

DISERTASI

**EKSPRESI mRNA RESEPTOR VITAMIN D, KADAR
RESEPTOR VITAMIN D DAN KADAR PROTEIN *HIGH
MOBILITY GROUP BOX 1* (HMGB1) PADA PENDERITA HIV
DENGAN DEFISIENSI IMUN**

EXPRESSION OF mRNA VITAMIN D RESEPTOR,
VITAMIN D RESEPTOR LEVEL AND *HIGH MOBILITY GROUP
BOX 1* (HMGB1) PROTEIN LEVEL IN IMMUNODEFICIENCY
HIV PATIENTS



OLEH

Indah Sapta Wardani
NIM C013181010

**PROGRAM STUDI S3 ILMU KEDOKTERAN
PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2021**

**EKSPRESI mRNA RESEPTOR VITAMIN D, KADAR
RESEPTOR VITAMIN D DAN KADAR PROTEIN *HIGH
MOBILITY GROUP BOX 1* (HMGB1) PADA PENDERITA HIV
DENGAN DEFISIENSI IMUN**

EXPRESSION OF mRNA VITAMIN D RESEPTOR,
VITAMIN D RESEPTOR LEVEL AND *HIGH MOBILITY GROUP
BOX 1* (HMGB1) PROTEIN LEVEL IN IMMUNODEFICIENCY
HIV PATIENTS

Disertasi

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar Doktor
Program Studi Ilmu Kedokteran

Disusun dan diajukan oleh

**INDAH SAPTA WARDANI
C013181010**



Kepada:

**PROGRAM STUDI S3 ILMU KEDOKTERAN
PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2021**

TIM PENILAI UJIAN

- 1. Prof. dr. Mochammad Hatta, Ph.D, Sp.MK(K)**
- 2. Prof. dr. Muhammad Nasrum Massi, Ph.D, Sp.MK**
- 3. Prof. Dr. dr. Mulyanto**
- 4. dr. Agussalim Bukhari, M.Med, Ph.D, Sp.GK(K)**
- 5. Dr. dr. Risna Halim Mubin, Sp.PD-KPTI**
- 6. dr. Aminuddin, M. Nut & Diet, Ph.D**
- 7. Dr. dr. Irawaty Djaharuddin, Sp.P(K)**
- 8. dr. St. Wahyuni, Ph.D**
- 9. Dr. dr. Burhanuddin Bahar, MS**

DISERTASI

**EKSPRESI mRNA RESEPTOR VITAMIN D, KADAR RESEPTOR VITAMIN D DAN
KADAR PROTEIN HIGH MOBILITY GROUP BOX 1 (HMGB1) PADA
PENDERITA HIV DENGAN DEFISIENSI IMUN**

**EXPRESSION OF mRNA VITAMIN D RESEPTOR, VITAMIN D RESEPTOR LEVEL
AND HIGH MOBILITY GROUP BOX 1 (HMGB1) PROTEIN LEVEL
IN IMMUNODEFICIENCY HIV PATIENTS**

Disusun dan diajukan oleh

Indah Sapta Wardani
C013181010

*Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka
Penyelesaian Studi Program Studi Doktor Ilmu Kedokteran
Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin
pada tanggal, 21 April 2021
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan*

Menyetujui
Promotor,

Prof. dr. Mochammad Hatta, Ph.D.Sp.MK(K)
Nip.19570416 198503 1 001

Co. Promotor

Co. Promotor

Dr. dr. Risna Halim Mubin, Sp.PD-KPTI
Nip.19750517 200812 2 002

dr. Agussalim Bukhari, M.Med, Ph.D, Sp.GK(K)
Nip.19700821 199903 1 001

Ketua Program Studi S3
Ilmu Kedokteran,

Dekan Fakultas Kedokteran
Universitas Hasanuddin,

dr. Agussalim Bukhari, M. Med, Ph.D, Sp.GK(K)
Nip. 19700821 199903 1 001

Prof. dr. Budu, Ph.D, Sp.M(K), M.Med.Ed
Nip.19661213 199503 1 009

PERNYATAAN KEASLIAN DISERTASI

Yang bertanda tangan di bawah ini,

Nama : Indah Sapta Wardani

Nomor Mahasiswa : C013181010

Program studi : Doktor Ilmu Kedokteran

menyatakan dengan sebenarnya bahwa disertasi yang berjudul

**EKSPRESI mRNA RESEPTOR VITAMIN D, KADAR RESEPTOR
VITAMIN D DAN KADAR PROTEIN *HIGH MOBILITY GROUP BOX 1*
(HMGB1) PADA PENDERITA HIV DENGAN DEFISIENSI IMUN**

benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilan tulisan atau pemikiran orang lain. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan disertasi ini hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, April 2021

Yang membuat pernyataan,



Indah Sapta Wardani

PRAKATA

Bismillahirrahmanirrahim

Assalamu'alaikum warahmatullahi wabarakatuh.

Alhamdulillah rabbil'alamin, penulis panjatkan kehadiran Allah SWT., atas limpahan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian disertasi ini dengan judul **“EKSPRESI mRNA RESEPTOR VITAMIN D, KADAR RESEPTOR VITAMIN D DAN KADAR PROTEIN HIGH MOBILITY GROUP BOX 1 (HMGB1) PADA PENDERITA HIV DENGAN DEFISIENSI IMUN”** sebagai salah satu persyaratan mencapai gelar Doktor pada Program Studi S3 Ilmu Kedokteran Sekolah Pascasarjana Universitas Hasanuddin. Shalawat dan salam senantiasa tercurah kepada junjungan kita Nabi Besar Muhammad SAW beserta keluarga, sahabat dan pengikutnya hingga akhir zaman.

Pertama-tama penulis menghaturkan rasa hormat dan terima kasih yang setulus-tulusnya kepada ibu saya tercinta Hj. Kaukabun yang senantiasa mendidik, merawat, dan membesarkan saya dengan penuh kasih sayang, selalu mendukung dan memotivasi penulis, serta senantiasa mendoakan kami dari kecil hingga mampu seperti sekarang ini. Serta kepada almarhum ayah saya, semoga Allah SWT mencatat amal ibadahnya dan diberi tempat yang layak di sisi-Nya. Penulis juga menyampaikan terima kasih kepada almarhum suami saya yang semasa hidupnya telah menyayangi saya, menjadi suami yang penuh dengan cinta kasih ke keluarga, serta selalu memotivasi saya untuk terus maju dan menuntut ilmu dengan segala niat kebaikan. Semoga Allah SWT mencatat amal ibadahnya dan diberi tempat yang layak di sisi-Nya.

Secara khusus, ungkapan rasa syukur tak terhingga dan terima kasih untuk ketiga anakku tercinta atas segala kesabarannya, doanya, dan harapan kepada ibunya agar dapat segera menyelesaikan sekolah. Mereka adalah penyemangat dan kekuatan saya bertahan selama menempuh Pendidikan Doktoral. Semoga Allah SWT senantiasa meridhoi mereka dan menjadikan anak-anak yang sholeh dan sholehah serta sukses.

Penyusunan dan penyelesaian disertasi ini tidak terlepas dari keterlibatan dan bantuan dari berbagai pihak. Dalam kesempatan ini, penulis dengan tulus menyampaikan rasa hormat dan terima kasih yang tak terhingga kepada:

Prof. Dr. Dwia Aries Tina Pulubuhu, M.A., selaku Rektor Universitas Hasanuddin. Prof. Dr. Budu, Ph.D, SpM-KVR, M.Med.Ed, selaku Dekan Fakultas Kedokteran UNHAS, terima kasih yang tidak terhingga atas asupan dan koreksi yang diberikan pada penulisan disertasi ini.

dr. Agussalim Bukhari, M.Clin.Med, Ph.D, Sp.GK(K), selaku Ketua Program Studi S3 Kedokteran UNHAS dan co-promotor, atas segala kebaikan dan kemuliaan hatinya yang telah meluangkan waktu, mengarahkan, mendorong, memotivasi, memberikan ide, dan saran untuk perbaikan dalam penyusunan dan penyelesaian disertasi ini. Semoga Allah SWT senantiasa melimpahkan rahmat dan membalas amal kebbaikannya.

Prof. dr. Mochammad Hatta, Ph.D, Sp.MK(K) selaku promotor dan guru atas segala kebaikan dan kemuliaan hatinya yang telah meluangkan waktu, mengarahkan, mendorong, memotivasi, memberikan ide, dan saran untuk perbaikan dalam penyusunan dan penyelesaian disertasi ini.

Dr. dr. Risna Halim Mubin, Sp.PD, KPTI, selaku co-Promotor dan guru, atas segala kebaikan dan kemuliaan hatinya yang telah meluangkan waktu, mengarahkan, mendorong, memotivasi, memberikan ide, dan saran untuk perbaikan dalam penyusunan dan penyelesaian disertasi ini. Saya ucapkan terima kasih yang tak terhingga dan mohon maaf yang sebesar-besarnya kepada promotor dan co-promotor, bila selama bimbingan ada kesalahan dan kekhilafan yang penulis perbuat, semoga Allah SWT senantiasa melimpahkan rahmat dan membalas amal kebaikan mereka.

Prof. Dr. dr. Mulyanto selaku Penguji Eksternal atas segala kebaikan dan kemuliaan hatinya yang selalu menyempatkan waktu di sela kegiatannya yang padat untuk member masukan dan perbaikan sejak persiapan hingga akhir penulisan disertasi ini. Semoga Allah SWT mencatat semua amal kebaikan beliau.

Prof. dr. Muhammad Nasrum Massi, Ph.D, selaku penguji yang banyak memberikan inspirasi dan bimbingan untuk saya menyelesaikan disertasi ini.

Dr. dr. Irawaty Djaharuddin, Sp.P(K) selaku penguji yang banyak memberikan inspirasi dan bimbingan sejak awal hingga penyelesaian disertasi ini.

Dr. dr. Burhanudin Bahar, MS selaku penguji yang banyak memberikan inspirasi dan bimbingan, dan koreksi, khususnya bidang pengolahan statistik dan metodologi penelitian dari awal hingga penyelesaian disertasi ini.

dr. Aminuddin, M. Nut & Diet, Ph.D selaku penguji yang banyak memberikan inspirasi dan bimbingan, dan koreksi, mulai dari awal hingga penyelesaian disertasi ini.

dr. St. Wahyuni, Ph.D selaku penguji yang banyak memberikan inspirasi dan bimbingan awal hingga penyelesaian disertasi ini. Semoga Allah SWT senantiasa melindungi dan mencatat seluruh amal kebaikan mereka.

Kepada Prof. dr. Mochammad Hatta, Ph.D, Sp.MK(K) selaku Kepala Laboratorium Biomolekuler dan Imunologi FK UNHAS beserta staff H. Romi dan Pak Mus atas bantuan dan fasilitas selama penelitian. Semoga Allah SWT. membalas semua amal kebaikan mereka.

Rektor Universitas Mataram Prof. M. Husni S.H., M.H. dan jajarannya atas dukungan baik moril maupun materiil. Dekan FK Universitas Mataram dan jajarannya atas dukungan baik moril maupun materiil. Sekaligus teman seperjuangan dalam menempuh Pendidikan S3, terima kasih atas dukungan, motivasi dan bantuannya terutama bantuan dana selama Pendidikan dan Penelitian, dari awal pendidikan hingga selesainya disertasi ini. Rekan-rekan Dokter dan paramedis Angkatan 2018 yang menempuh S3 FK Unhas dari NTB, Keluarga Besar Fakultas Kedokteran Universitas Mataram, Guru Besar, para Dosen dan seluruh staff yang selama ini mendoakan dan memotivasi hingga selesainya disertasi ini. Terima kasih yang tak terhingga, semoga Allah SWT. membalas semua amal kebaikan mereka.

Direktur RSUD Kota Mataram atas ijinnya sebagai tempat pengambilan sampel penelitian. Kepada dr. Devi, selaku Dokter penanggung jawab poliklinik VCT RSUD Kota Mataram yang telah mengijinkan, membantu, dan memfasilitasi kami selama proses pengambilan data dan sampel. dr. Kartika, Sp.PK selaku Kepala Laboratorium Patologi Klinik di RSUD Kota Mataram yang sudah

mengijjinkan dan membantu selama proses sampling. Mbak Riani yang sudah membantu, menghubungkan dan berpartisipasi aktif dalam proses pengambilan data dan sampel penelitian kami. Kepada Pak Hilmi dan Pak Hendra yang membantu kami selama proses sampling dan penanganan sampel penelitian. Terima kasih yang sebesar-besarnya, semoga Allah SWT membalas semua amal kebaikan mereka.

Staf Program S3 Ilmu Kedokteran UNHAS, Pak Akmal, Pak Mumu, Pak Rahmad dan Ibu Nur, atas dukungan dan bantuannya baik secara moril maupun secara administratif.

Seluruh pasien maupun keluarga pasien serta sukarelawan yang secara iklas tanpa paksaan, ikut berpartisipasi dalam penelitian ini.

Kepada 3 mahasiswa saya, Agi, Mitha, dan Arik yang sudah ikut membantu saya dengan tulus dan berpartisipasi aktif dalam dengan proses pengumpulan data, semoga Allah SWT. melancarkan dan memudahkan kalian.

Kepada seluruh pihak yang telah membantu dalam penyelesaian Pendidikan Doktor dan penerbitan disertasi ini, yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu, dengan ketulusan hati saya sampaikan penghargaan yang setinggi-tingginya. Semoga Allah SWT. membalas kebaikan bapak, ibu, saudara dan saudari sekalian dengan pahala yang berlipat ganda. Aamiin.

Saya menyadari bahwa disertasi ini tidak luput dari kekurangan dan keterbatasan, karena itu kritikan dan saran membangun sangat diharapkan dari berbagai pihak untuk penyempurnaan disertasi ini. Akhir kata, semoga dengan terbitnya disertasi ini dapat bermanfaat untuk kepentingan ilmu pengetahuan dan untuk kepentingan aplikasi klinis kepada masyarakat.

Aamiin, aamiin, Ya Rabbal Aalamiin.

Wassalamu 'alaikum warahmatullahi wabarakatuh.

Makassar, April 2021

Indah Sapta Wardani

ABSTRAK

INDAH SAPTA WARDANI. *Kadar Reseptor Vitamin D Serum dan High Mobility Group Box-1 (HMGB-1) pada Pasien Terinfeksi HIV dengan Status Imunodefisiensi yang Berbeda: Study Cross Sectional* (dibimbing oleh Mochammad Hatta dan Agussalim Bukhari).

Penelitian ini bertujuan mengetahui perbedaan dan korelasi reseptor Vitamin D dan kadar protein HMGB-1 pada pasien HIV dengan imunodefisiensi ringan dan berat serta peserta kontrol yang sehat.

Penelitian ini menggunakan desain potong lintang yang dilakukan di Klinik Volunteer Counseling and Testing (VCT) Mataram, Nusa Tenggara Barat – Indonesia selama Januari hingga Juni 2020. Tiga kelompok subjek penelitian diklasifikasikan sebagai kelompok HIV dengan defisiensi imun berat (DIB), kelompok HIV dengan defisiensi imun ringan (DIR), dan kelompok kontrol sehat (KS).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa rata-rata kadar reseptor Vitamin D di kelompok DIB adalah $25,89 \pm 3,95$ ng/ml, lebih rendah daripada kelompok DIR yang sebesar $33,72 \pm 1,69$ ng/ml dan kelompok KS sebesar $50,65 \pm 3,64$ ng/ml. Rata-rata kadar protein HMGB-1 di kelompok DIB adalah $3.119,81 \pm 292,38$ pg/ml, lebih tinggi daripada kelompok DIR yang sebesar $1.553,55 \pm 231,08$ pg/ml dan kelompok KS sebesar $680,82 \pm 365,51$ pg/ml. Terdapat korelasi yang signifikan dan kuat ($r=0,932$) antara VDR dan kadar HMGB-1 ($p<0,01$). Hubungan yang kuat antara VDR dan HMGB-1 dalam status imunodefisiensi berbeda menunjukkan peran penting Vitamin D sebagai pengendali inflamasi pada infeksi HIV. Namun, hal tersebut perlu dikonfirmasi dalam studi prospektif lanjutan.

Kata kunci: reseptor Vitamin D, protein HMGB-1, infeksi HIV, imunodefisiensi



ABSTRACT

INDAH SAPTA WARDANI. *Serum Vitamin D Receptor and High Mobility Group Box-1 (HMGB1) Levels in HIV Infected Patients with Different Immunodeficiency Status: A Cross-Sectional Study* (supervised by **Mochammad Hatta and Agussalim Bukhari**).

This study aims to determine differences and correlation of vitamin D receptors and HMGB1 protein levels in HIV patients with mild and severe immunodeficiency, and healthy control participants.

This research used a cross-sectional method design conducted at Volunteer Counseling and Testing (VCT) Clinic in Mataram, West Nusa Tenggara, Indonesia from January to June 2020. Three groups of study subjects classified as HIV patients with severe immune deficiency (SID), HIV patients with mild immune deficiency (MID), and healthy controls (HC).

