Leclerc *et al.*, 2005). Jenis SNPs terbagi menjadi 2 yaitu yang terjadi pada *non coding region* (intron) dan pada *coding region* (ekson). SNPs pada ekson terbagi menjadi *synonymous* SNPs dan *non synonymous* SNPs. Pada *synonymous* SNPs tidak mengakibatkan perubahan asam amino. Sedangkan pada *non synonymous* SNPs menyebabkan perubahan asam amino. Apabila yang berubah hanya satu asam amino disebut sebagai *missense mutation* sedangkan apabila perubahan asam amino pada stop kodon disebut sebagai *non sense mutation*. SNPs dapat mempengaruhi fungsi protein dengan tiga cara. Pertama, SNPs dapat mempengaruhi residu protein fungsional yaitu pada *active site* atau pada *protein interaction site* yang dapat mengganggu fungsi protein. Kedua, SNPs dapat mempengaruhi stabilitas protein dengan cara membuat tidak stabil dan menstabilkan lipatan struktur protein. Ketiga dengan cara agregasi protein (Worth *et al.*, 2006).

Mutasi *missense* adalah *nonsynonymous* SNP yang menyebabkan perubahan satu asam amino. Mutasi ini bisa disebut polimorfisme jika terdapat dalam sebagian besar populasi, atau bisa juga merupakan mutasi *missense* yang langka jika ditemukan pada individu atau sekelompok kecil orang, seperti misalnya dalam sebuah keluarga. Mutasi yang tidak terjadi pada *active site*, tetapi cukup dekat dengan *active site*, dapat mengganggu gugus katalitik. Reaksi biokimia enzim bergantung pada kondisi lingkungan sel seperti pH, konsentrasi garam, dan suhu (Zhang *et al.*, 2012).

Dalam penelitian ini, anemia makrositik pada penderita terinfeksi HIV yang mendapat terapi *zidovudine*, dideteksi melalui beberapa tingkatan:

- a. Pada tingkat molekuler, penyebab anemia makrositik dideteksi melalui pemeriksaan polimorfisme gen *MTHFR* C665T. Adanya genotip CT

(heterozigot) dan atau genotip TT (homozigot mutan) menunjukkan terdapat polimorfisme gen *MTHFR* C665T, yang dianalisis menggunakan metode PCR-RFLP dan dikonfirmasi dengan pemeriksaan sekuensing DNA.

- b. Pada tingkat seluler, penyebab anemia makrositik dideteksi melalui pemeriksaan kadar homosistein dan MMA yang dianalisis menggunakan antibodi monoklonal melalui metode ELISA.
- c. Pada tingkat klinis, penyebab anemia makrositik dideteksi melalui pemeriksaan kadar Hb dan nilai MCV. Kadar Hb dianalisis dengan metode *cyanide-free hemoglobin spectrophotometry*. Nilai MCV dianalisis dengan metode perhitungan/kalkulasi. Pemeriksaan kedua parameter tersebut menggunakan alat *Automatic Hematology Analyzer Sysmex XN-1000*.

2. Pendekatan Prinsip Epistemologi

- a. Polimorfisme gen *MTHFR* C665T tidak berperan dalam kejadian anemia makrositik pada penderita terinfeksi HIV yang mendapat terapi *zidovudine*.

Hasil penelitian ini didapatkan adanya makrositosis pada 421 orang (83,7%) dari 503 orang total populasi penelitian. Salah satu penyebab anemia makrositik yang paling sering dijumpai adalah defisiensi vitamin B12 sebesar 24,1%, obat-obatan sebesar 12,9% termasuk di dalamnya adalah *zidovudine*, dan defisiensi folat sebesar 4,4%. Hal tersebut sesuai dengan hasil penelitian Adediran *et al* (2016) yang menyatakan bahwa pemakaian *zidovudine* pada infeksi HIV berhubungan dengan makrositosis. Makrositosis lebih berhubungan dengan penggunaan terapi analog timidin (*zidovudine*, *stavudine*) daripada infeksi HIV sendiri. Insiden anemia pada penggunaan *stavudine* lebih rendah daripada *zidovudine*. Rerata MCV dan RDW lebih tinggi pada pasien yang mendapat terapi *zidovudine* daripada yang bukan *zidovudine*. Peningkatan MCV didapatkan lebih nyata pada pasien yang menerima *zidovudine* pertama kali (*zidovudine-naïve*) (Adediran *et al.*, 2016).

Pada 60 (25,9%) subjek penelitian ditemukan polimorfisme gen *MTHFR* C665T. Polimorfisme pada kelompok kasus sebanyak 33 (28,4%), sedangkan pada kelompok kontrol sebanyak 27 (23,3%). Polimorfisme gen *MTHFR* C665T pada subjek penelitian antara kedua kelompok tidak berbeda signifikan dengan nilai $p=0,453$. Hasil tersebut menunjukkan bahwa polimorfisme *MTHFR* C665T tidak berperan dalam kejadian anemia makrositik pada penderita terinfeksi HIV yang mendapat *zidovudine*.

Dari hasil penelitian ini tampak bahwa polimorfisme gen *MTHFR* C665T saja bukan merupakan faktor yang berkontribusi kuat pada peningkatan risiko anemia makrositik. Varian genetik lain selain polimorfisme gen *MTHFR* C665T dan faktor nongenetik seperti status folat, status riboflavin, efek pengobatan, dan usia dapat memodifikasi risiko yang dikontribusikan oleh polimorfisme gen *MTHFR* C665T (Ueland & Rozen., 2005). Peran polimorfisme terhadap risiko penyakit yang terkait sangat bervariasi karena dipengaruhi banyak faktor genetik dan lingkungan (Yang *et al.*, 2013).

Interaksi protein-protein yang terlibat dalam metabolisme *MTHFR* sudah diketahui saat ini seperti *methionine synthase* (MS)/5-*methyltetrahydrofolate-homocysteine methyl transferase* (MTR) dan *methylenetetrahydrofolate dehydrogenase* (MTHFD1) yang berperan dalam jalur metabolisme homosistein dan folat, serta interaksi fisik lain diduga berinteraksi dengan gen *MTHFR* (Rahimi *et al.*, 2019).