The results indicate that the mean level of vitamin D receptor in SID HIV group is 25.89 ± 3.95 ng/ml, lower than those of in MID HIV group is 33.72 ± 1.69 ng/ml and in HC group is 50.65 ± 3.64 ng/ml. Mean levels of HMGB1 protein in SID HIV group are 3119.81 ± 292.38 pg/ml higher than those of in MID HIV group is 1553.55 ± 231.08 pg/ml and HC is 680.82 ± 365.51 pg/ml. There is a significant and strong correlation ($r = -0.932$) between vitamin D receptor and HMGB1 levels ($p < 0.01$). Strong association between VDR and HMGB1 in different immunodeficiency status indicates an important role of vitamin D in inflammation control in HIV infection. However, it needs to be confirmed in further prospective study.

Keyword: Vitamin D receptor, HMGB1 protein, HIV infection, immunodeficiency



DAFTAR ISI

| | Hal. |
|---|-------------|
| HALAMAN SAMPUL | i |
| HALAMAN JUDUL | ii |
| HALAMAN PERSETUJUAN | iii |
| HALAMAN PENGESAHAN | iv |
| HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN PENELITIAN | v |
| PRAKATA | vi |
| ABSTRAK | x |
| ABSTRACT | xi |
| DAFTAR ISI | xii |
| DAFTAR TABEL | xviii |
| DAFTAR GAMBAR | xix |
| DAFTAR LAMPIRAN | xxi |
| DAFTAR ARTI LAMBANG DAN SINGKATAN | xxii |
| | |
| BAB I PENDAHULUAN | 1 |
| 1.1 Latar Belakang Masalah | 1 |
| 1.2 Rumusan Masalah | 2 |
| 1.3 Tujuan Penelitian..... | 3 |
| 1.4 Manfaat Penelitian..... | 4 |
| | |
| BAB II TINJAUAN PUSTAKA | 5 |
| 2.1 HIV/AIDS | 5 |
| 2.1.1 Patogenesis Penyakit HIV | 5 |
| 2.1.2 Klasifikasi Infeksi HIV | 9 |
| 2.1.3 Pemeriksaan HIV | 13 |
| 2.1.4 Terapi Antiretroviral (ARV) pada HIV | 19 |
| 2.1.5 Efek Antiretroviral (ARV) dan Vitamin D/VDR pada infeksi HIV | 22 |

| | |
|---|----|
| 2.2 VITAMIN D | 24 |
| 2.2.1 Sumber Vitamin D..... | 24 |
| 2.2.2 Metabolisme Vitamin D..... | 24 |
| 2.2.3 Fungsi Vitamin D..... | 28 |
| 2.2.4 Defisiensi Vitamin D..... | 29 |
| 2.2.5 Faktor Resiko Defisiensi Vitamin D..... | 30 |
| 2.2.6 Suplementasi Vitamin D..... | 31 |
| 2.3 VITAMIN D RECEPTOR (VDR) | 31 |
| 2.3.1 Transport dan Mekanisme Kerja Reseptor Vitamin D..... | 32 |
| 2.3.2 mRNA VDR..... | 34 |
| 2.4 HIGH-MOBILITY GROUP BOX 1 (HMGB1) | 36 |
| 2.4.1 Definisi..... | 36 |
| 2.4.2 Struktur..... | 37 |
| 2.4.3 Fungsi..... | 38 |
| 2.4.4 Ekspresi dan Lokasi Subseluler..... | 39 |
| 2.4.5 Pelepasan..... | 40 |
| 2.4.6 Aktivasi Sitokin atau Peran Patologis HMGB1..... | 42 |
| 2.5 HUBUNGAN INFEKSI HIV DENGAN VITAMIN D | 42 |
| 2.5.1 Peran Vitamin D pada Sistem Imun Infeksi HIV | 45 |
| 2.5.2 Reseptor Vitamin D dan Sel CD4 pada Infeksi HIV | 50 |
| 2.5.3 Reseptor Vitamin D, Imunitas Innate, dan Infeksi HIV..... | 50 |
| 2.5.3 Reseptor Vitamin D, Imunitas Adaptif, dan Infeksi HIV..... | 52 |

| | | |
|----------------|--|-----------|
| | 2.6 HMGB1 DAN PENYAKIT INFEKSI | 53 |
| | 2.6.1 HMGB1 sebagai Mediator Penting Penyebab Kematian pada Peradangan Steril dan Infeksi | 53 |
| | 2.6.2 Peran HMGB1 pada Penyakit Infeksi Viral | 55 |
| | 2.7 HUBUNGAN PENYAKIT HIV DENGAN HMGB | 56 |
| | 2.7.1 HMGB1 dengan Sel T CD4 | 57 |
| | 2.8 HUBUNGAN ANTARA VITAMIN D, MRNA VDR DAN HMGB1 | 59 |
| BAB III | KERANGKA TEORI | 62 |
| BAB IV | KERANGKA KONSEP | 63 |
| | 4.1 Kerangka Konsep | 63 |
| | 4.2 Variabel | 64 |
| | 4.3 Hipotesis | 64 |
| BAB V | METODE PENELITIAN | 65 |
| | 5.1 Desain Penelitian | 65 |
| | 5.2 Populasi Penelitian | 65 |
| | 5.3 Tempat dan Waktu Penelitian | 65 |
| | 5.4 Sampel Penelitian | 65 |
| | 5.4.1 Teknik Sampling dan Besar Sampel | 65 |
| | 5.4.2 Kriteria Sampel | 66 |
| | 5.4.2.1 Kriteria Inklusi | 66 |
| | 5.4.2.2 Kriteria Eksklusi | 66 |
| | 5.5 Cara Kerja | 67 |
| | 5.5.1 Pemilihan Subjek Penelitian | 67 |
| | 5.5.2 Pengumpulan Data Penelitian | 67 |

| | | |
|---------|---|----|
| 5.5.3 | Persiapan Alat dan Bahan/Reagen dan Metode Pemeriksaan | 68 |
| 5.5.3.1 | Alat dan bahan/reagen untuk ekstraksi asam nukleat mRNA VDR (metode Boom)..... | 68 |
| 553.1.1 | Alat untuk isolasi nukleat | 68 |
| 553.1.2 | Reagen untuk isolasi asam nukleat | 68 |
| 5.5.3.2 | Metode pemeriksaan ekspresi mRNA gen VDR..... | 69 |
| 553.2.1 | Ekstraksi asam nukleat dengan metode Boom..... | 69 |
| 553.2.2 | Ekspresi mRNA VDR dengan RT-PCR | 71 |
| 553.2.3 | Perhitungan kurva standar dengan Ct (<i>Cycle Threshold</i>)..... | 74 |
| 5.5.3.3 | Pemeriksaan kadar vitamin D (serum) dan kadar protein HMGB1 (serum) dengan ELISA | 74 |
| 553.3.1 | Prinsip pengukuran | 74 |
| 553.3.2 | Alat dan Bahan untuk pemeriksaan kadar vitamin D dan kadar protein HMGB1 dengan ELISA | 75 |
| 553.3.3 | Pemeriksaan Sampel dengan ELISA | 75 |
| 553.3.4 | Penentuan kadar vitamin D serum dan kadar protein serum HMGB1 | 78 |
| 5.5 | Ijin (Etika) Subyek Penelitian | 78 |
| 5.6 | Alur Penelitian | 79 |

| | |
|---|-----------|
| 5.7 Definisi Operasional dan Kriteria Objektif | 80 |
| 5.8 Pengolahan dan Analisis Data | 81 |
| BAB VI HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN | 82 |
| 6.1 HASIL PENELITIAN | 82 |
| 6.1.1 Karakteristik Subjek | 83 |
| 6.1.2 Hasil Pemeriksaan Parameter Variabel yang Diteliti | 85 |
| 6.1.3 Perbedaan Kadar Reseptor Vitamin D Serum pada Infeksi HIV | 86 |
| 6.1.4 Perbedaan Ekspresi mRNA Reseptor Vitamin D pada Infeksi HIV | 87 |
| 6.1.5 Perbedaan Kadar Protein HMGB1 Serum pada Infeksi HIV | 88 |
| 6.1.6 Hubungan antara Kadar Reseptor Vitamin D, Ekspresi mRNA Reseptor Vitamin D dan HMGB1 pada Infeksi HIV | 89 |
| 6.1.7 Hubungan antara Kadar Reseptor Vitamin D, Ekspresi mRNA Reseptor Vitamin D dan HMGB1 dengan Status Imun | 90 |
| 6.2 PEMBAHASAN | 91 |
| 6.2.1 Karakteristik Subjek | 92 |
| 6.2.2 Hasil Pemeriksaan Parameter Variabel yang Diteliti | 95 |
| 6.2.3 Perbedaan Kadar Reseptor Vitamin D Serum pada Infeksi HIV | 98 |
| 6.2.4 Perbedaan Ekspresi mRNA Reseptor Vitamin D pada Infeksi HIV | 98 |
| 6.2.5 Perbedaan Kadar Protein HMGB1 Serum pada Infeksi HIV | 98 |

| | |
|---|------------|
| 6.2.6 Hubungan antara Kadar Reseptor Vitamin D, Ekspresi mRNA Reseptor Vitamin D dan HMGB1 pada Infeksi HIV | 100 |
| 6.2.6.1 Hubungan antara kadar vitamin D dan ekspresi mRNA reseptor vitamin D | 100 |
| 6.2.6.2 Hubungan antara kadar reseptor vitamin D dan ekspresi mRNA reseptor vitamin D dengan HMGB1 | 100 |
| 6.2.7 Hubungan antara Kadar Vitamin D, Ekspresi mRNA Reseptor Vitamin D dan HMGB1 dengan Status Imun | 102 |
| 6.2.7.1 Hubungan antara kadar vitamin D dengan status imun | 103 |
| 6.2.7.2 Hubungan antara ekspresi mRNA Reseptor Vitamin D dengan status imun | 104 |
| 6.2.7.3 Hubungan antara kadar protein HMGB1 dengan status imun | 104 |
| 6.2.8 Komorbid pada Infeksi HIV | 106 |
| 6.2.9 Anti Retroviral pada Infeksi HIV dan Keterkaitan dengan Metabolisme Vitamin D ... | 107 |
| 6.2.10 Infeksi Oportunistik pada Penderita HIV | 109 |
| KETERBATASAN PENELITIAN | 110 |
| BAB VII KESIMPULAN DAN SARAN | 111 |
| 7.1 Ringkasan | 111 |
| 7.2 Simpulan | 112 |
| 7.3 Saran | 112 |
| DAFTAR PUSTAKA | 113 |

DAFTAR TABEL

| | | Hal. |
|-----------------|---|-------------|
| Tabel 1 | Kit untuk Pemeriksaan Antibodi HIV yang Disetujui <i>Us Food and Drug Administration</i> (FDA) | 16 |
| Tabel 2 | ARV Lini Pertama | 22 |
| Tabel 3 | Definisi Status Vitamin D | 29 |
| Tabel 4 | Faktor Resiko Defisiensi Vitamin D | 30 |
| Tabel 5 | Definisi Operasional | 80 |
| Tabel 6 | Karakteristik Dasar Subyek Penelitian | 83 |
| Tabel 7 | Karakteristik Penderita HIV | 84 |
| Tabel 8 | Infeksi Oportunistik pada HIV | 84 |
| Tabel 9 | Hasil Pemeriksaan Parameter Variabel yang Diteliti | 86 |
| Tabel 10 | Hubungan antara Kadar Reseptor Vitamin D, Ekspresi mRNA Reseptor Vitamin D dan HMGB1 pada Infeksi HIV | 90 |
| Tabel 11 | Hubungan antara Kadar Reseptor Vitamin D, Ekspresi mRNA Reseptor Vitamin D dan HMGB1 dengan Status Imun | 90 |

DAFTAR GAMBAR

| | Hal. |
|--|-------------|
| Gambar 1 Pathogenesis Penyakit HIV | 6 |
| Gambar 2 Perjalanan Khas Infeksi HIV | 11 |
| Gambar 3 Skema Metabolisme Vitamin D di Dalam Tubuh | 26 |
| Gambar 4 Metabolisme Vitamin D di Dalam Tubuh | 27 |
| Gambar 5 Peran Vitamin D pada Masing-masing Sistem Tubuh | 30 |
| Gambar 6 Transpor dan Mekanisme Kerja Vitamin D pada Tubuh | 34 |
| Gambar 7 Karakteristik Struktur HMGB1 | 37 |
| Gambar 8 Struktur Protein HMGB1 | 37 |
| Gambar 9 Fungsi HMGB1 | 39 |
| Gambar 10 Pelepasan Protein HMGB | 41 |
| Gambar 11 Pelepasan Protein HMGB1 | 41 |
| Gambar 12 Faktor Resiko Defisiensi Vitamin D pada Penderita HIV ... | 44 |
| Gambar 13 Faktor Resiko Defisiensi Vitamin D pada Penderita HIV ... | 45 |
| Gambar 14 Patogenesis Proses Inflamatorik Kronis Akibat Infeksi Persisten Bakteri | 47 |
| Gambar 15 Peran Vitamin D dan Reseptor Vitamin D pada Sistem Imun | 49 |
| Gambar 16 Mekanisme Disfungsi Organ oleh HMGB1 | 55 |
| Gambar 17 Peran Hipotetis Kelompok Mobilitas Tinggi Kotak 1 (HMGB1) dalam Patogenesis Penyakit Infeksi Virus | 56 |
| Gambar 18 Kerangka Teori | 62 |
| Gambar 19 Kerangka Konsep | 63 |
| Gambar 20 Alat RT-PCR | 72 |
| Gambar 21 Pengenceran Sampel | 76 |
| Gambar 22 Pengenceran Standar | 76 |
| Gambar 23 Alur Penelitian | 79 |
| Gambar 24 Perbandingan Rerata Kadar Reseptor Vitamin D Serum pada Kelompok HIV dengan Defisiensi Imun Berat, Kelompok HIV dengan Defisiensi Imun Ringan dan Kelompok Kontrol Sehat | 87 |

| | | |
|------------------|--|----|
| Gambar 25 | Perbandingan Rerata Ekspresi mRNA Reseptor Vitamin D pada Kelompok HIV dengan Defisiensi Imun Berat, Kelompok HIV dengan Defisiensi Imun Ringan dan Kelompok Kontrol Sehat | 88 |
| Gambar 26 | Perbandingan Rerata Kadar HMGB1 Serum pada Kelompok HIV dengan Defisiensi Imun Berat, Kelompok HIV dengan Defisiensi Imun Ringan dan Kelompok Kontrol Sehat | 89 |

DAFTAR LAMPIRAN

| | Hal. |
|--|-------------|
| Lampiran 1 <i>Ethical Clearance</i> | 131 |
| Lampiran 2 Informed Consent | 132 |
| Lampiran 3 Kuesioner Paparan Sinar Matahari, Gaya Hidup dan Diet | 137 |
| Lampiran 4 Analisa Data | 141 |

DAFTAR LAMBANG DAN SINGKATAN

| | |
|----------------|--|
| HIV | <i>Human Immunodeficiency Virus</i> |
| CD4 | <i>Cluster of Differentiation 4</i> , merupakan sel darah putih yang berperan penting dalam system kekebalan tubuh |
| VDR | <i>Vitamin D Receptor</i> |
| HMGB1 | <i>High Mobility Group Box 1</i> |
| ARV | <i>Anti Retroviral</i> |
| AIDS | <i>Acquired Immune Deficiency Syndrome</i> |
| mRNA | <i>messenger Ribonucleic Acid</i> |
| DNA | <i>Deoxyribonucleic Acid</i> |
| APC | <i>Antigen Presenting Cell</i> |
| CTL | <i>Cytolytic T Lymphocytes</i> |
| MHC-1 | <i>Major Histocompatibility Complex</i> |
| RT-PCR | <i>Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction</i> |
| ELISA | <i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i> |
| sel Tc | <i>Sel T cytotoxic</i> |
| IL | <i>Interleukin</i> |
| IFN- γ | <i>reseptor interferon γ</i> |
| IgA | <i>Immunoglobulin A</i> |
| IgG | <i>Immunoglobulin G</i> |
| CXCR4 dan CCR5 | Merupakan reseptor kemokin yang terletak pada permukaan sel limfosit yang berperan dalam infeksi HIV |
| ARC | <i>AIDS related complex</i> |
| LGP | <i>Limfadenopati Generalisata Persisten</i> |
| PCP | <i>Pneumocystitis carinii</i> |
| CMV | <i>Cytomegalovirus</i> |
| DAMP | <i>Damage-Associated Molecular Pattern</i> |
| RAGE | <i>Reseptor For Advanced Glycation End Products</i> |
| TLR | <i>Toll-like Reseptor</i> |
| DC | <i>Dendritic Cell</i> |

| | |
|----------------------------------|---|
| Sel NK | <i>Sel Natural Killer</i> |
| TNF- α | <i>Tumor Necrosis Factor α</i> |
| MIP-1 α dan MIP-1 β | <i>Macrophage Inflammatory Protein (1α dan 1β), merupakan jenis sitokin kemotaktik</i> |
| PTH | <i>Hormon Paratiroid</i> |
| LPS | <i>Lipopolysaccharide (LPS)</i> |
| PAMP | <i>Pathogen Associated Molecular Pattern</i> |
| LDH | <i>Lactate Dehydrogenase</i> |
| ELISPOT | <i>Enzyme-Linked Immunosorbent Spot</i> |
| CPE | efek sitopatik |
| TCR | reseptor sel-T |

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 LATAR BELAKANG MASALAH

Infeksi HIV masih merupakan masalah kesehatan di seluruh dunia. Jumlah penderita yang terinfeksi HIV mencapai 60 juta orang dan menyebabkan 25 juta kematian yang tersebar di seluruh dunia (WHO, 2011). Di Indonesia angka kumulatif penderita HIV pada tahun 2017 mencapai 280.623 orang, dengan yang terdiagnosa AIDS mencapai 102.667 orang. (Kemenkes, 2018). Di Nusa Tenggara Barat, sampai Desember 2018 dilaporkan jumlah kumulatif kasus HIV sebanyak 812 kasus dan kasus AIDS sebanyak 937 kasus (Dikes Provinsi NTB, 2019).