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 dehidrogenase* (MTHFD1). 10-formilTHF dapat menyumbangkan gugus satu karbon

untuk biosintesis purin, sedangkan 5,10-metilenTHF dapat direduksi menjadi 5-metilTHF 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-metenilTHF, 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)

Banyak penelitian klinis telah dilakukan terhadap gen *MTHFR*, namun masih terdapat kontroversi karena hal-hal yang mempengaruhi polimorfisme gen *MTHFR* sangat multifaktorial (Ueland & Rozen., 2005). Penelitian terdahulu mendapatkan bahwa polimorfisme *MTHFR* C665T tidak berhubungan signifikan dengan anemia, namun polimorfisme *MTHFR* C665T berhubungan signifikan dengan defisiensi folat dan vitamin B12. Hal ini menunjukkan bahwa genetik (polimorfisme *MTHFR* C665T) tidak banyak berkontribusi terhadap risiko terjadinya anemia (Sukla *et al.*, 2014).

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 dapat dideteksi pada >1% populasi (Ismail & Essawi., 2012; Keats & Sherman., 2013). Polimorfisme atau variasi gen seringkali tidak mempengaruhi fungsi atau menimbulkan gangguan ringan yang disebut sebagai faktor risiko. Varian genetik saja tidak menyebabkan penyakit, namun varian genetik yang berkomplementari dengan faktor nongenetik/lingkungan dapat mengakibatkan/bermanifestasi pada fenotip (Ueland & Rozen., 2005).

Pada penelitian ini posisi SNPs berada di ekson 5. *HinF1* memotong pada posisi urutan basa ke 665 dari gen *MTHFR*. Polimorfisme berupa perubahan basa nukleotida C menjadi T yang mengakibatkan berubahnya

produk asam amino alanin menjadi valin pada urutan asam amino ke 222 (A222V) yang disebut sebagai mutasi *missense*. Efek dari perubahan asam amino tersebut meningkatkan disosiasi FAD (*flavin adenosine dinucleotida*). Hilangnya FAD terkait dengan penurunan stabilitas enzim sehingga aktivitas enzim yang berkurang. Enzim mutan (222V) memiliki afinitas yang lebih rendah terhadap kofaktor FAD daripada enzim normal (222A) (Yadav *et al.*, 2017). Polimorfisme *MTHFR* C665T genotip CT menyebabkan penurunan kerja enzim *MTHFR* menjadi 60-70%, dan genotip TT menjadi 30-40% (Hayat *et al.*, 2018).

Nonsynonymous SNPs adalah SNPs yang menyebabkan perubahan urutan asam amino. Mutasi *missense* adalah *nonsynonymous* SNPs yang menyebabkan perubahan satu asam amino. Mutasi *missense* dan *nonsynonymous* SNPs dapat menimbulkan efek dan efeknya tergantung pada stabilitas protein, interaksi protein-protein, karakteristik *active site*, dan lain-lain. Jika mutasi tidak terjadi pada *active site*, namun cukup dekat dengan *active site*, karakteristik gugus katalitik akan terganggu. Dalam kasus seperti itu, mutasi mungkin tidak sepenuhnya mengganggu reaksi biokimia tetapi dapat mengubah kinetik dari reaksi biokimia. Reaksi biokimia bergantung pada optimalisasi lingkungan seluler tertentu seperti pH, konsentrasi garam, dan suhu. Perilaku protein di dalam sel dipengaruhi oleh lingkungan seluler tersebut (Zhang *et al.*, 2012).

Beberapa penyebab anemia makrositik pada penelitian ini telah tersingkirkan sejak awal pada kriteria eksklusi melalui data primer dari catatan medis meliputi: alkoholisme, penggunaan obat-obatan (antikonvulsan dan kemoterapi), hipotiroid, penyakit hepar, hemodialisis, sindroma mielodisplasia, dan anemia aplastik. Kemungkinan anemia makrositik karena pemakaian terapi *zidovudine* belum dapat disingkirkan. Total populasi penelitian adalah penderita terinfeksi HIV yang mendapat terapi *zidovudine* yang dapat menyebabkan anemia makrositik.

- b. Polimorfisme gen *MTHFR* C665T tidak berperan dalam peningkatan kadar homosistein ($>10 \mu\text{mol/L}$) pada penderita terinfeksi HIV dengan anemia makrositik yang mendapat terapi *zidovudine*.

Pada penelitian ini didapatkan rata-rata kadar homosistein subjek penelitian adalah $11,54 \pm 7,09$ yang dapat diinterpretasikan sebagai homosisteinemia ($>10 \mu\text{mol/L}$). Rata-rata kadar homosistein kelompok kasus adalah $10,16 \pm 5,51$, sedangkan pada kelompok kontrol adalah $12,91 \pm 8,18$. Terdapat perbedaan signifikan pada kadar homosistein antara kelompok kasus dan kontrol dimana rata-rata kadar homosistein kelompok kontrol lebih tinggi daripada kelompok kasus. Hubungan antara polimorfisme gen *MTHFR* C665T dengan kadar homosistein berdasarkan uji *Chi-square* didapatkan nilai $p=1,000$ ($p>0,05$) yang berarti polimorfisme gen *MTHFR* C665T tidak berperan terhadap meningkatnya kadar homosistein ($>10 \mu\text{mol/L}$).

Pada penelitian ini polimorfisme gen *MTHFR* C665T tidak berperan terhadap meningkatnya kadar homosistein ($>10 \mu\text{mol/L}$). Hal ini sangat dimungkinkan karena jalur metabolisme homosistein adalah jalur kompleks dan enzim *MTHFR* hanya salah satu dari banyak enzim yang terlibat dalam jalur tersebut (Rai., 2015). Polimorfisme gen yang terlibat dalam metabolisme dan fungsi homosistein, selain gen *MTHFR* adalah gen *cystathionine synthase (CBS)*, reseptor transkobalamin 2 (*TCN2*) dan gen *methionine synthase reductase (MTRR)* (Mitchell *et al.*, 2014). Insersi 68 bp gen *CBS* dan transisi A2756G gen *MS* menurunkan konsentrasi homosistein plasma, sedangkan transisi C665T gen *MTHFR* meningkatkan kadar homosistein plasma. Sebuah studi menunjukkan bahwa keturunan India memiliki frekuensi tertinggi alel *CBS* 844ins68 dan alel *MS* 2756G, sedangkan etnis Cina di Singapura memiliki frekuensi tertinggi alel *MTHFR* 665T. Ini menunjukkan bahwa faktor-faktor penentu genetik pada kadar homosistein plasma orang Asia sangat bervariasi (Yakub *et al.*, 2012). Selain dari diet dan genetika,

metabolisme tersebut juga dipengaruhi oleh banyak faktor, seperti usia dan lingkungan (Mitchell *et al.*, 2014).