Meskipun terapi kombinasi anti retroviral (ARV) dapat menurunkan mortalitas dan meningkatkan harapan hidup pada pasien terinfeksi HIV. Adanya inflamasi kronis dan aktivasi imun masih merupakan penyebab morbiditas dan mortalitas pada penderita HIV meskipun telah mendapat terapi ARV (Alvarez, 2019). Berbagai faktor berbeda dapat mempengaruhi progresivitas infeksi HIV, salah satunya adalah defisiensi vitamin D. Bentuk aktif vitamin D merupakan determinan penting dalam diferensiasi sel T CD4. Efek tersebut dimediasi oleh reseptor vitamin D (VDR) dan berkaitan dengan ekspresi protein VDR (Kongsbak, 2014). Defisiensi vitamin D menyebabkan penurunan jumlah VDR (Walker & Modlin, 2009).

Inflamasi kronik dapat menyebabkan penurunan produksi vitamin D yang diketahui merupakan mediator kunci pada penyakit inflamasi dan infeksi. (Lang, 2017). *High mobility group box 1* (HMGB1) merupakan protein yang selama ini dikaitkan dengan proses inflamasi. HMGB1 berkontribusi pada aktivasi imun dan progresivitas terkait HIV (Troseid, 2012). Penelitian pada mencit menunjukkan bahwa vitamin D berperan menghambat sekresi HMGB1 (Rao, 2014).

Adanya peningkatan prevalensi defisiensi vitamin D pada penderita HIV yang mendapat terapi ARV, serta kaitannya dengan inflamasi kronik dan aktivasi imun akan berimplikasi pada progresivitas infeksi HIV yang akan berpengaruh

pada kontrol kesehatan masyarakat secara menyeluruh. Hal ini mendorong peneliti untuk mengetahui lebih dalam mengenai keterkaitan antara reseptor vitamin D dan parameter inflamasi (salah satunya adalah HMGB1) pada penderita HIV dengan status imun yang berbeda.

1.2 RUMUSAN MASALAH

Berdasarkan latar belakang tersebut di atas, maka permasalahan penelitian ini dirumuskan dalam pertanyaan penelitian “Bagaimanakah peranan kadar reseptor vitamin D, ekspresi mRNA reseptor vitamin D dan kadar HMGB1 terhadap status imun penderita HIV?”

Pertanyaan penelitian:

1. Apakah ada perbedaan kadar reseptor vitamin D terhadap status imun penderita HIV?
2. Apakah ada perbedaan ekspresi mRNA reseptor vitamin D terhadap status imun penderita HIV?
3. Apakah ada perbedaan kadar HMGB1 terhadap status imun penderita HIV?
4. Apakah ada korelasi antara kadar reseptor vitamin D dengan status imun?
5. Apakah ada korelasi antara ekspresi mRNA reseptor vitamin D dengan status imun?
6. Apakah ada korelasi antara kadar HMGB1 dengan status imun?
7. Apakah ada korelasi antara kadar reseptor vitamin D dengan ekspresi mRNA reseptor vitamin D terhadap infeksi HIV?
8. Apakah ada korelasi antara kadar reseptor vitamin D dengan kadar HMGB1 terhadap infeksi HIV?
9. Apakah ada korelasi ekspresi mRNA reseptor vitamin D dengan kadar HMGB1 terhadap infeksi HIV?

1.3 TUJUAN PENELITIAN

1.3.1 Tujuan umum

Untuk mengetahui perbedaan kadar reseptor vitamin D, ekspresi mRNA reseptor vitamin D dan kadar HMGB1 terhadap status imun penderita HIV dan apakah ada hubungan antara ketiga parameter tersebut.

1.3.2 Tujuan khusus

- 1.3.2.1** Diketuainya perbedaan kadar reseptor vitamin D terhadap status imun penderita HIV.
- 1.3.2.2** Diketuainya perbedaan ekspresi mRNA reseptor vitamin D terhadap status imun penderita HIV.
- 1.3.2.3** Diketuainya perbedaan kadar HMGB1 terhadap status imun penderita HIV.
- 1.3.2.4** Diketuainya korelasi antara kadar reseptor vitamin D dengan status imun.
- 1.3.2.5** Diketuainya korelasi antara ekspresi mRNA reseptor vitamin D dengan status imun.
- 1.3.2.6** Diketuainya korelasi antara kadar HMGB1 dengan status imun.
- 1.3.2.7** Diketuainya korelasi antara kadar reseptor vitamin D dengan ekspresi mRNA reseptor vitamin D terhadap infeksi HIV.
- 1.3.2.8** Diketuainya korelasi antara kadar reseptor vitamin D dengan kadar HMGB1 terhadap infeksi HIV.
- 1.3.2.9** Diketuainya korelasi ekspresi mRNA reseptor vitamin D dengan kadar HMGB1 terhadap infeksi HIV.
- 1.3.2.10** Diketuainya peran kadar reseptor vitamin D, ekspresi mRNA reseptor vitamin D dan kadar HMGB1 dalam infeksi HIV sebagai penanda infeksi HIV.

1.4 MANFAAT PENELITIAN

1.4.1 Manfaat dari aspek pengembangan ilmu

- 14.1.1 Hasil penelitian diharapkan dapat memberikan gambaran lebih lengkap mengenai peranan kadar reseptor vitamin D, ekspresi mRNA reseptor vitamin D dan kadar HMGB1 pada infeksi HIV.
- 14.1.2 Hasil penelitian diharapkan dapat menjadi dasar kebijakan untuk mengetahui seberapa besar kepentingan kadar reseptor vitamin D, ekspresi mRNA reseptor vitamin D dan kadar HMGB1 pada penderita HIV yang mendapat terapi ARV dengan defisiensi status imun, terutama defisiensi imun berat.
- 14.1.3 Hasil penelitian diharapkan dapat menjadi dasar penelitian selanjutnya yang lebih luas pada penderita HIV.

1.4.2 Manfaat dari aspek aplikasi klinis

- 14.2.1 Hasil penelitian ini diharapkan dapat membantu klinisi dalam memahami mekanisme molekular respons imun penderita HIV yang melibatkan kadar reseptor vitamin D, ekspresi mRNA reseptor vitamin D dan kadar HMGB1.
- 14.2.2 Hasil penelitian diharapkan dapat membantu klinisi dalam mengetahui biomarker/penanda yang berperan dalam progresifitas infeksi HIV.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 HIV/AIDS

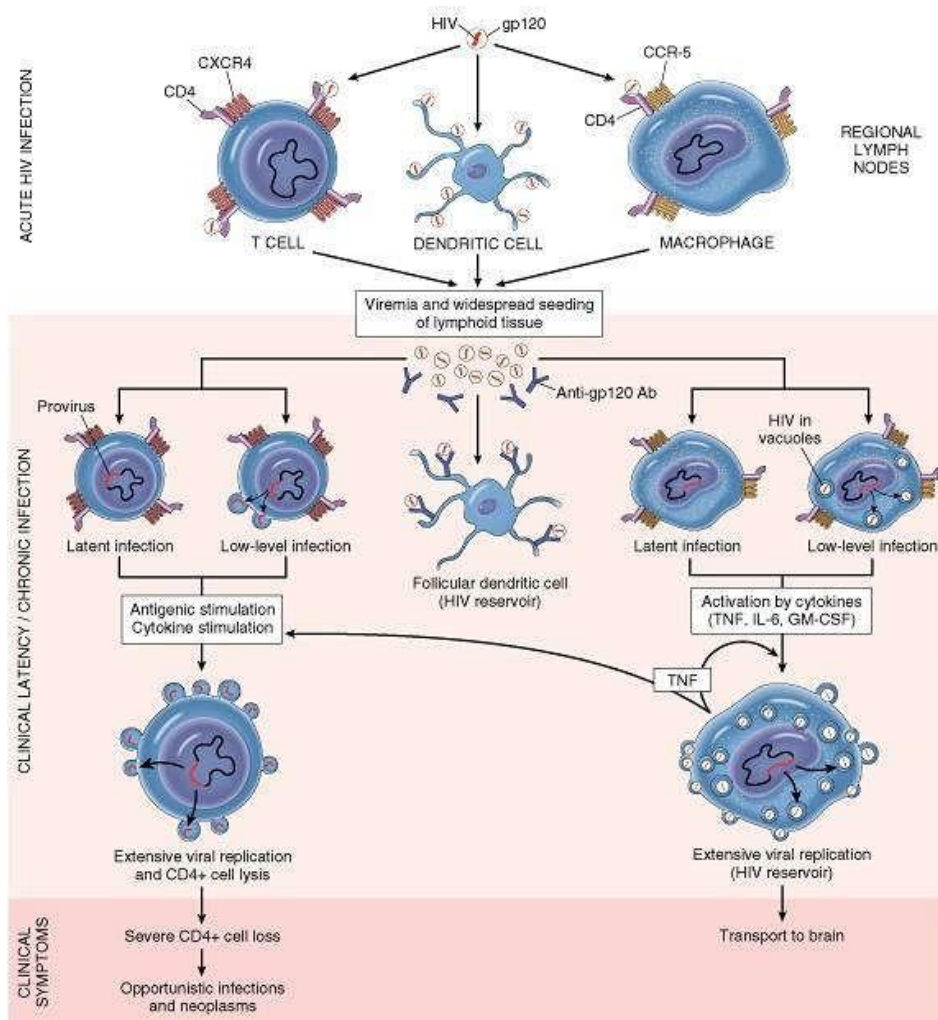
Human immunodeficiency virus (HIV) merupakan virus yang menyerang sistem kekebalan tubuh manusia dimana pada tahap lanjut menimbulkan gejala AIDS. Virus HIV menyerang jenis sel darah putih, yaitu limfosit yang memiliki CD4 sebagai *marker* atau penanda yang berada di permukaan sel limfosit. Berkurangnya nilai CD4 pada manusia menunjukkan berkurangnya sel-sel darah putih limfosit yang seharusnya berperan dalam mengatasi infeksi yang masuk ke tubuh manusia. Pada orang dengan status imun yang baik, nilai CD4 antara 1400-1500. Pada orang dengan gangguan sistem kekebalan, nilai CD4 semakin lama akan semakin menurun, bahkan dapat mencapai nilai 0. (Komisi Penanggulangan AIDS, 2007)

Virus masuk ke dalam tubuh manusia terutama melalui perantara darah, semen, dan sekret vagina. Target utama virus HIV adalah limfosit CD4 karena adanya afinitas terhadap molekul permukaan CD4. Virus ini akan mengubah informasi genetiknya ke dalam bentuk yang terintegrasi di dalam informasi genetik dari sel yang diserang, yaitu dengan mengubah bentuk RNA menjadi DNA dengan perantara enzim *reverse transcriptase*. Virus HIV menyerang sel CD4 baik secara langsung maupun tidak langsung. Secara langsung, sampul HIV yang mempunyai efek toksik akan menghambat fungsi sel T. Secara tidak langsung, lapisan luar protein HIV yang disebut sampul gp 120 dan antigen p24 berinteraksi dengan CD4 yang selanjutnya akan menghambat aktivasi dari *antigen presenting cell* (APC). Hilangnya fungsi CD4 menyebabkan gangguan imunologis yang bersifat progresif. (Daili et al., 2009; Djoerban, 2001)

2.1.1 PATOGENESIS PENYAKIT HIV

Infeksi HIV-1 dimulai dengan infeksi akut yang hanya dikendalikan sebagian oleh respon imun spesifik dan berlanjut menjadi infeksi kronik progresif

pada jaringan limfoid perifer. Human Immunodeficiency Virus (HIV) biasanya masuk melalui epitel mukosa. Peristiwa dalam infeksi dimulai pada tahap akut (awal) ditandai dengan infeksi sel T memori CD4+ pada jaringan limfoid mukosa dan banyak kematian sel yang terinfeksi (Crottes et al, 2016). Bahkan, dalam waktu 2 minggu sejak terinfeksi, sebagian besar sel T CD4 dapat dihancurkan. Transisi dari fase akut ke fase kronis infeksi ditandai dengan penyebaran virus yang ditandai oleh viremia. Viremia memungkinkan virus untuk menyebar ke seluruh tubuh dan menginfeksi sel T *helper*, makrofag dan sel dendritik dalam jaringan limfoid perifer (Abbas, et al, 2012).



Gambar 1. Patogenesis Penyakit HIV (Shrestha, 2010).

Antigen p24 merupakan petanda terdini adanya infeksi HIV, ditemukan beberapa hari/minggu sebelum terjadi serokonversi sintesis antibodi terhadap HIV-1. Pasca infeksi 1 – 3 minggu kemudian ditemukan respon imun spesifik HIV berupa antibodi terhadap protein gp120 dan p24, juga ditemukan sel T sitotoksik yang HIV spesifik. Dalam 3 – 6 minggu pasca infeksi ditemukan kadar p24 dalam plasma yang tinggi. Dengan adanya respon imun tersebut, viremia menurun dan klinis tidak disertai dengan gejala. Fase ini kemudian dikontrol sel T CD8 dan antibodi dalam sirkulasi terhadap p24 dan protein envelop gp120 dan gp 41. Efikasi sel Tc dalam mengontrol virus terlihat dari menurunnya kadar virus, respon imun tersebut menghancurkan HIV dalam kelenjar getah bening yang merupakan reservoir utama HIV selama fase selanjutnya dan fase laten (Baratawidjaja K, Rengganis I, 2014; Grossman Z, et al, 2006).

Sel dendritik kemudian berperan dalam penyebaran HIV dalam jaringan limfoid, karena fungsi normal sel dendritik adalah menangkap antigen dalam epitel lalu masuk dalam kelenjar getah bening. Setelah berada dalam kelenjar getah bening, sel dendritik meneruskan virus kepada sel T melalui kontak antar sel. Kemudian dalam beberapa hari jumlah virus dalam kelenjar berlipat ganda dan menyebabkan viremia. HIV menyerang limfosit T karena terdapat reseptor CD4 pada permukaannya (Abbas, et al, 2012; Kwon et al, 2012). Selanjutnya HIV memasuki sitoplasma limfosit T-CD4 atas bantuan enzim *integrase* dan yang terinfeksi adalah bagian inti yaitu RNA (single-stranded RNA) dan akan berusaha menyesuaikan dengan konfigurasi *double stranded* DNA (Zheng Y, 2007). Terjadi penyatuan virion dengan DNA *polymerase*, terbentuklah cDNA. Selanjutnya terjadi rangkaian proses integrasi, transkripsi yang dilanjutkan dengan translasi protein virus, serta replikasi HIV virion (Nasronuddin, 2012).

Proliferasi antigen spesifik dari rangsangan limfosit T helper dan sitotoksik sangat tergantung pada ekspresi, sekresi dan ikatan IL2 dengan reseptor IL2, yang diinduksi autokrin pada permukaan sel T serta membantu ekspansi sel CD4+ dan CD8+ melawan superantigen in vivo, meningkatkan aktivitas sel NK dan menghambat *GM-CSF* (Grossman Z, et al, 2006).

Disfungsi imun akibat infeksi HIV kronis secara bertahap terjadi penurunan fungsi sel T efektor dengan adanya proliferasi dan hilangnya produksi IL2 yaitu kemampuan untuk mensekresikan sitokin proinflamasi, seperti IFN- γ (Shin H dan Wherry, 2007; Wherry et al, 2003).

Sindrom Imuno Defisiensi Akuisita (AIDS) adalah suatu penyakit yang dengan cepat telah menyebar ke seluruh dunia (pandemik). Sejak ditemukan kasus AIDS pertama di Indonesia tahun 1987, perkembangan jumlah kasus HIV / AIDS yang dilaporkan di Indonesia dari tahun ke tahun mengalami peningkatan. Sampai dengan tahun 1990 perkembangan kasus AIDS masih lambat, namun sejak tahun 1991 jumlah kasus AIDS lebih dua kali lipat dari tahun sebelumnya (Lee, et al, 2017).