Penambahan usia menyebabkan disregulasi metilasi DNA pada siklus metionin yang menyebabkan peningkatan kadar homosistein plasma dan kadar AdoHcy (Ueland & Rozen., 2005). Banyak faktor yang mempengaruhi kadar homosistein sebagai biomarker seperti usia, jenis kelamin, etnisitas, penyakit ginjal, paparan vitamin B, termasuk penggunaan suplemen, serta status merokok dan konsumsi alkohol (Nash., 2019). Dalam penelitian ini tidak ditelusuri lebih jauh tentang paparan vitamin B sehingga hal tersebut menjadi bagian dari keterbatasan penelitian ini.

Beberapa penelitian terdahulu menyatakan bahwa penderita terinfeksi HIV yang mendapat terapi ARV setelah 6 bulan mengalami peningkatan kadar homosisteinnya akibat gangguan pada jalur metabolik homosistein (Adediran *et al.*, 2016; Coria-Ramirez *et al.*, 2010). Peningkatan kadar homosistein pada penderita terinfeksi HIV dapat diakibatkan terapi ARV yang menyebabkan defek enzimatik langsung pada jalur remetilasi (abnormalitas fungsi enzim MTHFR) dan transsulfurasi (abnormalitas fungsi enzim *cystathionine-beta-synthase/CBS*) (Coria-Ramirez *et al.*, 2010; Ni *et al.*, 2017). Pada penelitian ini tidak dilakukan pemeriksaan aktivitas enzim CBS.

Polimorfisme gen *MTHFR* C665T berhubungan signifikan dengan penurunan status metilasi DNA. Enzim MTHFR merupakan kunci dalam metabolisme metionin, folat dan proses sintesis DNA serta regulasi kadar homosistein in vivo (Li *et al.*, 2014; Mahood *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% sehingga meningkatkan kadar homosistein sekitar 25% (Mahood *et al.*, 2015). Kadar homosistein plasma merupakan penanda yang sensitif terhadap defisiensi folat dan vitamin B12. Pengukuran kadar folat darah mudah dilakukan namun

tidak sensitif dan spesifik karena sangat dipengaruhi oleh *intake* makanan.

Polimorfisme gen *MTHFR* C665T dengan genotip TT memiliki rata-rata aktivitas normal enzim MTHFR hanya sebesar 30% sedangkan pada genotip CT aktivitas normal enzim MTHFR sebesar 65% (Liu *et al.*, 2017). Polimorfisme gen *MTHFR* C665T dengan genotip TT pada penelitian ini proporsinya sangat kecil (2,6% dari total subjek penelitian) sehingga analisis statistik kurang memadai untuk menilai adanya peran polimorfisme gen *MTHFR* C665T dalam peningkatan kadar homosistein (Mischoulon *et al.*, 2012).

- c. Polimorfisme gen *MTHFR* C665T tidak berperan dalam peningkatan kadar MMA ($>24,8$ ng/mL) pada penderita terinfeksi HIV dengan anemia makrositik yang mendapat terapi *zidovudine*.

Rata-rata kadar MMA pada subjek penelitian ini adalah $11,79 \pm 8,12$ ng/mL. Rata-rata kadar MMA pada kelompok kasus adalah $10,26 \pm 4,65$ ng/mL, sedangkan pada kelompok kontrol adalah $13,31 \pm 10,29$ ng/mL. Baik kelompok kontrol maupun kelompok kasus memiliki rata-rata kadar MMA dalam rentang rujukan ($<24,8$ ng/mL). Hal tersebut menunjukkan bahwa tidak terdapat peningkatan kadar MMA pada kedua kelompok yang berarti tidak terdapat defisiensi vitamin B12 pada kedua kelompok. Hubungan antara polimorfisme gen *MTHFR* C665T dengan kadar MMA berdasarkan uji *Fischer Exact* didapatkan nilai $p=0,276$ ($p>0,05$) sehingga disimpulkan bahwa polimorfisme gen *MTHFR* C665T tidak berperan terhadap meningkatnya kadar MMA ($\geq 24,8$ ng/mL).

Polimorfisme gen *MTHFR* C665T menyebabkan penurunan fungsi enzim MTHFR yang mengakibatkan terjadinya defisiensi vitamin B12 (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 gen *MTHFR* dapat menjadi salah satu marker potensial dalam

perkembangan defisiensi vitamin B12 (Yasar *et al.*, 2012; Al-Batayneh *et al.*, 2018). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa tidak terdapat defisiensi vitamin B12 pada kedua kelompok yang dibuktikan dengan rata-rata kadar MMA masih dalam rentang rujukan ($<24,8$ ng/mL) baik kelompok kontrol maupun kelompok kasus. Jumlah subjek penelitian yang mempunyai kadar MMA $>24,8$ ng/mL proporsinya sangat kecil (1,7% dari total subjek penelitian) sehingga analisis statistik kurang memadai untuk menilai peran polimorfisme gen *MTHFR* C665T dalam peningkatan kadar MMA $>24,8$ ng/mL.

Secara umum polimorfisme suatu gen tidak selalu berkontribusi pada peningkatan risiko beberapa penyakit yang terkait, seperti halnya hasil penelitian ini dimana polimorfisme gen *MTHFR* C665T tidak berperan terhadap kejadian defisiensi vitamin B12 yang diketahui dengan pemeriksaan kadar MMA. Sampai saat ini telah banyak penelitian klinis terhadap polimorfisme gen *MTHFR* C665T, namun masih terdapat kontroversi karena hal-hal yang mempengaruhi polimorfisme sangat multifaktorial (Ueland & Rozen., 2005). Yasar *et al* (2012) dalam penelitiannya mendapatkan hasil bahwa polimorfisme gen *MTHFR* C665T tidak berhubungan signifikan dengan kadar vitamin B12, kadar folat dan kadar homosistein pada penderita vitiligo.

MMA terlibat dalam metabolisme homosistein secara tidak langsung. Banyak enzim yang terlibat dalam jalur metabolisme tersebut (Rai., 2015). Demikian juga banyak polimorfisme gen yang terlibat selain gen *MTHFR* sehingga sangat dimungkinkan apabila tidak terdapat peran polimorfisme gen *MTHFR* C665T dalam peningkatan kadar MMA pada penelitian ini. Bagaimanapun, selain faktor genetika, metabolisme tersebut juga dipengaruhi oleh banyak faktor, seperti diet, usia dan lingkungan (Mitchell *et al.*, 2014). Pada penelitian ini faktor diet dan lingkungan tidak ditelusuri lebih jauh sehingga menjadi keterbatasan dalam penelitian ini.