Sekitar 10% sel-sel CD8 spesifik beredar dan selama tahap awal infeksi HIV. CTL mengendalikan infeksi di fase akut tapi pada akhirnya terbukti tidak efektif karena munculnya *mutan virus escape* yang mencegah sel terinfeksi untuk mengekspresikan MHC-1. Respon imun humoral diperantarai sel dan berinteraksi dengan antigen virus. Respon imun ini sebagian mengontrol infeksi dan produksi virus, dan kontrol tersebut terlihat oleh penurunan viremia pada tingkat rendah, namun terdeteksi sekitar 12 minggu setelah paparan utama (Abbas, et al, 2012).

Pada infeksi HIV terjadi respon imun humoral dan seluler terhadap produk gen HIV. Respon awal terhadap infeksi HIV dapat menghancurkan sebagian besar virus di dalam darah dan sel T yang bersirkulasi, namun respons imun ini gagal untuk menghilangkan semua virus, dan selanjutnya infeksi HIV mengalahkan sistem imun pada sebagian besar individu (Chrobak P, et al, 2014; Silbernagi Stefan, Lan Florian, 2012).

Sekitar 12 minggu setelah infeksi, virus dalam darah (plasma viremia) menurun sampai pada level yang sangat rendah (hanya terdeteksi oleh pemeriksaan *reverse transcriptase polymerase chain reaction*) dan bertahan sampai beberapa tahun. Sel T CD4 secara bertahap turun selama fase klinis laten karena replikasi virus yang aktif dan infeksi sel T dalam limfonodi (Chrobak P, et al, 2014). Pada saat CD4 menurun hingga 200/mm², resiko infeksi menjadi tinggi. Respon sel limfosit T sitolitik (*cytolytic T lymphocytes/CTL*) terdeteksi dalam 2 –

3 minggu setelah infeksi awal dan mencapai puncak dalam 9 – 12 minggu. Respon humoral mencapai puncak sekitar 12 minggu (Baratawidjaja K, Rengganis I, 2014).

Respon imun awal terhadap infeksi HIV mempunyai karakteristik ekspansi masif sel T sitotoksik CD8+ yang spesifik terhadap protein HIV. Respons antibodi terhadap berbagai antigen HIV dapat dideteksi dalam 6 – 9 minggu setelah infeksi, namun hanya sedikit bukti yang menunjukkan bahwa antibodi mempunyai efek bermanfaat untuk mengontrol infeksi. Respons antibodi meningkatkan pembentukan IgA dan IgG dan mempengaruhi fungsi neutrofil, akan tetapi respons antibodi terhadap HIV sangat lemah, hanya sebagian kecil antibodi yang dapat menetralisasi HIV karena itu HIV dapat melewati respons antibodi sehingga dapat tetap hidup dan menginfeksi sel lain. Koreseptor CXCR4 dan CCR5 merupakan reseptor kemokin dan ligan normalnya dapat menghambat infeksi HIV ke dalam sel. Dan efikasi sel Tc dalam mengontrol virus terlihat dari menurunnya kadar virus. Respon imun tersebut menghancurkan HIV dalam kelenjar getah bening yang merupakan reservoir utama HIV selama fase selanjutnya dan fase laten (Baratawidjaja K, Rengganis I, 2014).

Selama masa kronik, respons imun terhadap infeksi lain akan merangsang produksi HIV dan mempercepat destruksi sel T CD4 oleh virus HIV yang terus bereplikasi dan menginfeksi sel baru dalam kelenjar limfoid selama masa laten dan akan menurunkan jumlah sel T dalam darah tepi. Selanjutnya penyakit ini menjadi progresif kronik dan penderita menjadi rentan terhadap berbagai infeksi oleh kuman non patogenik mencapai fase letal yang disebut AIDS serta jumlah sel T dalam darah tepi menurun hingga di bawah $200/\text{mm}^2$ (Obirikorang C, 2012; Baratawidjaja K, Rengganis I, 2014).

2.1.2 KLASIFIKASI INFEKSI HIV

Infeksi HIV dapat diklasifikasikan secara imunologis, virologis dan secara klinis. Secara imunologis, berdasarkan Pusat Pengendalian dan Pencegahan Penyakit (CDC), klasifikasi infeksi HIV yang tidak diobati terbagi menjadi tiga stadium sebagai berikut:

- a. **Sindrom retroviral akut:** Ini adalah penyakit dengan gejala seperti mononukleosis. Ini sering berkembang dalam beberapa hari setelah terinfeksi HIV, tetapi juga dapat terjadi beberapa minggu setelah orang tersebut terinfeksi. Gejala dapat berkisar dari ringan hingga berat dan biasanya hilang dengan sendirinya setelah 2 hingga 3 minggu. Tetapi banyak orang tidak memiliki gejala atau mereka memiliki gejala ringan sehingga mereka tidak menyadarinya.
- b. **Stadium 1 (infeksi HIV):** Tidak ada kondisi terkait AIDS dan jumlah hitung CD4+ setidaknya 500 sel per mikroliter atau persentase sel CD4 + setidaknya 29% dari semua limfosit.
- c. **Stadium 2 (infeksi HIV):** Tidak ada kondisi terkait AIDS dan jumlah hitung CD4+ adalah 200 hingga 499 atau persentase sel CD4 + adalah 14% hingga 28% dari semua limfosit.
- d. **Stadium 3 (AIDS):** Jumlah hitung CD4 + lebih rendah dari 200, persentase sel CD4+ kurang dari 14% dari semua limfosit, atau ada kondisi terkait AIDS.

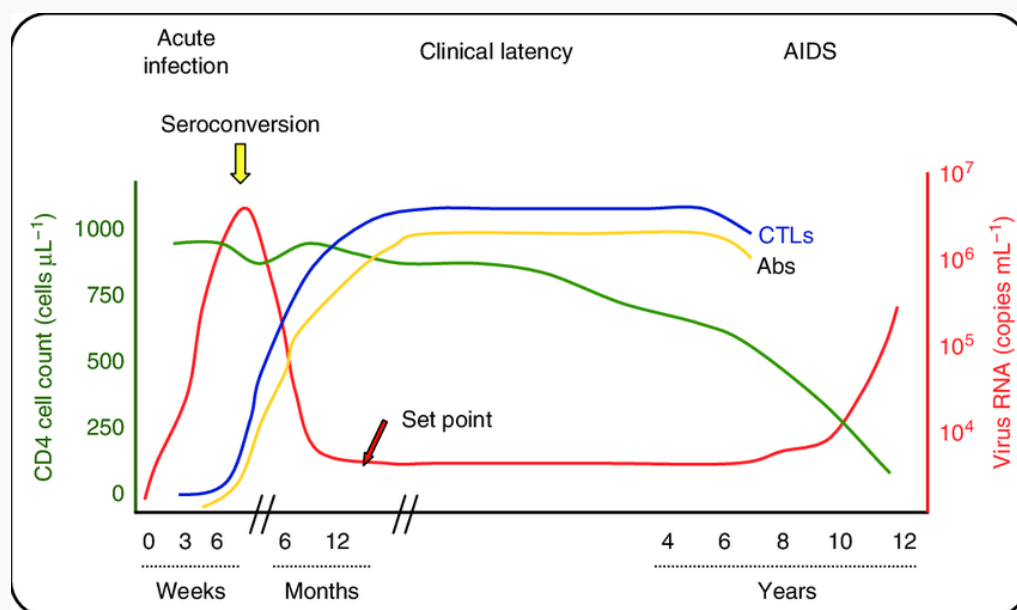
Organisasi Kesehatan Dunia (WHO) mengklasifikasikan infeksi HIV menjadi 4 stadium, yaitu:

- a. **Stadium 1 (infeksi HIV):** Jumlah hitung CD4 + setidaknya 500 sel per mikroliter.
- b. **Stadium 2 (infeksi HIV):** Jumlah hitung CD4+ adalah 350 hingga 499.
- c. **Stadium 3 (penyakit HIV lanjut, atau AHD):** Jumlah hitung CD4+ adalah 200 sampai 349.
- d. **Stadium 4 (AIDS):** Jumlah CD4+ kurang dari 200 atau persentase sel CD4 + kurang dari 15% dari semua limfosit.

Secara umum, semakin tinggi jumlah CD4+, semakin kecil kemungkinan penyakit oportunistik akan muncul. Sebagian besar penderita HIV yang tidak diobati mengalami penurunan jumlah sel CD4+ secara bertahap (Schneider, 2008).

Secara virologis, perjalanan khas infeksi HIV ditunjukkan pada Gambar 2. Kira-kira 3 minggu setelah pajanan awal, virus (sering $> 10^7$ kopi/mL) muncul dalam darah. Pada saat ini, respon imun adaptif awalnya terbukti yang bertepatan

dengan penurunan viral load sekitar 10 hingga 100 kali lipat. Setelah kira-kira 6 bulan, tingkat stabil virus yang ditularkan melalui darah adalah tercapai, yang dikenal sebagai titik set virus, yang berkorelasi baik dengan perkembangan penyakit selanjutnya. Populasi sel-T CD4+ kemudian perlahan-lahan menurun sampai replikasi virus tidak bisa lagi terbendung, viral load meningkat, dan ketika sel CD4 turun di bawah tingkat kritis, AIDS berkembang. Rata-rata, ini terjadi 8 – 10 tahun setelah infeksi primer (Kent, 2017).



Gambar 2. Perjalanan khas infeksi HIV (Kent, 2017).

Tes *viral load* HIV adalah tes yang digunakan untuk mengukur jumlah virus HIV di dalam darah, sedangkan jumlah virus HIV di dalam darah disebut *viral load*, yang dinyatakan dalam satuan kopi per mililiter (mL) darah. Dengan mengukur HIV RNA di dalam darah dapat secara langsung mengukur besarnya replikasi virus. Untuk melakukan replikasi, virus membutuhkan RNA sebagai "cetakan" atau "*blue print*" agar dapat menghasilkan virus baru. Tiap virus HIV membawa dua kopi RNA. Ini artinya jika pada hasil tes didapatkan jumlah HIV RNA sebesar 20.000 kopi per mL maka berarti di dalam tiap mililiter darah terdapat 10.000 partikel virus (Astari et al, 2009).

Pemeriksaan *viral load* HIV juga sering digunakan untuk menentukan efektivitas relatif dari obat antiretroviral pada beberapa uji klinis. Nilai *baseline*

viral load dapat diperoleh dengan cara menghitung rata-rata hasil dua tes *viral load* yang dilakukan dalam rentang waktu 2–4 minggu. Hasil pemeriksaan *viral load* dikatakan mengalami perubahan bermakna jika didapatkan penurunan atau peningkatan *viral load* sebanyak tiga kali lipat atau lebih dari hasil tes yang sebelumnya (Astari et al, 2009).

Untuk kepentingan klinis, khususnya yang berkaitan dengan inisiatif pengobatan dan memperkirakan prognosis, klasifikasi yang lebih memadai dengan memakai hitungan sel CD4 karena perkembangan jumlah sel CD4 dalam darah sangat berkaitan dengan status imunitas penderita (Daili, 2005).

- Infeksi Akut (CD4 750 – 1000)

Gejala infeksi akut biasanya timbul setelah masa inkubasi 1 – 3 bulan. Gejala yang timbul umumnya seperti influenza (*flu-like syndrome*: demam, artralgia, malaise, anoreksia), gejala kulit (bercak-bercak merah, *urtikaria*), gejala saraf (sakit kepala, nyeri *retrobulber*, *radikulopati*, gangguan kognitif dan afektif), gangguan gastrointestinal (nausea, vomitus, diare, kandidiasis orofaringitis). Pada fase ini penyakit tersebut sangat menular karena terjadi viremia. Gejala tersebut, merupakan reaksi tubuh terhadap masuknya virus dan berlangsung kira-kira 1 – 2 minggu. Serokonversi terjadi pada fase ini dan antibodi virus mulai dapat dideteksi kira-kira 3 – 6 bulan sesudah infeksi.

- Infeksi Kronis Asimtomatik (CD4 > 500/ml)

Setelah infeksi akut berlalu maka selama bertahun-tahun kemudian, umumnya sekitar 5 tahun, keadaan penderita tampak baik saja, meskipun sebenarnya terjadi replikasi virus secara lambat di dalam tubuh. Beberapa penderita mengalami pembengkakan kelenjar limfe menyeluruh, disebut *limfadenopati generalisata persisten* (LGP), meskipun ini bukanlah hal yang bersifat prognostic dan tidak berpengaruh bagi hidup penderita. Namun mulai terjadi penurunan jumlah sel CD4 sebagai petunjuk menurunnya kekebalan tubuh penderita, tetapi masih berada pada tingkat 500/ml.

- Infeksi Kronis Simtomatik

Fase ini dimulai rata-rata setelah 5 tahun terkena infeksi HIV. Berbagai gejala penyakit ringan atau lebih berat timbul pada fase ini, tergantung pada tingkat imunitas penderita.

1. Penurunan Imunitas Sedang (CD4 200 – 500)

Pada awal sub-fase ini timbul penyakit-penyakit yang lebih ringan misalnya reaktivasi dari *herpes zoster* atau *herpes simpleks*, namun dapat sembuh spontan atau hanya dengan pengobatan biasa. Penyakit kulit seperti *dermatitis seboroik*, *veruka vulgaris*, *moluskum kontangiosum* atau *kandidiasis oral* sering timbul. Keadaan yang disebut AIDS dapat terjadi pada sub-fase ini, misalnya bila sudah ditemukan *sarcoma Kaposi*, *limfoma non-Hodgkin* dan lainnya. ARC (*AIDS related complex*) adalah keadaan yang ditandai oleh paling sedikit dua dari gejala-gejala berikut yaitu demam yang berlangsung >3 bulan, diare, kelelahan, dan keringat malam dengan ditambah paling sedikit dua kelainan laboratorium seperti $T4 < 400/\text{ml}$, $\text{ratio } T4/T8 < 1.0$, leukotrombositopenia, dan anemia, peningkatan serum immunoglobulin, penurunan blastogenesis sel limfosit, tes kulit anergi.

2. Penurunan Imunitas Berat (CD4 < 200)

Pada sub-fase ini terjadi infeksi oportunistik berat yang sering mengancam jiwa penderita, seperti *Pneumocystitis carinii* (PCP), *toksoplasma*, *cryptococcosis*, *tuberculosis*, *CMV*, dan lainnya. Viremia terjadi lagi untuk yang kedua kalinya dan boleh dikatakan tubuh sudah dalam keadaan kehilangan kekebalannya, dapat dilihat infeksi oportunistik, keganasan atau keadaan lain yang sudah menunjukkan keadaan AIDS (Daili, 2005).

Target utama HIV adalah sel yang mengekspresikan molekul reseptor membran CD4⁺, terutama sel limfosit T (Shandu & Samra, 2013). Infeksi HIV menimbulkan disfungsi imun melalui penurunan sel T CD4⁺ (imunodefisiensi) dan aktivasi imun (imunosupresi) yang meliputi respon imun spesifik HIV dan

aktivasi imun terhadap sel sekitar (*bystander*) (International AIDS Society USA, 2010). Limfosit T CD4⁺ berperan penting dalam pengaturan respon imun terhadap patogen dengan menjalankan berbagai fungsi, antara lain aktivasi sel pada sistem imun bawaan (limfosit B, sel T sitotoksik dan sel nonimun), serta berperan dalam supresi reaksi imun (Luckheeram et al, 2012). Rendahnya jumlah limfosit T CD4⁺ akan menurunkan sistem imun melawan patogen sehingga penderita menjadi rentan terhadap IO.

Jumlah limfosit T CD4⁺ pada orang normal adalah 500-1600 sel/ μ L darah. Jumlah ini secara bertahap akan berkurang seiring dengan perkembangan infeksi HIV dan menyebabkan penderita menjadi rentan terhadap IO (Shandu & Samra, 2013). Jumlah limfosit T CD4⁺ merupakan indikator terbaik dalam menentukan kerentanan terhadap IO sehingga menjadi panduan dalam pemberian kemoprofilaksis (Kaplan & Masur, 2008). Penderita dengan jumlah limfosit T CD4⁺ yang telah mencapai 200 sel/ μ L hampir seluruhnya telah terinfeksi IO dan bermanifestasi sebagai AIDS. Periode rata-rata mulai dari infeksi HIV hingga mencapai AIDS adalah 8-10 tahun dengan penurunan limfosit T CD4⁺ sekitar 50-100 sel/ μ L pertahunnya. Jumlah limfosit T CD4⁺ yang telah turun di bawah 50 sel/ μ L merupakan kondisi yang mengancam jiwa dan pasien umumnya akan mengalami kematian (Shandu & Samra, 2013).

Hubungan antara IO dan HIV bersifat dua arah atau timbal balik. Infeksi HIV menyebabkan immunosupresi yang memberikan kesempatan bagi patogen oportunistik untuk menyebabkan penyakit, sebaliknya IO juga dapat mengubah perjalanan alami HIV melalui peningkatan *viral load* sehingga mempercepat perkembangan serta meningkatkan transmisi HIV. Pemberian ART dapat menurunkan risiko IO, dan sebaliknya pemberian kemoprofilaksis dan vaksinasi spesifik IO dapat membantu menurunkan kecepatan perkembangan HIV dan meningkatkan angka harapan hidup (Masur & Read, 2015)

2.1.3 PEMERIKSAAN HIV

Pemeriksaan laboratorium HIV sesuai dengan panduan nasional yang berlaku dengan selalu didahului dengan konseling pra tes atau informasi singkat.

Pada orang dewasa yang sehat, jumlah sel limfosit CD4+ berkisar antara 600 – 1200 sel/ μ l (mm^3) darah (Lan, 2012).

WHO telah menetapkan diagnosis infeksi HIV dengan beberapa metode yang dapat dilakukan seperti pemeriksaan dengan sistem *Enzyme Immuno Assay*, pemeriksaan *Western Blot*, *Rapid test*, *OraQuick Rapid HIV-1/HIV-2 Antibody test*, *Polymerase Chain Reaction* dan *Enzyme Reverse Transcriptase – Polimerase Chain Reaction* (Yoveline, et al, 2008; Sato, et al, 1994).

1. Pemeriksaan dengan sistem *Enzyme Immuno Assay*

Diagnosis infeksi HIV dapat dilakukan dengan deteksi antibodi melalui pemeriksaan serologi dengan metode ELISA dan *Rapid*, sedangkan metode *western blot* digunakan untuk memastikan hasil pemeriksaan penyaring. Antibodi terbentuk 3 – 6 bulan sesudah infeksi HIV dan antibodi anti HIV-1 paling banyak ditemukan (Constantine, 2007). Pemeriksaan *Enzyme Immuno Assay* (EIA) mempunyai sensitivitas yang tinggi dan paling banyak digunakan untuk mendeteksi antibodi. Umumnya EIA mendeteksi antibodi terhadap protein p6 dan gp41 yang merupakan bagian virus HIV (Khurana, et al, 2010).

2. Pemeriksaan *Western Blot*

Prinsip pemeriksaan *Western Blot* adalah reaksi antara antibodi anti HIV dengan antigen HIV. Cara pengerjaannya protein yang berasal dari virus HIV didenaturasi dan selanjutnya dipisahkan dengan metode elektroforesis dengan menggunakan *sodium dodecyl sulfate polycrylamide gel* (SDS-PAGE). Selanjutnya dari gel, protein ditransfer ke membran nitroselulose dan direaksikan dengan serum pasien, kemudian dilakukan visualisasi hingga hasil *Western Blot* terlihat sebagai pita. Hasil dinyatakan positif bila terdapat sekurang-kurangnya dua dari antigen seperti inti (Gag) protein (p24), (env) glikoprotein (gp41) atau gp 120/160, sedangkan hasilnya negatif jika tidak ditemukan pita (Guan M, 2007).

Intensitas dan proteksi sel T CD4 pada imunitas menurun dengan sel anti dendritik HIV gag bersatu dengan vaksin antibodi. Alat pengembangan vaksin protein digunakan untuk mematangkan proses

pematangan sel dendritik pada jaringan limfoid oleh antigen protein yang akan diubah menjadi suatu antibodi. Antibodi ini bc205 yang merupakan reseptor untuk menggambarkan antigen sehingga kami mengkarakteristikan respon imun sel T CD4 untuk HIV gag. Bc205 merupakan target HI gag pada p24 atau p41 (Cristine et al, 2006).

3. Rapid test

Dasar rapid test adalah imunokromatografi untuk mendeteksi antibodi HIV-1 dan antibodi HIV-2 secara kualitatif. Hasilnya dapat dibaca dalam waktu kurang dari 30 menit. Karena itu rapid test sangat berguna untuk membantu menetapkan status medis pada orang yang diduga terinfeksi HIV sehingga dapat mengurangi penularan infeksi karena hasil pemeriksaan diperoleh dalam waktu singkat dan pasien dapat segera ditangani (Branson, 2005).

4. OraQuick Rapid HIV-1/HIV-2 Antibodi Test

Pada pemeriksaan OraQuick Rapid HIV-1/HIV-2 Antibodi Test darah dimasukkan ke dalam tabung pengencer yang mengandung 1 ml larutan buffer lalu dikocok hingga merata, kemudian dimasukkan alat penguji (strip/carik celup) ke dalam tabung pengencer tersebut. Antibodi anti HIV pada sampel akan mengikat reagen protein A koloid emas. Kompleks antibodi HIV-protein koloid emas akan bereaksi dengan antigen di membran nitroselulosa yang mengandung peptida sintetik gp41 (HIV-1) dan gp36 (HIV-2) yang sesuai dengan goal anti-human IgG akan membentuk warna merah di area kontrol menandakan hasil yang reaktif, dan hasil dibaca dalam waktu 20 – 40 menit. Bila pembacaan kurang dari 20 menit (terhitung mulai carik celup dimasukkan ke dalam tabung pengencer) kemungkinan akan menghasilkan negatif palsu. Sebaliknya bila pembacaan hasil lebih dari 40 menit akan memberikan hasil positif palsu. Bila tidak timbul warna merah maka dapat disebut hasil non reaktif. Antibodi HIV-1 dan antibodi HIV-2 tidak dapat dibedakan dengan pemeriksaan ini (Pesce, et al, 2006; Zhang, et al, 2008).

Tabel 1. Kit untuk pemeriksaan antibodi HIV yang disetujui *Us Food and Drug Administration* (FDA) (Greenwald, et al, 2006)

| Rapid HIV test | Jenis spesimen | Sensifitas | Spesifitas |
|-------------------------------------|---|-------------------|--------------------|
| OraQuick Advance | Oral fluid | 99,3% (98,4-99,7) | 100 % (99,7-100) |
| | Whole blood (fingerstick or venipuncture) | 99,6% (98,5-99,9) | 99,9% (99,6-99,9) |
| | Plasma | 99,6% (98,999,8) | 99,1% (98,8-99,4) |
| Rapid Reveal G2 | Serum | 99,8 % (99,5-100) | 99,1% (98,8-99,4) |
| | Plasma | 99,8 % (99,5-100) | 99,7% (99,0-100) |
| Rapid HIV-1 antibodi test uni-gold | Whole blood (fingerstick) | 100 % (99,5-100) | |
| Recombigen or venipuncture HIV test | Serum | 100% (99,94-100) | 99,93% (99,79-100) |
| Multispot HIV-1/HIV-2 Rapid test | Plasma | 100% (99,94-100) | 99,9% (99,7-100) |

5. *Polymerase Chain Reaction*

Polymerase Chain Reaction merupakan suatu metode enzimatik untuk amplifikasi DNA. Ada tiga tahapan penting dalam proses PCR yang selalu terulang dalam 30 – 40 siklus dan berlangsung dengan cepat yaitu denaturasi, *annealing*, dan pemanjangan untai DNA (Nurkolis, et al, 2016). Produk PCR dapat diidentifikasi melalui ukurannya dengan menggunakan elektroforesis gel agarosa. Keunggulan PCR dikatakan sangat tinggi. Hal ini didasarkan atas spesifitas, efisiensi dan keakuratannya (Zuhriana, 2010).

Diagnosis infeksi HIV selain deteksi antibodi juga dikembangkan deteksi antigen diantaranya dengan mengukur viral load memakai metode PCR untuk mendeteksi asam nukleat virus HIV. Alat ukur PCR yang tepat dan mudah untuk kuantitas RNA virus imunodefisiensi pada manusia yang

mengalami infeksi akut retroviral. Untuk mengukur *reverse transcriptase*, PCR model konvensional melibatkan beberapa proses tahapan (reaksinya terjadi dalam penggunaan alat ini menggunakan *single tube, single buffer solution* tanpa dipengaruhi siklus suhu. Urasil-N-glycosilase dicampurkan menjadi satu reaksi untuk membawa DNA dari proses amplifikasi tanpa kuantitasi, standar kuantitas digabungkan pada beberapa reaksi campuran lalu dibedakan efisiensi amplifikasi yang disebabkan oleh interferen simple, variabilitas pada kondisi reaksi atau suhu) menggunakan 2 enzim dan metode ini menggambarkan single enzim, rTh DNA polymerase (Mulder, et al, 1994).

6. Pengukuran HIV RNA dengan PCR (RT-PCR)

Teknik PCR dapat dimodifikasi ke dalam beberapa jenis diantaranya PCR-RFLP, PCR-RAPD, *nested-PCR*, *quantitative-PCR*, RT-PCR, dan *inverse-PCR*. Pemeriksaan yang memiliki sensitifitas tinggi adalah amplifikasi asam nukleat RNA HIV dalam plasma dengan cara PCR (Trumpfheller C, et al, 2006). Pemeriksaan tersebut didasarkan pada amplifikasi target menggunakan enzim *reverse transcriptase-polymerase chain reaction* (RT-PCR) yang merubah RNA menjadi cDNA. Dengan metode ultra sensitive tersebut dapat dideteksi RNA HIV antara 50–70.000 kopi/ml. metode ini digunakan untuk amplifikasi, isolasi, atau identifikasi sekuen dari sel atau jaringan RNA, mencakup pemetaan, menggambarkan kapan dan dimana gen diekspresikan (Zuhriana, 2010).

Penelitian terbaru dilaporkan mengenai alat ukur jumlah *copy* RNA di HIV-1 menunjukkan hasil bahwa untuk melihat kadar plasma pada beberapa pasien menggunakan alat ukur yaitu 292 pasien untuk *abbott real time HIV-1 assay*, 253 pasien untuk *roche amplicor HIV-1 monitor test*, 122 pasien untuk tes v1.5 *Ultra sensitive assay*. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemeriksaan dengan menggunakan alat ukur *abbott real time HIV-1 assay* dapat digunakan secara terus menerus karena dapat memperlihatkan gambaran interpretasi yang baru dibandingkan dengan

roche amplicor HIV-1 monitor test dan test v1.5 ultra sensitive assay
(Cristop Stephan, et al, 2014).

2.1.4 TERAPI ANTIRETROVIRAL (ARV) PADA HIV

Stadium klinis berguna untuk penilaian awal (pada diagnosis pertama infeksi HIV) atau saat masuk ke dalam perawatan HIV jangka panjang dan dalam tindak lanjut pasien dalam program perawatan dan pengobatan. Stadium klinis dapat digunakan untuk panduan pengambilan keputusan mengenai kapan memulai profilaksis kotrimoksazol dan intervensi terkait HIV lainnya, termasuk kapan memulai terapi antiretroviral. Stadium klinis telah terbukti terkait dengan kelangsungan hidup (*survival*), prognosis dan perkembangan penyakit klinis tanpa terapi antiretroviral (WHO, 2007).

Pengobatan dengan rejimen terapi antiretroviral (ARV) yang poten dan efektif dapat memperbaiki dan meningkatkan stadium klinis sesuai dengan pemulihan imunitas dan penekanan viral load. Stadium klinis setelah pasien menerima terapi antiretroviral selama lebih dari 24 minggu dapat digunakan sebagai panduan untuk pengambilan keputusan, terutama bila jumlah sel CD4 tidak tersedia. Diasumsikan bahwa stadium klinis tetap signifikan di antara pasien-pasien yang menerima ART, baik pada anak-anak maupun pada orang dewasa sebelum memulai terapi ARV. Dalam 24 minggu pertama memulai rejimen terapi antiretroviral, sebagian besar gejala klinis muncul karena pemulihan imunitas (atau toksisitas terapi antiretroviral), namun setelah 24 minggu, gejala klinis biasanya menunjukkan penurunan imunitas. Pemantauan perkembangan penyakit dan respons terhadap terapi dengan stadium klinis sangat perlu dilakukan divalidasi (WHO, 2007).

ARV diindikasikan pada semua ODHA berapapun jumlah CD4-nya. Selama ini pemberian ARV seringkali dianggap sebagai pengobatan yang tidak harus dilakukan segera. Telaah sistematik menunjukkan bahwa sekitar 20 – 30 % pasien yang mempunyai indikasi memulai ARV ternyata terlambat atau bahkan tidak memulai terapi ARV. Proses yang panjang dan rumit, waktu tunggu yang lama, dan kunjungan klinik berulang sebelum

memulai ARV, merupakan alasan utama dari keterlambatan atau keputusan untuk tidak memulai ARV (Kemenkes, 2019).

Sebelum memutuskan untuk memulai ARV, kesiapan ODHA harus selalu dipastikan. Bukti yang ada menunjukkan bahwa memastikan kepatuhan yang baik sejak fase awal pengobatan ARV sangat penting untuk menentukan keberhasilan terapi jangka panjang. Berbagai studi menunjukkan pada daerah dengan sumber daya terbatas, faktor utama yang berpengaruh pada kepatuhan terapi adalah kesiapan memulai ARV selain obat gratis dan kemudahan menggunakan ARV. Beberapa ODHA tidak mempunyai akses untuk pengetahuan tentang HIV yang akurat, efektivitas terapi ARV, dan berbagai tantangan yang akan dihadapi supaya tetap patuh pada pengobatan. Karena itu, diperlukan konseling untuk memastikan pengetahuan ODHA tentang ARV, termasuk penggunaan seumur hidup, efek samping yang mungkin terjadi, bagaimana memonitor ARV, dan kemungkinan terapi selanjutnya jika terjadi kegagalan, pada saat sebelum memulai terapi ARV dan saat diperlukan obat tambahan sesudah memulai ARV (Kemenkes, 2019).

Tanpa terapi ARV, sebagian besar ODHA akan menuju imunodefisiensi secara progresif yang ditandai dengan menurunnya kadar CD4, kemudian berlanjut hingga kondisi AIDS dan dapat berakhir kematian. Tujuan utama pemberian ARV adalah untuk mencegah morbiditas dan mortalitas yang berhubungan dengan HIV. Tujuan ini dapat dicapai melalui pemberian terapi ARV yang efektif sehingga kadar *viral load* tidak terdeteksi. Lamanya supresi virus HIV dapat meningkatkan fungsi imun dan kualitas hidup secara keseluruhan, menurunkan risiko komplikasi AIDS dan non AIDS dan memperpanjang kesintasan. Tujuan kedua dari pemberian terapi ARV adalah untuk mengurangi risiko penularan HIV (Kemenkes, 2019).

Inisiasi ARV dini terbukti berguna untuk pencegahan, bermanfaat secara klinis, meningkatkan harapan hidup, dan menurunkan insidens infeksi terkait HIV dalam populasi. Pemulihan kadar CD4 berhubungan langsung dengan kadar CD4 saat memulai ARV. Sebagian besar individu yang memulai terapi pada saat kadar CD4 <350 sel/ μ L tidak pernah mencapai kadar CD4 >500 sel/ μ L setelah pengobatan ARV selama 6 tahun. Orang dengan HIV AIDS yang memulai terapi

ARV pada nilai CD4 <350 sel/ μ L mempunyai harapan hidup yang lebih pendek dibandingkan dengan orang yang memulai pada nilai CD4 yang lebih tinggi (Kemenkes, 2019).

Paduan ARV lini pertama harus terdiri dari dua *nucleoside reverse-transcriptase inhibitors* (NRTI) ditambah *non-nucleoside reverse-transcriptase inhibitor* (NNRTI) atau *protease inhibitor* (PI). Pilihan paduan ARV lini pertama berikut ini berlaku pada pasien yang belum pernah mendapatkan ARV sebelumnya (naif ARV). Sedangkan bagi pasien lama yang sedang dalam pengobatan ARV, tetap menggunakan panduan yang sebelumnya (Kemenkes, 2019).

World Health Organization mendorong penggunaan terapi ARV yang mempunyai sedikit efek samping, lebih nyaman, dan paduan yang lebih sederhana. Terapi ARV pilihan juga harus dapat digunakan bersama obat yang digunakan untuk berbagai ko-infeksi dan komorbiditas yang umumnya ditemukan pada ODHA. Berdasarkan telaah sistematis, kombinasi dosis tetap sekali sehari **TDF+3TC(atau FTC)+EFV** lebih jarang menimbulkan efek samping berat, menunjukkan respons terapi dan virologis yang lebih baik dibandingkan dengan NNRTI sekali atau dua kali sehari atau paduan yang mengandung *protease inhibitor* (PI) (Kemenkes, 2019).

EFV juga merupakan pilihan ARV jika digunakan bersamaan dengan rifampisin pada ko-infeksi TB, dan dapat digunakan pada ibu hamil atau perempuan usia subur. Meta-analisis dan beberapa laporan studi sesudahnya yang membandingkan penggunaan EFV dengan obat ARV lain pada trimester pertama kehamilan menunjukkan EFV tidak meningkatkan risiko kelainan kongenital seperti *neural tube defect* pada bayi. Demikian juga dengan penggunaan TDF. Kombinasi dosis tetap yang tersedia di Indonesia adalah **TDF+3TC+EFV**, sehingga kombinasi ini yang menjadi pilihan utama paduan ARV lini pertama di Indonesia (Kemenkes, 2019). Panduan ARV lini pertama ditunjukkan pada Tabel 2 sebagai berikut.