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 makrositik (Castellanos-Sinco *et al.*, 2015).

- d. Kadar homosistein ($>10 \mu\text{mol/L}$) berperan sebagai faktor proteksi dalam kejadian anemia makrositik pada penderita terinfeksi HIV yang mendapat terapi *zidovudine*.

Pada penelitian ini, kondisi homosisteinemia (kadar homosistein $>10 \mu\text{mol/L}$) terjadi pada 42 orang (36,2%) di kelompok kasus dan 74 orang (63,8%) pada kelompok kontrol, sedangkan kadar homosistein $\leq 10 \mu\text{mol/L}$ terjadi pada 73 orang (63,8%) pada kelompok kasus dan 43 orang (36,02%) pada kelompok kontrol. Hasil uji *Chi-square* didapatkan nilai $p < 0,001$ ($p < 0,05$) sehingga dapat disimpulkan kadar homosistein berdasarkan nilai *cut off* ($10 \mu\text{mol/L}$) pada kelompok kasus maupun kontrol berbeda signifikan. Nilai OR (CI 95%) adalah 0,33 (0,18-0,62), hal tersebut menunjukkan bahwa kadar homosistein $>10 \mu\text{mol/L}$ merupakan faktor proteksi dalam kejadian anemia makrositik pada penderita terinfeksi HIV yang mendapat terapi *zidovudine*.

Penyebab utama hiperhomosisteinemia adalah disfungsi enzim-enzim dan kofaktor yang terkait pada proses biosintesis homosistein. Penyebab lain termasuk asupan metionin yang berlebihan, penyakit tertentu dan efek samping dari beberapa obat. Penyebab lain hiperhomosisteinemia adalah gagal ginjal kronis, hipotiroidisme, anemia, tumor ganas, obat-obatan tertentu: kolestiramin, metformin, metotreksat, asam nikotinat (niasin), turunan asam fibrat, dan pil

kontrasepsi oral (Kim *et al.*, 2018). Penyebab hiperhomosisteinemia yang merupakan penyakit dan penggunaan obat-obatan sudah disingkirkan melalui kriteria eksklusi dalam penelitian ini.

Penyebab paling umum hiperhomosisteinemia adalah defek enzim yang terkait dengan metabolisme homosistein. Kesalahan genetik dalam enzim atau tidak adanya enzim ini secara langsung terkait dengan kadar homosistein. Defisiensi enzim CBS adalah alasan paling umum dalam peningkatan homosistein karena enzim CBS mengubah homosistein menjadi *cystathionine*. Enzim CBS manusia diekspresikan dalam hati, ginjal, otot, otak, dan ovarium dan juga diekspresikan selama embriogenesis awal dalam sistem saraf dan jantung. Dengan tidak adanya enzim CBS maka homosistein tidak dikonversi menjadi *cystathionine* dalam proses transsulfurasi. Polimorfisme gen CBS T833C merupakan penyebab hiperhomosisteinemia ringan pada kelompok etnis yang berbeda, tetapi tidak semua polimorfisme gen CBS menyebabkan hiperhomosisteinemia. Polimorfisme gen CBS C699T dan T1080C memperkuat fungsi folat sehingga kadar homosistein menurun. Tidak ada pengobatan yang efektif untuk hiperhomosisteinemia yang disebabkan oleh defisiensi MTHFR dan *methionine synthase* (MS), yang keduanya berkontribusi pada remetilasi homosistein. Individu dengan polimorfisme gen MTHFR C665T berisiko lebih besar mengalami hiperhomosisteinemia pada kondisi tubuh dengan kadar folat dan vitamin B12 yang rendah serta konsentrasi timbal darah yang tinggi dibandingkan orang dengan genotipe yang sama dan kondisi tubuh normal. Defisiensi folat dan defisiensi vitamin B12 meningkatkan kemungkinan hiperhomosisteinemia masing-masing 2,5 dan 2,6 kali, pada individu dengan polimorfisme gen MTHFR C665T dibandingkan tanpa polimorfisme gen MTHFR C665T (Kim *et al.*, 2018).

Kadar kofaktor yang terlibat dalam metabolisme homosistein, seperti vitamin B2, B6, dan B12 yang tidak mencukupi, dapat menyebabkan hiperhomosisteinemia. Vitamin-vitamin tersebut larut

dalam air sehingga akan mudah hilang melalui urin. Kekurangan vitamin B12, vitamin B2 (kofaktor remetilasi homosistein) dan vitamin B6 (kofaktor transsulfurasi) sering terjadi pada populasi lansia sehingga homosistein meningkat dengan bertambahnya usia (Kim *et al.*, 2018).

De Larranaga *et al.* (2003) mendapatkan hubungan yang erat antara hiperhomosisteinemia dengan defisiensi folat, namun kadar homosistein tidak berhubungan dengan efek samping pemakaian *zidovudine*. Berdasarkan uraian di atas, kami menduga bahwa anemia makrositik pada subjek penelitian ini tidak disebabkan oleh defisiensi vitamin B12 dan folat karena homosisteinemia merupakan faktor proteksi terhadap terjadinya anemia makrositik pada penelitian ini.

Homosistein merupakan produk sampingan dari reaksi transmetilasi dan didetoksifikasi oleh methionine simase, yang tergantung pada vitamin B12 dan folat sebagai koenzim agar berfungsi baik (Srivastav *et al.*, 2016). Kadar homosistein plasma merupakan penanda yang sensitif terhadap defisiensi folat dan vitamin B12 (Yasar *et al.*, 2012; Ni *et al.*, 2017). Defisiensi folat dan vitamin B12 menyebabkan gangguan pada maturasi inti eritrosit yang berpengaruh pada keterlambatan pembelahan sel sehingga terjadi anemia makrositik (Veda., 2013; Hoffbrand & Moss., 2016).

- e. Kadar MMA (>24,8 ng/mL) tidak berperan dalam kejadian anemia makrositik pada penderita terinfeksi HIV yang mendapat terapi *zidovudine*.