Tabel 2. ARV Lini Pertama (Kemenkes, 2019)

| |
|---|
| <p>Paduan terapi ARV lini pertama pada orang dewasa, termasuk ibu hamil dan menyusui, terdiri atas 3 paduan ARV. Paduan tersebut harus terdiri dari 2 obat kelompok NRTI + 1 obat kelompok NNRTI:</p> <ul style="list-style-type: none"> • TDF+3TC(atau FTC)+EFV dalam bentuk kombinasi dosis tetap merupakan pilihan paduan terapi ARV lini pertama. • Jika TDF+3TC(atau FTC)+EFV dikontraindikasikan atau tidak tersedia, pilihannya adalah: <ul style="list-style-type: none"> a. AZT+3TC+EFV b. AZT+3TC+NVP c. TDF+3TC(atau FTC)+NVP • TDF+3TC(atau FTC)+EFV dapat digunakan sebagai alternatif paduan terapi ARV lini pertama. |
|---|

2.1.5 Efek Anti Retroviral (ARV) dan Vitamin D/VDR pada Infeksi HIV

Keterkaitan antara penggunaan Efavirenz dan penurunan kadar 25(OH)D telah diteliti pada berbagai penelitian cross sectional dalam jumlah besar (Mueller, 2010; Welz, 2010) dan dikatakan efeknya berbeda berdasarkan ras (Van Den Bout-Van Den Beukel et al., 2008). Efavirenz merupakan golongan NNRTI yang meningkatkan aktivitas enzim 24-hidroksilase atau CYP450 (CYP24A1) sehingga menghambat efek 1 α -hidroksilase atau CYP27B1 yang menyebabkan peningkatan katabolisme 25(OH)D dan 1,25(OH)D₃ menjadi bentuk inaktif 24,25(OH)₂D yang diekskresikan di urin (Overton & Yin, 2011; Van Den Bout-Van Den Beukel et al., 2008; Vescini et al., 2011; Welz et al., 2010). Golongan NNRTI lainnya adalah Nevirapin diketahui mempunyai efek minimal bahkan tidak berpengaruh pada kadar vitamin D jika dibandingkan dengan Efavirenz (Orkin, 2014).

Protease Inhibitor (PI) menghambat aktivitas 2 enzim utama pada metabolisme vitamin D yaitu 25-hidroksilase dan 1 α -hidroksilase, secara reversible dan *dose-dependent*. Hal ini menyebabkan penurunan produksi vitamin

D aktif ($1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$) (Poowuttikul, 2013). Salah satu jenis protease inhibitor yaitu Ritonavir mempunyai efek terhadap $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ pada penelitian *in vitro*, meskipun konsentrasi Ritonavir yang digunakan pada penelitian tersebut ($15 \mu\text{M}$) lebih tinggi dibandingkan kadar Ritonavir yang terdeteksi dalam serum ketika digunakan sebagai kombinasi pada protease inhibitor lainnya (Fakruddin & Lawrence, 2003).

Tenofovir yang merupakan golongan NRTI diketahui tidak memiliki efek langsung pada metabolisme vitamin D. Tenofovir (TDF) dapat meningkatkan kadar hormon paratiroid (PTH) serum. Menurut Yin et al (2011), Tenofovir dapat menginduksi tubulus renal proksimal yang mungkin dapat mengurangi kapasitas 1α -hidroksilase di ginjal sehingga dapat menyebabkan akumulasi $25(\text{OH})\text{D}$. Namun tidak ada bukti keterkaitan antara penggunaan Tenofovir dan insufisiensi renal maupun kadar $1,25(\text{OH})\text{D}$. Kombinasi Tenofovir dan protease inhibitor lebih mungkin menyebabkan disregulasi metabolisme mineral daripada penurunan kadar $25(\text{OH})\text{D}$ (Yin et al, 2011). Defisiensi vitamin D bersamaan dengan PTH yang tinggi dapat berimplikasi pada penurunan densitas tulang pada penderita HIV dalam terapi ARV (Tafazoli & Khalili, 2013). NRTI lainnya tampaknya tidak berkaitan dengan defisiensi vitamin D (Orkin, 2014).

Penelitian kohort di Italia dengan jumlah sampel besar melaporkan prevalensi defisiensi vitamin D yang lebih tinggi di kalangan pengguna NNRTI dibandingkan dengan Protease Inhibitor. Secara keseluruhan dilaporkan prevalensi defisiensi vitamin D yang lebih tinggi pada penderita HIV dibandingkan populasi umum. Pada penelitian tersebut melaporkan bahwa gangguan metabolisme vitamin D disebabkan oleh virus HIV dan/atau penggunaan dari ARV (Vescini et al, 2011).

Pasien yang diterapi dengan kombinasi dua atau tiga NNRTI memiliki kadar vitamin D yang rendah secara bermakna dibandingkan yang diterapi dengan kombinasi NNRTI dan Protease Inhibitor (Theodorou et al, 2013). Penelitian yang dilakukan Brown dan McComsey menemukan bahwa dalam 1 tahun inisiasi ARV didapatkan penurunan bermakna terhadap kadar vitamin D serum pasien yang

menggunakan Efavirenz dibandingkan dengan yang tidak menggunakan Efavirenz (paling sering Protease Inhibitor).

Mekanisme yang terkait infeksi HIV menyebabkan inflamasi kronik dan aktivasi imun (Mansueto, 2015). Adanya Inflamasi kronik dapat mengganggu kadar 1α -hidroksilase di ginjal yang menyebabkan penurunan produksi $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ dengan penghambatan konversi $25(\text{OH})\text{D}$ menjadi $1,25(\text{OH})_2\text{D}$. Protease inhibitor dan NNRTI tampaknya memiliki efek pada jalur metabolik vitamin D. NNRTI meningkatkan katabolisme $25(\text{OH})\text{D}$ (Overton & Yin, 2011; Van Den Bout-Van Den Beukel et al., 2008; Vescini et al., 2011; Welz et al., 2010).

2.2 VITAMIN D

2.2.1 Sumber Vitamin D

Sumber utama vitamin D dalam tubuh adalah dari kulit. Kulit mampu mensintesis vitamin D sendiri. Kulit mengandung 7-Dehidrokolestrol yang jika terpajan sinar UVB akan mengalami reaksi enzimatik dan menghasilkan pro-vitamin D. Pro vitamin D tersebut akan diproses oleh tubuh menjadi bentuk aktif vitamin D dan selanjutnya digunakan sesuai fungsinya.

Vitamin D juga dapat diperoleh dari beberapa makanan, meskipun perolehan vitamin D dari sintesisnya di kulit masih jauh lebih banyak daripada vitamin D yang dapat diperoleh dari makanan. Berjemur selama 30 menit dibawah sinar matahari dapat memproduksi sekitar 20.000 IU vitamin D, yang setara dengan 200 gelas susu (100IU/8 oz) atau 50 tablet multivitamin (400 IU/tablets). Menurut *Associations of UK Dietitians*, Sumber utama vitamin D pada makanan antara lain ikan salmon, ikan lele, ikan *trout*, *cod liver oil*, telur, dan susu yang diperkaya vitamin D.

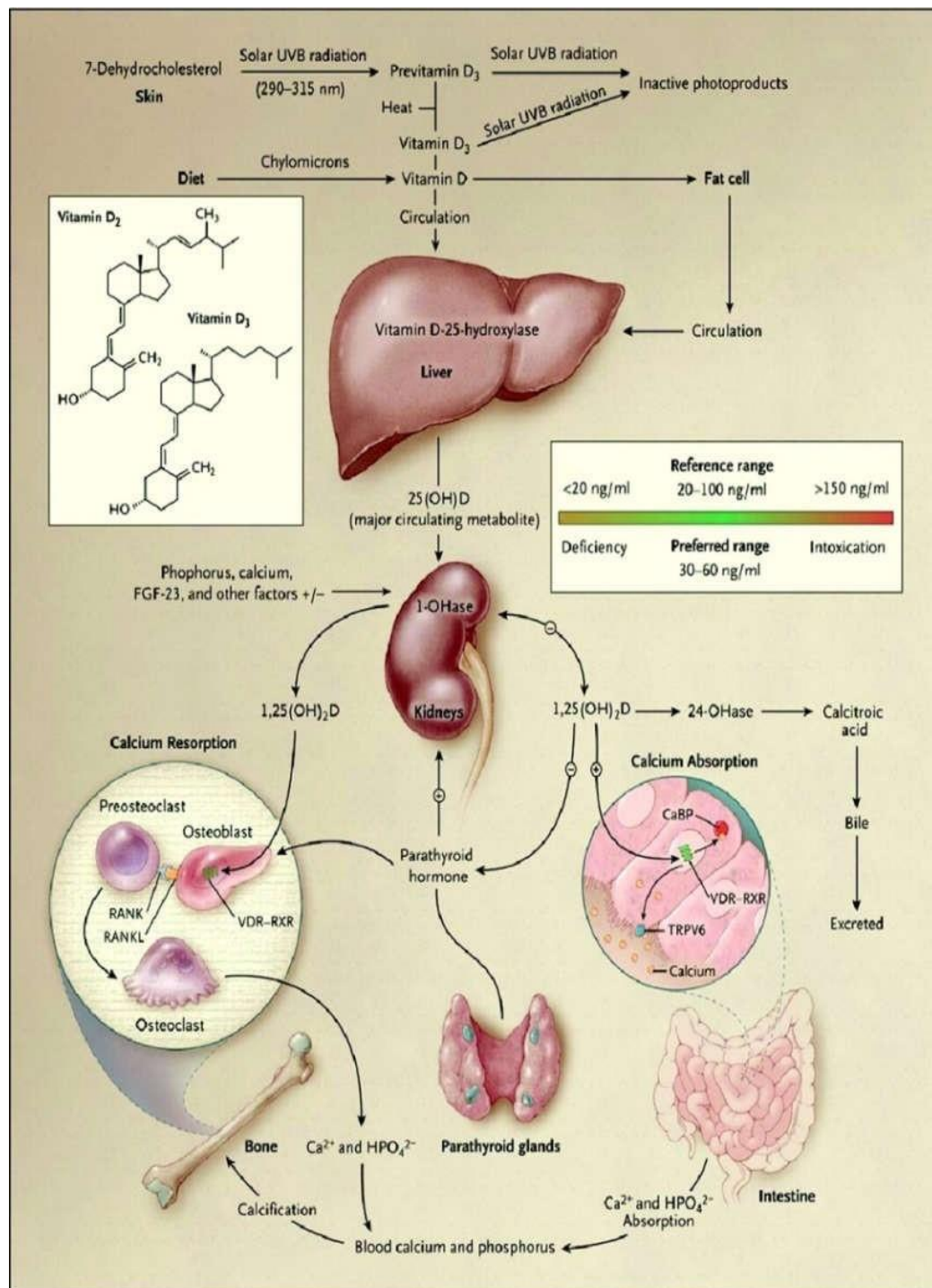
22.2 Metabolisme Vitamin D

Vitamin D adalah steroid larut lemak yang disintesis dari prekursor kolesterol (7-dehydrokolesterol), memiliki struktur kimia secosteroid. Bentuk terbesar vitamin D yang penting pada manusia adalah vitamin D_2 atau

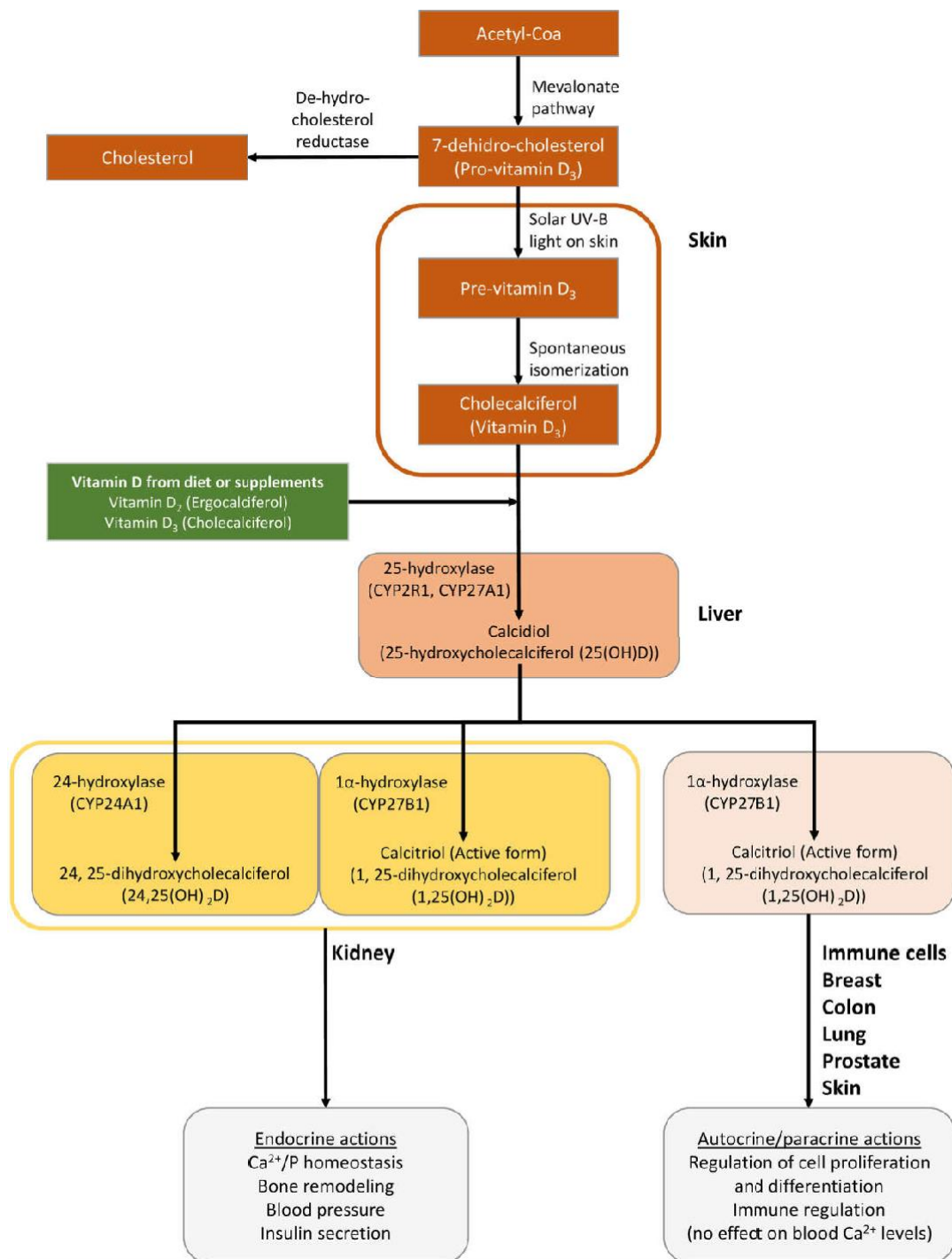
ergocalciferol, yang disintesis dari ergosterol tanaman dan vitamin D₃ atau cholecalciferol yang disintesis secara alami dari kolesterol hewan (vitamin D₃). Vitamin D dapat bersumber dari makanan dan produk-produk suplemen vitamin D, selain sumber-sumber lainnya. Bagaimanapun, sumber utama vitamin D pada tubuh manusia adalah sintesisnya di kulit.

Kulit mengandung suatu zat perantara dalam sintesis kolesterol yang disebut 7-Dehidrokolesterol. Dengan pajanan sinar UVB, zat ini akan mengalami reaksi enzimatik dan akhirnya dihasilkan pro-vitamin D. Pajanan lebih lanjut dapat mengubah pro-vitamin D menjadi bentuk inaktif. Selain menjadi inaktif, terjadi juga perubahan menjadi vitamin D₃ atau kolekalsiferol. Kolekalsiferol akan masuk sirkulasi dan akhirnya sampai ke hati untuk proses hidroksilasi pertama. Di hati, kolekalsiferol berubah menjadi 25(OH)D atau kalsidiol. Selanjutnya kalsidiol akan kembali masuk peredaran. Di ginjal, Kalsidiol mengalami hidroksilasi kedua menjadi bentuk aktifnya yaitu 1,25(OH)₂D atau kalsitriol oleh enzim *1-alfahidroksilase*. 1,25(OH)₂D selanjutnya akan meningkatkan absorpsi kalsium di usus serta meningkatkan ekspresi proteoblast menjadi osteoclast pada tulang.

Proses ini meningkatkan jumlah kalsium yang beredar di darah. Jika jumlah kalsium pada darah mencapai jumlah yang adekuat, akan terjadi *negative feedback*, dimana kadar 1,25(OH)₂D akan berkurang, menyebabkan pengurangan sekresi hormon paratiroid, sehingga mengurangi ekspresi enzim 1-alfahidroksilasi di ginjal. 1,25(OH)₂D di darah juga dikurangi dengan adanya peningkatan ekspresi enzim 24-OHase yang mengubah bentuk aktif vitamin D ini menjadi *calcitriol acid*. *Calcitriol acid* merupakan suatu bentuk inaktif yang akan diekskresi melalui empedu (Hermann et al, 2017; Dusso, 2005).



Gambar 3. Skema metabolisme vitamin D di dalam tubuh (Hollick et al, 2007).



Gambar 4. Metabolisme vitamin D di dalam tubuh (Jimenez Sousa, et al., 2018).