Pada penelitian ini *cut off* untuk kadar MMA adalah 24,8 ng/mL. Mayoritas kadar MMA pada subjek penelitian adalah $\leq 24,8$ ng/mL yaitu sebanyak 115 orang pada kelompok kasus dan 113 orang pada kelompok kontrol. Berdasarkan uji *Chi-square* didapatkan nilai $p=0,622$ ($p>0,05$) sehingga dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara kadar MMA kelompok kasus maupun kelompok kontrol. Berdasarkan hasil tersebut, maka kemungkinan adanya defisiensi vitamin B12 pada subjek penelitian dapat disingkirkan dan

penyebab anemia makrositik pada kelompok kasus bukan karena defisiensi vitamin B12. Rerata kadar MMA baik pada kelompok kontrol maupun kelompok kasus masih dibawah nilai *cut off*.

MMA adalah zat antara metabolisme dalam konversi asam propionat menjadi asam suksinat (SA) di mitokondria. Vitamin B12 adalah kofaktor penting untuk penataan kembali (*rearrangement*) *methyl malonyl mutase-dependent carbon* pada MMA menjadi SA. Apabila terjadi kekurangan vitamin B12 maka kadar MMA di sirkulasi meningkat. MMA menjadi biomarker yang digunakan secara luas untuk mengetahui status fungsi vitamin B12 karena bersifat lebih stabil daripada vitamin B12 serum, selain itu konsentrasi MMA meningkat sebelum konsentrasi vitamin B12 serum menurun (Pedersen *et al.*, 2011). Pada penelitian ini membuktikan bahwa tidak terdapat defisiensi vitamin B12 baik pada kelompok kasus maupun kontrol.

Adediran *et al* (2016) membuktikan bahwa rata-rata kadar MMA urin pada semua penderita terinfeksi HIV yang mendapat terapi ARV-*naive* lebih tinggi daripada yang telah mendapat terapi ARV sedikitnya 6 bulan. Hal ini menunjukkan bahwa defisiensi vitamin B12 umumnya dikaitkan dengan infeksi HIV dan membaik setelah pemberian ARV. Temuan ini sejalan dengan hasil penelitian Semeree *et al* (2012). Hepburn *et al.* dalam Owiredu (2012) melaporkan bahwa terapi ARV dapat meningkatkan kadar vitamin B12 serum pada penderita terinfeksi HIV dan pasien dengan kadar vitamin B12 serum rendah tidak menunjukkan adanya anemia makrositik dan neuropati (Owiredu, 2012). Pada penelitian ini 90,9% subjek penelitian telah mendapat terapi ARV (*zidovudine*) lebih dari 6 bulan sehingga sangat dimungkinkan telah membaik apabila terjadi defisiensi vitamin B12 sebelumnya. Secara tidak langsung hasil penelitian ini sejalan dengan hasil penelitian terdahulu tersebut.

Konsentrasi MMA yang bersirkulasi meningkat pada defisiensi vitamin B12 jaringan. Namun, ada faktor-faktor lain yang dapat

mempengaruhi konsentrasi serum MMA pada manusia seperti disfungsi ginjal, metabolisme *odd chain fatty acid* dan asam amino seperti metionin, isoleusin dan treonin, bakteri usus dan defek genetik pada *methlymalonyl CoA mutase*. Peningkatan serum MMA terkait usia disebabkan oleh penurunan fungsi ginjal dan peningkatan prevalensi defisiensi vitamin B12 yang dihasilkan dari penurunan penyerapan vitamin B12. Hal ini disebabkan oleh atrofi lambung disertai dengan penurunan sekresi asam dan pepsin yang diperlukan untuk melepaskan vitamin B12 yang terikat protein sebelum penyerapannya. Penggunaan obat-obatan oleh beberapa orang tua (misal sebagai antagonis reseptor histamin H₂ dan inhibitor pompa proton) dapat menyebabkan *achlorhydria* yang menyebabkan malabsorpsi vitamin B12 yang terikat protein dan dengan demikian meningkatkan MMA (Ganji, 2018). Peningkatan konsentrasi MMA plasma dapat ditemukan pada pasien dengan diabetes dan disfungsi ginjal. Penyebab lain yang dapat menyebabkan peningkatan MMA adalah keadaan dehidrasi, *aciduria methylmalonic* hereditas, dan pertumbuhan bakteri berlebih usus halus yang menghasilkan asam propionat dalam jumlah tinggi yang merupakan prekursor MMA (Vashi, 2016). Beberapa penyebab peningkatan kadar MMA pada penelitian ini telah disingkirkan melalui kriteria inklusi dan eksklusi seperti adanya kemungkinan gagal ginjal dan pemakaian obat-obatan, berdasarkan telaah catatan medis dan wawancara kepada subjek penelitian, namun belum semua faktor-faktor yang mempengaruhi kadar MMA dapat disingkirkan sehingga menjadi keterbatasan dalam penelitian ini.

- f. Lama pemakaian *zidovudine* >6 bulan berperan sebagai faktor proteksi dalam kejadian anemia makrositik pada penderita terinfeksi HIV yang mendapat terapi *zidovudine*.

Mayoritas subjek penelitian ini telah mengonsumsi *zidovudine* selama >6 bulan, yaitu 101 orang (87,1%) pada kelompok kasus dan 110 orang (94,8%) pada kelompok kontrol. Hasil analisis dengan uji beda

Chi-square diperoleh nilai $p=0,039$ ($p<0,05$) dengan nilai OR (CI 95%) adalah 0,37 (0,14-0,98) sehingga menunjukkan adanya perbedaan signifikan lama pemakaian *zidovudine* antara kedua kelompok dan pemakaian *zidovudine* >6 bulan merupakan faktor proteksi dalam kejadian anemia makrositik.

Beberapa penelitian mendapatkan bahwa setelah pemakaian ARV terdapat perbaikan profil hematologi yang signifikan, yaitu penurunan prevalensi anemia atau peningkatan signifikan kadar Hb (Geletaw *et al.* 2017). Enawgaw *et al* (2014) mendapatkan bahwa penderita terinfeksi HIV yang mendapat terapi ARV meningkat jumlah eritrositnya dalam waktu enam bulan sejak dimulainya pengobatan. Namun Ejeliogu *et al* (2014) menyatakan bahwa kadar Hb pada pasien yang memakai *zidovudine* menurun secara progresif setelah pemakaian dalam waktu 6 bulan dan selanjutnya kadar Hb akan meningkat bertahap setelahnya. Tadele *et al* (2014) mendapatkan bahwa prevalensi, beratnya anemia dan derajat makrositosis menurun setelah pemberian terapi *zidovudine* bulan ke 6-12.