Proses pengaktifan vitamin D menjadi 1,25(OH)₂D tidak hanya terjadi di ginjal, melainkan di organ-organ lain yang memiliki enzim untuk melakukan hidroksilasi kalsidiol. Organ-organ tersebut mampu menghasilkan bentuk aktif

vitamin D nya sendiri dan digunakan sesuai kebutuhan masing-masing organ. Karena itu vitamin D sangat menentukan keberlangsungan fungsi banyak organ, mencerminkan betapa pentingnya vitamin D untuk pertahanan tubuh. Secara singkat, bagan yang menggambarkan metabolisme vitamin D dapat dilihat pada Gambar 1 dan 2. (Hollick et al, 2007)

2.2.3 Fungsi Vitamin D

Definisi vitamin adalah suatu senyawa organik yang harus ada pada diet dalam jumlah kecil untuk mempertahankan integritas metabolik normal karena vitamin umumnya tidak disintesis oleh tubuh. Namun tidak halnya dengan vitamin D. Vitamin D tidak memenuhi definisi tersebut. Vitamin D tidak hanya suatu vitamin, tapi juga adalah sebuah hormon. Vitamin D dapat disintesis di kulit dan pada kebanyakan kondisi merupakan sumber utama vitamin D.

Fungsi utama vitamin D adalah mengatur penyerapan kalsium dan homeostasis, namun itu hanya fungsi endokrinnya saja. Vitamin D memiliki fungsi autokrin yaitu sebagai alat pertahanan tubuh. Enzim untuk menghidroksilasi 25-(OH)D menjadi 1,25(OH)₂D tidak hanya ada di ginjal, melainkan ada di hampir semua jaringan. Jadi semua jaringan dapat membentuk bentuk aktif vitamin D sendiri dan difungsikan sesuai kebutuhan masing-masing jaringan. Bentuk aktif vitamin D, 1,25(OH)₂D, atau kalsitriol, mengontrol homeostasis kalsium melalui tiga cara: meningkatkan penyerapan kalsium di usus, mengurangi ekskresi kalsium dengan merangsang penyerapan di tubulus distal ginjal, dan memobilisasi mineral tulang.

Selain mengatur homeostasis kalsium, kalsitriol juga memiliki peran di banyak jaringan tubuh lain seperti sekresi insulin, sintesis dan sekresi hormon paratiroid dan tiroid, inihbisi pembedakan IL oleh limfosit T aktif dan immunoglobulin oleh limfosit B aktif, diferensiasi sel prekursor monosit, dan modulasi proliferasi sel. Pada kebanyakan efek ini, vitamin D berfungsi layaknya hormon steroid, berikatan dengan reseptor di nukleus dan meningkatkan ekspresi gen. Salah satu hasil dari peningkatan ekspresi gen oleh vitamin D yang paling penting adalah untuk pembentukan *Cathelicidin*, sebuah protein antimicrobial

yang dibentuk oleh tubuh untuk fungsi pertahanan tubuh. Defisiensi *Cathelicidin* musiman terbukti menjadi penyebab utama munculnya penyakit flu musiman. Biasanya pada musim dimana pajanan matahari terbilang minim, seperti musim dingin. Adapun kadar normal dan indikator status vitamin D seseorang dapat terlihat sesuai tabel 1 berikut.

Tabel 3. Definisi Status Vitamin D (Mangin et al., 2014)

| No | Peneliti | Nilai rujukan (ng/ml) | Interpretasi |
|----|---------------------------|-----------------------|---------------|
| 1 | Endocrine Society | ≤ 20 | Defisiensi |
| | | 20-29 | Insufisiensi |
| | | ≥ 30 | Normal |
| 2 | The Vitamin D Council | 0-40 | Defisiensi |
| | | 40-80 | Cukup |
| | | 80-100 | Normal tinggi |
| 3 | The Institute of Medicine | ≤ 12 | Defisiensi |
| | | 12-20 | Insufisiensi |
| | | 20 | Cukup |

2.2.4 Defisiensi Vitamin D

Defisiensi vitamin D adalah masalah kesehatan utama di seluruh dunia untuk seluruh kelompok umur, bahkan di negara khatulistiwa dengan radiasi UV yang adekuat, serta negara industri yang menggunakan vitamin D. Prevalensi defisiensi vitamin D (< 25 nmol/L) antara 5 – 15 % dan hipovitaminosis D (< 75 nmol/L) antara 50 – 75 % di negara berpenghasilan tinggi. Defisiensi ini terlibat secara langsung dalam patologi tulang (riketsia, osteoporosis, dan osteomalasia). Sebagai tambahan, terdapat bukti yang mendukung hubungannya dengan sejumlah penyakit “non-klasik” lainnya yang tidak berhubungan dengan tulang, seperti penyakit kardiovaskular, kanker, sklerosis multipel, penyakit metabolik, dan penyakit infeksi. Faktanya, defisiensi vitamin D berhubungan dengan

peningkatan insidensi dan *severity* dari Mycobacterium Tuberculosis (TB), HIV, dan infeksi virus hepatitis C. (Lucas RM et al, 2014; Mansueto et al, 2015)

Defisiensi vitamin D merupakan salah satu pertanda keadaan kesehatan yang memburuk. Hampir seluruh sel di dalam tubuh memiliki reseptor untuk vitamin D dan memiliki pengaruh terhadap mortalitas, kesehatan tulang, kontrol tubuh terhadap berbagai penyakit infeksi, antara lain HIV dan TB, bahkan pencegahan terhadap kanker, penyakit jantung, multiple sclerosis dan penyakit neuropsychiatric lainnya (Mansueto et al, 2015).

2.2.5 Faktor Resiko Defisiensi Vitamin D

Kadar vitamin D dipengaruhi oleh berbagai macam faktor, antara lain, kadar sintesis vitamin D di kulit, ketersediaan vitamin D, dan keadaan-keadaan klinis yang dapat mempengaruhi metabolisme vitamin D di dalam tubuh. Berbagai macam faktor resiko untuk defisiensi vitamin D dijelaskan dalam tabel 2 berikut. (Holick et al, 2007)

Tabel 4. Faktor resiko defisiensi vitamin D (Holick et al, 2007)

| Penyebab | Faktor Resiko | Efek |
|------------------------------|--|---|
| Penurunan sintesis di kulit: | Absorpsi UVB oleh tabir surya | Pengurangan sintesis berbanding lurus dengan SPF sunscreen |
| Penggunaan tabir surya | Absorpsi UVB oleh melanin | Pengurangan sintesis berbanding lurus dengan jumlah melanin |
| Pigmentasi kulit | Reduksi 7- | Pengurangan sintesis vitamin D hingga 75% pada usia 70 tahun |
| Usia | Dehidrokolesterol di kulit | Musim dingin dan gugur (November-Februari) serta tempat yang jauh dari garis khatulistiwa mengurangi pajanan matahari sehingga sintesis berkurang |
| Musim dan geografis | Jumlah pajanan matahari | |
| Ketersediaan | Berkurangnya absorpsi lemak karena penyakit- | Kurangnya kadar lemak mempengaruhi kadar kolestrol. Kadar kolestrol yang kurang mengurangi absorpsi vitamin D |
| Malabsorpsi | penyakit tertentu | |
| <i>Intake</i> | Kurangnya <i>intake</i> vitamin | |
| Obesitas | | |

| | | |
|---|---|---|
| | D dari makanan dan minuman Obesitas memicu sekuestrasi vitamin D | <i>Intake</i> yang kurang menyebabkan kadar yang kurang dalam tubuh Sekuestrasi mengurangi absorpsi vitamin D. |
| Keadaan klinis: Gangguan fungsi hati Gangguan fungsi ginjal Penyakit yang diturunkan: Ricketsia Penyakit yang didapat: Hiperparatiroidism | Gangguan pada metabolisme vitamin D pada berbagai tahap | Gangguan hati mengganggu produksi 25(OH)D Gangguan ginjal mengganggu produksi 1,25(OH)2D, hingga dapat menyebabkan hipokalsemia, hiperparatiroid sekunder, dan <i>renal bone disease</i> . Ricketsia dapat menyebabkan penurunan absorpsi kalsium, resistensi terhadap 1,25(OH)2D, atau tidak adanya sintesis sama sekali. Tergantung jenis mutasi Ricketsia Hiperparatiroidisme menekan ekspresi 1-alfahidroksilase untuk pengaktifan vitamin D menjadi 1,25 (OH)2D |

2.2.6 Suplementasi Vitamin D

Untuk intake sehari-hari, jumlah normal yang ditentukan oleh banyak penelitian adalah 400-800 IU/ hari. Namun jumlah ini belum cukup untuk menjaga kadar vitamin D pada batas bawah normal 30 ng/mL. Berdasarkan hal tersebut, rekomendasi terbaru untuk intake vitamin D sekarang adalah 1000 IU/hari untuk menjaga kesehatan tulang, dan 2000 IU/hari untuk menjaga status kesehatan yang optimal.

2.3 VITAMIN D RECEPTOR (VDR)

Vitamin D memiliki afinitas antiproliferatif dan antineoplastik, termasuk apoptosis, inhibisi proliferasi siklus sel, induksi diferensiasi, inhibisi invasi dan

mortalitas serta reduksi angiogenesis. Aktivitas ini menggunakan jalur genomik dan non genomik dan dimediasi oleh reseptor vitamin D (VDR). Reseptor vitamin D diekspresikan dalam jumlah yang besar pada jaringan tumor dan sel yang terinfeksi. Penelitian terbaru menunjukkan VDR dan enzim yang terlibat pada metabolisme vitamin D memiliki kerusakan pada jalur signaling VDR.

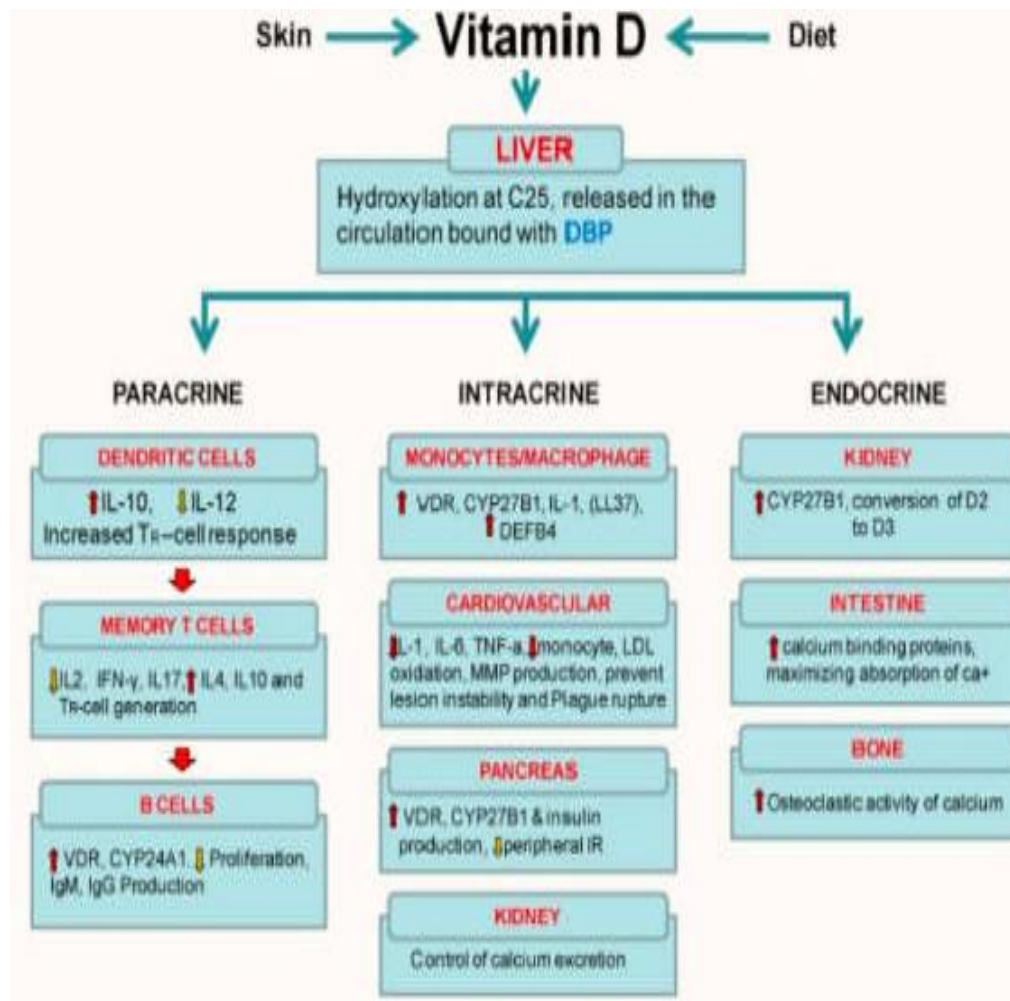
Ekspresi VDR oleh sel imun menunjukkan bahwa vitamin D mempengaruhi fungsi sistem imun. Lebih dari 30 jaringan tubuh yang berbeda seperti otak, hati dan pankreas, limfatik, kulit, gonad dan prostat terdiri dari sel termasuk limfosit T dan B yang mengekspresikan VDR. Reseptor vitamin D berikatan dengan 1,25-hydroxy vitamin D, bentuk aktif vitamin D dan memediasi aktivitas biologisnya. Vitamin D memiliki pengaruh yang kuat pada sistem imun host dengan modulasi sistem imun *innate* dan adaptif serta regulasi kaskade inflamasi (Silvana, 2010).

2.3.1 Transport dan Mekanisme Kerja Reseptor Vitamin D

Transport dan mekanisme kerja Reseptor vitamin D ditunjukkan dalam Gambar 5. Fraksi kecil vitamin D bersirkulasi dalam serum sebagai steroid “bebas” dan memasuki sel dengan cara difusi. Vitamin D yang tersisa dalam darah ditransportasi dengan protein yang berikatan dengan vitamin D (DBP), yang dapat berikatan dengan berbagai jenis vitamin D meskipun dengan afinitas yang berbeda-beda. Ketika DBP memiliki afinitas yang kuat terhadap 25(OH)D, sebaliknya justru lemah terhadap 1,25(OH)₂D. Afinitas yang lemah ini bersamaan dengan afinitas kuat terhadap reseptor vitamin D (VDR) dalam nucleus, membentuk kompleks reseptor asam retinoat (RXR) dan mempromosikan transkripsi gen pada beberapa target gen dengan berikatan dengan elemen respon vitamin D (VDREs).

Vitamin D dapat meregulasi transkripsi gen melalui mekanisme yang tidak berhubungan dengan VDREs. Vitamin D dapat memasuki sel dengan berikatan dengan VDR yang berada di membrane sel (VDR_m) sehingga menyebabkan efek non-genomik. Jarak efek non-genomik berhubungan dengan tipe sel dan status maturasi termasuk modulasi factor pertumbuhan dan sitokin melalui jalur sinyal

sitosolik serta efeknya terhadap aktivitas target factor transkripsi di nukleus. Pada akhirnya, vitamin D meregulasi sintesisnya dengan mekanisme feedback negatif yang kuat. (Pike JW, 2012)

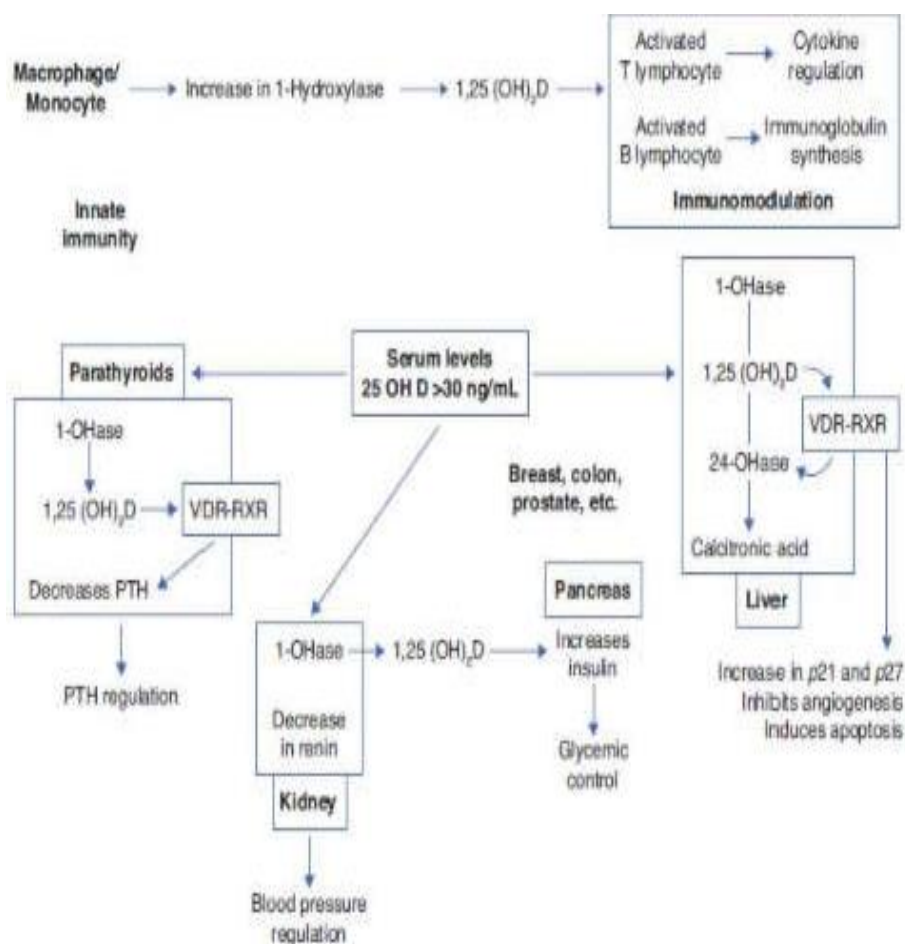


Gambar 5. Peran reseptor vitamin D pada masing-masing sistem tubuh (Dimitrov et al, 2016).