Assefa *et al* (2015) dalam penelitiannya mendapatkan bahwa prevalensi anemia menurun 67% setelah pemberian ARV dalam waktu 12 bulan. Hal ini dapat diterangkan bahwa pemberian ARV dapat menurunkan kejadian infeksi oportunistik yang selanjutnya menurunkan sitokin proinflamasi seperti TNF yang dapat mensupresi eritropoiesis. Hal ini secara tidak langsung dapat menunjukkan keefektifan ARV untuk mengurangi anemia terkait HIV dengan mengurangi kejadian infeksi oportunistik, anemia penyakit kronis, dan dengan meningkatkan status gizi pasien (Assefa *et al.* 2015; Gedefaw *et al.* 2013). Hasil penelitian serupa mendapatkan bahwa kadar hemoglobin meningkat signifikan pada penderita terinfeksi HIV setelah menerima ARV selama 12 bulan pertama (Johannessen *et al.* 2011). Penjelasan lain yang masuk akal adalah fakta bahwa ARV dapat menekan HIV yang secara langsung mempengaruhi sumsum tulang sehingga hal tersebut dapat mencegah

anemia (Gedefaw *et al.*, 2013). Efek myelotoksistas *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).

Sebagian besar (90,9%) subjek dalam penelitian ini telah mendapat terapi *zidovudine* selama >6 bulan. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa lama pemakaian *zidovudine* >6 bulan sejalan dengan penelitian-penelitian tersebut di atas, dimana pemakaian *zidovudine* >6 bulan merupakan faktor proteksi dalam kejadian anemia makrositik.

- g. Kelompok tingkat pendidikan rendah memiliki risiko 2,78 kali mengalami anemia makrositik dibanding kelompok tingkat pendidikan tinggi pada penderita terinfeksi HIV yang mendapat terapi *zidovudine*.

Hasil analisis regresi logistik multivariat pada penelitian ini mendapatkan bahwa tingkat pendidikan merupakan faktor risiko dalam kejadian anemia makrositik pada penderita terinfeksi HIV yang mendapat *zidovudine*. Risiko mengalami anemia makrositik pada kelompok dengan pendidikan rendah sebesar 2,78 kali (95% CI 1,47-5,23) dibandingkan kelompok dengan pendidikan tinggi. Hal ini karena tingkat pendidikan rendah memiliki tingkat kepatuhan mengonsumsi obat ARV yang rendah pula, sesuai dengan penelitian terdahulu yang mendapatkan hubungan signifikan antara tingkat pendidikan dengan kepatuhan pengobatan ARV ($p = 0,032$), yang didukung oleh penelitian Abah *et al* (2004) pada penderita terinfeksi HIV di Afrika Selatan, Ethiopia, Nigeria, dan Amerika Serikat yang mendapatkan bahwa pasien dengan pendidikan rendah tidak patuh mengonsumsi ARV (Eyassu *et al.*, 2016).

Kepatuhan mengonsumsi ARV sangat penting untuk keberhasilan pengobatan penderita terinfeksi HIV dalam menekan replikasi virus dan menurunkan risiko resistensi obat sehingga morbiditas dan mortalitas dini dapat dicegah (Mugoh *et al.*, 2016). Lall *et al* (2014) mendapatkan

bahwa risiko terinfeksi HIV 2,27 kali (CI 95% 1,40-3,68) lebih besar pada perempuan dengan tingkat pendidikan rendah dibandingkan dengan mereka yang memiliki pendidikan menengah atau lebih tinggi. Berdasarkan penelitian-penelitian tersebut dapat disimpulkan bahwa tingkat pendidikan rendah berkaitan dengan rendahnya kepatuhan mengonsumsi *zidovudine* yang selanjutnya akan meningkatkan risiko terjadinya anemia makrositik. Teori Green menyatakan bahwa semakin rendah tingkat pendidikan seseorang maka kesempatan untuk memperoleh suatu informasi dan pengetahuan akan semakin kecil, begitu juga sebaliknya semakin tinggi tingkat pendidikan seseorang maka kesempatan untuk memperoleh informasi dan pengetahuan akan semakin besar (Wahyuni., 2014). Pengetahuan seseorang tentang kesehatan merupakan salah satu faktor predisposisi yang mempengaruhi perilaku kesehatan seseorang. Pendidikan merupakan salah satu faktor internal yang berpengaruh dalam perubahan perilaku (Notoatmojo., 2014).

Pada penelitian ini didapatkan prevalensi anemia makrositik sebesar 78,4%. Tadele *et al* (2014) menyebutkan bahwa prevalensi anemia makrositik setelah 6 bulan pemakaian *zidovudine* tinggi yaitu sebesar 80,6%. Kondisi makrositosis pada penderita terinfeksi HIV lebih sering disebabkan oleh terapi ARV dibandingkan infeksi HIV itu sendiri. *Zidovudine* merupakan obat HIV yang paling sering menyebabkan anemia makrositik bahkan terdapatnya kondisi makrositosis digunakan sebagai prediktor ketidakpatuhan dan respon terhadap terapi HIV. Sebaliknya, bahwa kondisi anemia makrositik pada penderita terinfeksi HIV yang mendapatkan *zidovudine* dapat menunjukkan adanya ketidakpatuhan mengonsumsi *zidovudine* (Kufel *et al.*, 2016).

Ketidakpatuhan pasien dalam mengonsumsi ARV dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain usia, pendidikan, kurangnya pengetahuan tentang penyakit sehingga pasien melakukan *self-regulation* terhadap terapi obat yang diterimanya (Martoni *et al.*, 2013). Tingkat pendidikan sangat berhubungan dan dominan terhadap kepatuhan pengobatan

minum ARV, dimana responden dengan tingkat pendidikan tinggi lebih patuh terhadap pengobatan 20 kali dibandingkan responden dengan tingkat pendidikan yang rendah (Ubra., 2012). Sihombing & Riyanida (2009) mendapatkan hasil bahwa ada hubungan signifikan antara tingkat pendidikan dengan anemia, dimana responden yang berpendidikan rendah (SD, SMP) berisiko anemia sebesar 3,3 kali dibandingkan dengan responden yang berpendidikan lebih tinggi. Tingkat pendidikan yang lebih tinggi berpengaruh terhadap pengetahuan tentang pemilihan makanan yang bergizi baik dan pola konsumsi sehari-hari.

Secara sosiokognitif pendidikan dapat mengubah perilaku seseorang antara lain melalui perubahan pengetahuan dan sikap. Pendidikan berperan penting dalam proses berpikir seseorang dan akan mempengaruhi perilakunya. Semakin tinggi tingkat pendidikan seseorang maka status sosialnya juga semakin tinggi, yang dapat mengubah perilaku seseorang dan cenderung lebih bijaksana dalam menyikapi suatu masalah. Status sosial ekonomi seseorang akan mempengaruhi secara langsung perilaku. Faktor psikologis, mobilitas, dan penghasilan seseorang akan membuat seseorang memiliki banyak pilihan dalam mendapatkan informasi tentang suatu penyakit dan pengobatannya (Jukes *et al.*, 2008). Contoh dalam konteks HIV, seseorang dengan pendidikan yang lebih tinggi akan lebih mengerti rute transmisi HIV, cara pencegahan dan pengobatan yang benar termasuk perilaku dan sikap taat dalam menjalani terapi sehingga kemungkinan-kemungkinan terjadinya komplikasi dapat dicegah, termasuk kejadian anemia.

- h. Kelompok usia 40-49 tahun memiliki risiko 3,13 kali dan kelompok usia 50-59 tahun memiliki risiko 6,07 kali dibanding kelompok usia 20-29 tahun dalam kejadian anemia makrositik pada penderita terinfeksi HIV yang mendapat terapi *zidovudine*.

Terkait kelompok usia sebagai faktor risiko pada penelitian ini, didapatkan bahwa kelompok usia 40-49 tahun mempunyai risiko

mengalami anemia makrositik sebesar 3,13 kali (95% CI 1,06-9,22) lebih besar dibandingkan kelompok usia 20-29 tahun, sementara kelompok usia 50-59 tahun memiliki risiko sebesar 6,07 kali (95% CI 1,86-19,77) lebih besar dibanding kelompok usia 20-29 tahun. Dapat disimpulkan bahwa semakin meningkat usia, maka semakin meningkat pula risiko mengalami anemia makrositik.

Hasil penelitian ini sesuai dengan hasil penelitian sebelumnya yang mendapatkan hubungan signifikan antara usia dengan kejadian anemia makrositik pada penderita terinfeksi HIV yang mendapatkan AZT, dengan jumlah subjek paling banyak berusia 25-44 tahun (Tadele *et al.* 2014). Penelitian lain juga menunjukkan peningkatan risiko 2,4 kali anemia seiring bertambahnya usia, yaitu usia lebih dari 55 tahun. Sel induk hematopoietik menunjukkan resistensi peningkatan eritropoietin (EPO) dengan bertambahnya usia. Lebih lanjut penuaan dikaitkan dengan peningkatan sitokin pro inflamasi yang banyak berkontribusi terhadap resistensi EPO (Assefa *et al.*, 2015). Prevalensi anemia meningkat seiring bertambahnya usia. Pertambahan usia berhubungan signifikan dengan meningkatnya risiko anemia pada penderita terinfeksi HIV (Shen *et al.*, 2013). Anemia lebih banyak ditemukan pada usia >45 tahun (46,7%), 36-45 tahun (40,8%), dan ≤35 tahun (37,4%) (Santiago *et al.*, 2014).

Pada orang yang lebih tua akan terjadi banyak kelemahan karena turunnya kemampuan tubuh untuk mempertahankan homeostasis, terjadinya gangguan pada berbagai sistem dan penurunan kemampuan fisiologis tubuh. Kelemahan tersebut akan meningkatkan risiko memburuknya status kesehatan seseorang seperti lebih rentan menderita suatu penyakit, peningkatan kejadian rawat inap, kecacatan dan kematian. Memburuknya kesehatan tersebut berkaitan dengan status sosial. Semakin bertambah usia seseorang maka akan mengubah status sosialnya. Semakin tua usia maka akan semakin banyak mengalami rasa kesepian, terisolasi dan terjadi kerentanan sosial. Penurunan hubungan

sosial ini akan mempengaruhi psikis dan akan menurunkan motivasi dalam usaha meningkatkan kesehatan, mudah terjadinya penyakit komorbid, seperti anemia pada penderita terinfeksi HIV (Morese *et al.*, 2019).

Risiko terjadinya anemia yang makin meningkat dengan bertambahnya usia dapat dijelaskan dengan beberapa alasan. Terkait fungsi hematologi, pada usia yang lebih tua maka selularitas sumsum semakin menurun dan umur sel darah merah semakin pendek serta sensitivitas sel progenitor eritroid terhadap eritropoietin semakin menurun. Organ timus yang menghasilkan berbagai faktor pertumbuhan yang dibutuhkan pada eritropoiesis akan berinvolusi sehingga faktor pertumbuhan yang dihasilkan juga berkurang yang pada akhirnya akan berpengaruh pula pada eritropoiesis (Kaushansky *et al.*, 2016).

Secara fisiologis, semakin bertambah usia pada orang dewasa akan terjadi pembatasan penyerapan kalsium, zinc, magnesium dan akloridria serta bertambah pula risiko untuk mengalami gastritis atrofi yang dapat menyebabkan gangguan penyerapan vitamin B12, folat, dan kalsium. Berkurangnya enzim dan aktivitas disakarida *brush border* dan pertumbuhan bakteri di usus halus yang berlebihan akan menginduksi malabsorpsi, yang sering terjadi pada usia tua. Aktivitas motorik akan menurun dengan bertambahnya usia sehingga pengosongan lambung akan melambat yang menyebabkan pertumbuhan bakteri yang berlebihan sehingga terjadi malabsorpsi tanpa adanya perubahan struktural (Holt., 2007).

Salah satu penyebab anemia adalah defisiensi nutrien karena malabsorpsi. Pengosongan lambung akan semakin lambat pada usia yang lebih tua sehingga membuat rasa kenyang lebih lama dan terjadi penurunan nafsu makan. Penurunan nafsu makan yang semakin meningkat dengan bertambahnya usia, menyebabkan asupan makanan dan gizi berkurang dan terjadi defisiensi nutrisi. Pada orang tua penurunan nafsu makan juga dipengaruhi oleh kadar hormon ghrelin

yang semakin menurun dan kadar kolesistokinin serta leptin yang meningkat (Pilgrim *et al.*, 2015).

3. Pendekatan Prinsip Aksiologi

Sampai saat ini pengobatan pada infeksi HIV menggunakan obat lini pertama sesuai rekomendasi WHO sejak tahun 1990. Obat lini pertama yang terbanyak digunakan adalah *zidovudine* walaupun mempunyai efek hematotoksik terutama anemia. Mayoritas penderita terinfeksi HIV yang mendapat *zidovudine* mengalami anemia makrositik. Penyebab anemia makrositik yang paling umum dijumpai adalah defisiensi vitamin B12 dan folat. Indikator spesifik adanya defisiensi vitamin B12 adalah meningkatnya kadar MMA serum, sedangkan marker pada defisiensi folat yang paling sensitif adalah pengukuran kadar homosistein. Baik MMA dan homosistein terlibat dalam metabolisme vitamin B12 dan folat. Metabolisme folat dan vitamin B12 saling terkait dan melibatkan enzim MTHFR yang dikode oleh gen *MTHFR*. Fungsi dan aktivitas suatu enzim dapat terganggu oleh adanya kelainan genetik antara lain polimorfisme. Sejauh ini polimorfisme gen *MTHFR* yang terbanyak adalah polimorfisme gen *MTHFR* C665T.

Berdasarkan prinsip aksiologi, manfaat hasil penelitian ini dapat memberikan informasi ilmiah bahwa:

- a. Polimorfisme gen *MTHFR* C665T tidak berperan dalam kejadian anemia makrositik pada penderita terinfeksi HIV yang mendapat terapi *zidovudine*.
- b. Polimorfisme gen *MTHFR* C665T tidak berperan dalam peningkatan kadar homosistein ($>10 \mu\text{mol/L}$) pada penderita terinfeksi HIV yang mendapat terapi *zidovudine*.
- c. Polimorfisme gen *MTHFR* C665T tidak berperan dalam peningkatan kadar MMA ($>24,8 \text{ ng/mL}$) pada penderita terinfeksi HIV yang mendapat terapi *zidovudine*.
- d. Kadar homosistein $>10 \mu\text{mol/L}$ dan lama penggunaan *zidovudine* >6 bulan merupakan faktor proteksi dalam kejadian anemia makrositik pada penderita terinfeksi HIV yang mendapat terapi *zidovudine*.

- e. Kelompok usia 40-59 tahun dan tingkat pendidikan rendah merupakan faktor risiko dalam kejadian anemia makrositik pada penderita terinfeksi HIV yang mendapat terapi *zidovudine*.

Selain itu, hasil penelitian ini dapat dijadikan sebagai bahan pertimbangan untuk penelitian lebih lanjut dalam menginvestigasi penyebab anemia makrositik pada penderita terinfeksi HIV yang mendapat terapi *zidovudine*. Hasil penelitian ini juga dapat digunakan sebagai bahan referensi pada penatalaksanaan infeksi HIV menggunakan *zidovudine* yang mana penggunaan *zidovudine* >6 bulan merupakan faktor proteksi dalam kejadian anemia makrositik pada penderita terinfeksi HIV. Bagi institusi kesehatan, hasil penelitian ini memberikan data mengenai persentase anemia makrositik pada penderita terinfeksi HIV etnis Jawa yang mendapat *zidovudine*. Manfaat bagi masyarakat khususnya penderita terinfeksi HIV adalah sebagai informasi kemungkinan timbulnya anemia setelah pemberian terapi *zidovudine* sehingga dapat lebih memperhatikan dan segera mengambil langkah lanjut apabila mengalami gejala anemia.

C. Nilai Kebaruan Penelitian

Nilai-nilai kebaruan penelitian ini dapat ditinjau dari dua aspek, yaitu aspek ilmiah dan aspek klinis. Dari aspek ilmiah, nilai kebaruan penelitian ini berupa informasi ilmiah bahwa polimorfisme gen *MTHFR* C665T tidak berperan dalam kejadian anemia makrositik, peningkatan kadar homosistein dan peningkatan kadar MMA pada penderita terinfeksi HIV yang mendapat *zidovudine*. Selain itu, didapatkan pula bahwa lama pemakaian *zidovudine* >6 bulan merupakan faktor proteksi dalam kejadian anemia makrositik pada penderita terinfeksi HIV yang mendapat *zidovudine*. Kelompok usia 40-49 tahun dan 50-59 tahun serta tingkat pendidikan rendah merupakan faktor risiko dalam kejadian anemia makrositik pada penderita terinfeksi HIV yang mendapat terapi *zidovudine*.

Ditinjau dari aspek klinis, kebaruan penelitian ini berupa:

- a. Solusi baru.

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan alternatif solusi baru bahwa pemakaian *zidovudine* >6 bulan dapat memperbaiki kondisi

hematologis penderita terinfeksi HIV, namun pada 6 bulan pertama pemakaian harus dilakukan monitoring hematologi yang ketat agar apabila terjadi anemia dapat segera dilakukan tatalaksana yang tepat. Dengan demikian diharapkan prognosis menjadi lebih baik dalam hal pengobatan infeksi HIV menggunakan *zidovudine*.

b. Strategi baru.

Hasil penelitian ini dapat memberikan suatu strategi baru berupa protokol pengendalian anemia makrositik pada penderita terinfeksi HIV yang mendapat terapi *zidovudine*, yaitu dengan monitoring hematologi secara ketat pada 6 bulan pertama pemakaian *zidovudine*.

c. Perspektif baru.

Hasil penelitian ini dapat memberikan perspektif baru yaitu menginspirasi penelitian selanjutnya dengan tujuan menginvestigasi penyebab anemia makrositik pada penderita terinfeksi HIV yang mendapat *zidovudine*, yang selanjutnya dapat menjadi panduan dalam mencegah kejadian anemia makrositik pada penderita terinfeksi HIV yang mendapat *zidovudine*.

d. Kondisi Baru

Hasil penelitian ini memberikan kondisi baru bahwa polimorfisme gen *MTHFR* C665T tidak berperan dalam kejadian anemia makrositik pada penderita terinfeksi HIV yang mendapat terapi *zidovudine* pada etnis Jawa.

D. Keterbatasan Penelitian

Penelitian ini mempunyai keterbatasan sehingga hasil yang didapatkan belum maksimal dalam upaya membuktikan peran polimorfisme gen *MTHFR* C665T dalam kejadian anemia makrositik pada penderita terinfeksi HIV yang mendapat *zidovudine*.

1. Pemeriksaan kadar hemoglobin sebelum penggunaan *zidovudine* dan monitoring kadar hemoglobin selama penggunaan *zidovudine* tidak dilakukan.

2. Asupan vitamin B yang masih mungkin memberikan pengaruh dalam kejadian anemia makrositik pada penelitian ini tidak menjadi variabel yang diteliti.
3. Status menstruasi tidak dieksklusi sebagai variabel perancu karena dalam penelitian ini berfokus pada status anemia yang bersifat kronis.