Sistem vitamin D berperan besar dalam banyak proses patofisiologi karena VDR diekspresikan dalam jaringan dan sel terdekat ke seluruh organisme. Jaringan dengan VDR tertinggi adalah usus, ginjal, kelenjar paratiroid dan tulang, seluruhnya diasosiasikan dengan homeostasis kalsium. Sel-sel imun juga mengekspresikan VDR dan mampu memetabolisme 25-(OH)D yang berada di sirkulasi menjadi bentuk aktif 1,25(OH)₂D, yang mengindikasikan peran regulasi

vitamin D, baik terhadap sistem imun innate dan adaptif. Selain itu, efek vitamin D juga terlihat pada respon imun dengan berikatan dengan VDR, serta muncul pula pada banyak sel seperti keratinosit, sel epitel bronkial/gastrointestinal, desidua dan sel trofoblas (Dimitrov et al, 2016).

Adapun mekanisme dan peran reseptor vitamin D pada masing-masing sel tubuh terlihat seperti pada Gambar 6.



Gambar 6. Transpor dan mekanisme kerja reseptor vitamin D pada tubuh (Pike JW, 2012).

2.3.2 m-RNA VDR

Messenger-RNA adalah RNA yang merupakan hasil transkripsi DNA dan menjadi perantara pembawa urutan protein dalam proses translasi. mRNA kemudian berinteraksi dengan perangkat pensintesis protein dalam sel untuk memproduksi polipeptida. Tugas mRNA adalah pembawa pesan kode dari DNA

kepada rRNA untuk selanjutnya diterjemahkan (ditranslasi) menjadi urutan protein. Bentuknya berupa rantai basa tunggal lurus dengan kerangka fosfat dan gula ribose. Molekul ini dihasilkan dari proses transkripsi di dalam inti sel oleh enzim RNA-polimerase. Ekspresi gen VDR merupakan respon terhadap 1,25-dihydroxyvitamin D₃ (1,25 D) dengan menurunkan aktivitas proliferasi sel.

1,25(OH)₂D₃ dimediasi oleh interaksi dengan reseptor nuklir spesifik (VDR) sesuai target sel. Melalui pola transkripsi atau aktivitas *post-transcriptional*, kompleks 1,25(OH)₂D₃-VDR dapat memodulasi efek vitamin D. VDR memiliki superfamili reseptor steroid, seperti halnya hormon tiroid dan reseptor vitamin A dan didistribusikan pada hampir semua jaringan, termasuk sel-sel hematolymphopoietic, dimana kehadiran VDR memungkinkan 1,25(OH)₂D₃ untuk mengurangi aktivitas imunologi limfosit T dan B dan mengaktifkan monosit-makrofag. Efek positif dari ligan kalsitriol terdapat pada produksi seluler VDR dan aktivitas VDR. Paparan fibroblas pada 1,25(OH)₂D₃ menyebabkan peningkatan VDR seluler, disertai dengan fosforilasi reseptor dan peningkatan konsentrasi mRNA-nya.

Gangguan aktivitas vitamin D telah dihipotesiskan pada hiperkalsiuria primer, yang dapat disebabkan oleh peningkatan sintesis 1,25(OH)₂D₃ atau peningkatan sensitivitas sel pasien ke 1,25(OH)₂D₃. Produksi seluler VDR dapat dipengaruhi oleh VDR gen *single nucleotide polymorphisms* (SNPs) pada 3-End Terminal atau bagian awal translasi. Gangguan ekspresi reseptor vitamin D pada membran sel menyebabkan mRNA VDR dapat diekspresikan berlebihan untuk merespon penurunan ekspresi protein reseptor vitamin D pada membran seluler yang rusak.

2.4 HIGH-MOBILITY GROUP BOX 1 (HMGB1)

2.4.1 Definisi

HMGB1 adalah anggota pertama dari keluarga *High Mobility Group Box* (HMGB). Keluarga HMGB terdiri dari HMGB 1, 2, dan 3. HMGB4 sudah diidentifikasi sebagai anggota baru dari keluarga HMGB, namun identik dengan

HMGB3 sehingga selanjutnya dinamai sebagai HMGB3 (Deng, 2019; Yang, 2013; He, 2017).

Struktur semua protein keluarga HMGB sangat identik (>80% mirip). Ekspresi HMGB1 terdapat dimana-mana, di hampir semua jenis sel mamalia yang diperiksa, ekspresi HMGB2 terbatas pada jaringan limfoid dan testis di hewan dewasa, sedangkan HMGB3 ekspresinya terbatas pada embrio dan sel punca hematopoetik. Diantara tiga jenis protein HMGB, HMGB1 adalah protein inti non-histon yang paling berlimpah, dan pada tingkat tertentu diekspresikan juga di sitoplasma (Yang, 2013; Mayasari dan Wijaya, 2018).

HMGB1 adalah protein nuklear multifungsi, yang dikenal sebagai *alarmin prototipe* atau *Damage-Associated Molecular Pattern (DAMP)* ketika dilepaskan dari sel dan berinteraksi dengan beberapa reseptor termasuk *Reseptor For Advanced Glycation End Products (RAGE)*, *Toll-like Reseptor (TLRs)* secara langsung dan tidak langsung dan lain-lain untuk fungsi yang beragam (Deng, 2019; He, 2017).

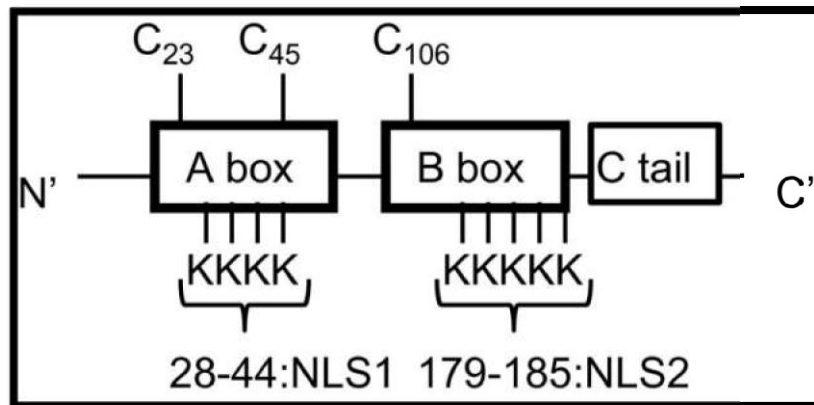
2.4.2 Struktur

HMGB1 adalah suatu protein dari 215 asam amino. HMGB1 mengandung dua motif heliks pengikat DNA yang terlipat, yang disebut kotak A dan B, dan Acid Tail yang mengandung string asam glutamat dan aspartat, dan sekitar 20 % sisanya adalah lisin (Deng, 2019; Yang, 2013).

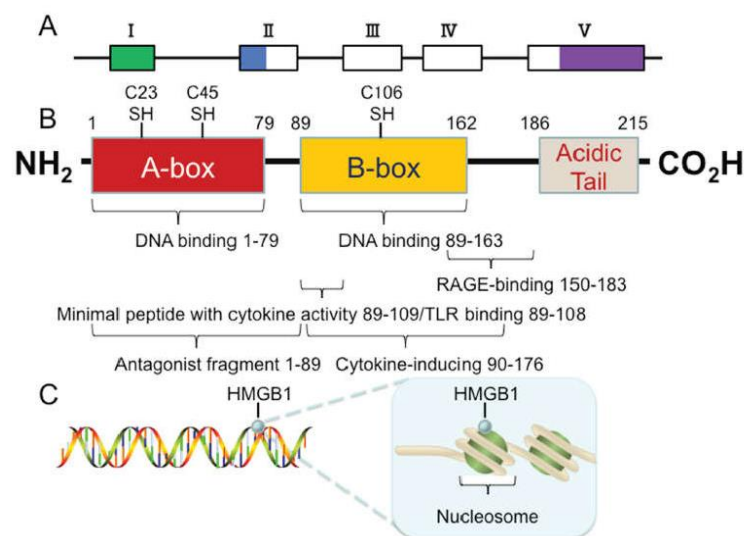
Struktur kotak A dan B adalah heliks, sebagian ditutupi ekor yang terlipat diatas protein. Ada dua sinyal pembawa nukleus dibagian proksimal kotak A dan kotak B dan dapat berikatan dengan nukleus exportin CRM1. HMGB1 memiliki 3 sistein, 2 berada diposisi 23 dan 45 kotak A dan 1 di posisi 106 kotak B. Posisi sistein 106 di kotak B perannya sangat diperlukan sitokin, oksidasi atau mutasi selektif residu ini akan menghapus aktivitas sinyal HMGB1 untuk melepas sitokin (Deng, 2019; Yang, 2013; He, 2017).

HMGB1 juga memiliki dua *nuclear localization signal* atau (NLS) yang masing-masing terletak di kotak A (aa 28-44) dan di kotak B (aa 179-185). Empat residu lisin berada di (NLS1), dan lima ada di NLS2. HMGB1 rentan terhadap

modifikasi asetilasi, sehingga menghasilkan eksklusi nuklear dan pelepasan HMGB1 (Deng, 2019; Yang, 2013; Magna, 2014).



Gambar 7. Karakteristik struktur HMGB1 (Deng, 2019; Yang, 2013)



Gambar 8. Struktur protein HMGB1 (Deng, 2019; Yang, 2013)

Struktur protein HMGB1 ditunjukkan pada gambar 8 sebagai berikut: **(A)** Lima ekson gen HMGB1 manusia (kotak berongga: daerah yang diterjemahkan dan kotak padatan: daerah tidak diterjemahkan); **(B)** Protein HMGB1 manusia : 215 residu asam amino dan terdiri dari 3 domain: kotak A, B dan ekor terminal asam. Ada tiga residu sistein sensitif-redoks pada posisi 23, 45, dan 106, yang mengatur fungsi HMGB1 sebagai respons terhadap stres oksidatif.; dan **(C)**

HMGB1 manusia secara longgar dan sementara dikaitkan dengan nukleosom. Di lokasi ini, HMGB1 penting untuk segregasi spasial dan homeostasis nuclear (Deng, 2019; Yang, 2013).

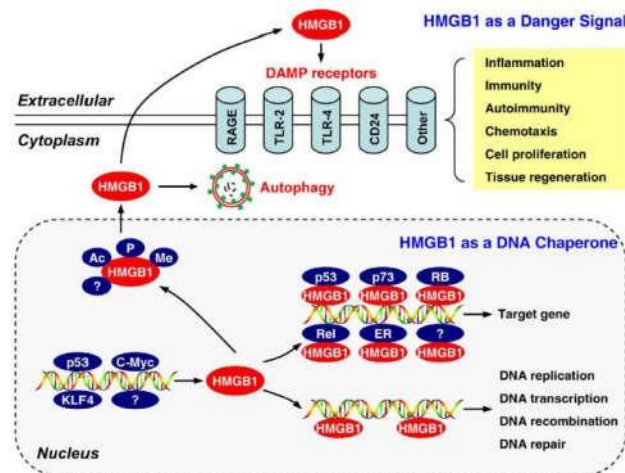
2.4.3 Fungsi

HMGB1 memiliki beberapa fungsi yang bergantung pada lokasinya (di dalam nukleus, dalam sitosol, atau ekstraseluler setelah terlepas dari sel aktif, atau lepas secara pasif setelah kematian sel) (Deng, 2019).

Di dalam nukleus, HMGB1 mendukung struktur kromatin mengikat DNA dengan cara sekuens yang tidak spesifik dan terlibat dalam transkripsi, pemeliharaan telomer, dan stabilitas genom. Saat berada di luar nukleus, ia memiliki fungsi yang lebih rumit, termasuk mengatur proliferasi sel, autophagy, peradangan dan imunitas (Deng, 2019; Yang, 2013; He, 2017; Gonelevue, 2018).

HMGB1 ekstraseluler menjadi pusat perhatian, karena terlibat dalam berbagai respons imun, dan sebagai sinyal alarm, termasuk pertumbuhan neurit, aktivasi trombosit, dan aktivitas yang mirip sitokin dan kemokin (Yang, 2013).

Dengan demikian, HMGB1 memiliki fungsi spesifik pada kompartemen. Studi struktur-fungsional telah mengungkapkan bahwa kotak HMGB1 B mengekspresikan aktivitas sitokin, sedangkan kotak A sendiri bertindak sebagai antagonis HMGB1 spesifik tetapi masih dengan mekanisme yang belum dimengerti. HMGB1 mengandung tiga residu sistein di Posisi 23, 45, dan 106, yang sensitif terhadap modifikasi dan bergantung pada redoks. Temuan terbaru menunjukkan bahwa modifikasi redoks dan asetil secara langsung mengendalikan aktivitas sitokin dan kemotaksis HMGB1 (Yang, 2013).



Gambar 9. Fungsi HMGB1 (Yang, 2013)

2.4.4 Ekspresi dan Lokasi Subseluler

Secara umum, HMGB1 diekspresikan semua sel. Namun, ekspresi HMGB1 dan lokalisasi subseluler bervariasi tergantung pada jenis sel, jaringan, perkembangan, dan dari lingkungan. Ekspresi HMGB1 tinggi pada nuklei dan sitoplasma jaringan limfoid dan testis, sedangkan di sitoplasma jaringan hati dan otak rendah, terutama di sitosol (He, 2017).

Imunohistokimia arteri manusia menunjukkan bahwa HMGB1 berlimpah dalam inti sel endotel, tetapi langka dalam sel otot polos pembuluh darah. Tingkat ekspresi HMGB1 dikaitkan dengan tahap diferensiasi sel. Dimana ekspresi HMGB1 rendah dalam sel terdiferensiasi dan tinggi dalam sel yang tidak terdiferensiasi (He, 2017).

Selain itu ekspresi HMGB1 dalam sel myeloid lebih tinggi dari pada sel limfoid. HMGB1 diekspresikan di sebagian besar jenis tumor. Studi sebelumnya menemukan bahwa ekspresi HMGB1 jauh lebih tinggi pada tumor daripada pada jaringan normal, seperti karsinoma hepatoseluler, karsinoma payudara dan adenokarsinoma kolorektal. Namun, kanker tertentu seperti karsinoma kelenjar adrenal tidak mengandung protein HMGB1. Meskipun HMGB1 adalah protein nuklear, ia dapat ditransmisikan dan dipengaruhi oleh beberapa modifikasi posttranslasional seperti asetilasi, fosforilasi, metilasi dan oksidasi (He, 2017).

2.4.5 Pelepasan

HMGB1 memiliki peran ganda dalam mengatur peradangan dan respons terhadap stres sel dan jaringan ketika bergerak dari nukleus ke dalam sitoplasma sel, atau dilepaskan ke ruang ekstraseluler baik dengan mekanisme aktif maupun pasif. Dalam hal ini, HMGB1 digambarkan sebagai molekul (DAMP) atau sebagai alarmin. HMGB1 berkontribusi pada patogenesis berbagai penyakit termasuk sepsis, syok traumatis, penyakit autoimun, kanker, serta steatosis hati dan *fatty liver disease* (Deng, 2019).

- **Release aktif**

HMGB1 adalah sejenis sitokin “leaderless”, yang berarti sitokin tidak langsung dipindahkan dari aparatus Golgi ke permukaan sel. Dibutuhkan akses untuk dikeluarkan dari organel milik kompartemen endolysosomal. Pelepasan aktif HMGB1 dimulai ketika molekul ekstraseluler berinteraksi dengan reseptor membran sel atau hipoksia terjadi secara perlahan. Banyak sel tipe secara aktif dapat melepaskan HMGB1, seperti monosit, makrofag, DC, sel NK, sel endotel dan sel tumor. Namun, mekanisme sekresi ini mungkin memiliki perbedaan antara berbagai jenis sel (He, 2017).

Monosit telah menjadi tipe sel yang paling banyak diteliti dalam kaitannya dengan sekresi HMGB1 sejauh ini. Pada monosit, HMGB1 harus pindah dari nukleus ke lisosom atau organel sekretori sitoplasma, dan kemudian dapat dilepaskan dari sel, yang mirip dengan sekresi IL-1 β . Ketika monosit yang diaktifkan oleh LPS, TNF, IL-1 atau IFN- γ , HMGB1 akan terlepas dari nukleus dan terakumulasi dalam sitoplasma. Sitoplasma HMGB1 kemudian diasetilasi dan terfosforilasi sehingga tidak masuk ke kompartemen nuklear lagi. Kemudian sitoplasma HMGB1 diselubungi lisosom sekretori dan dengan membran sel. Pelepasan HMGB1 pada organel sitoplasma dipicu oleh *lysophosphatidylcholine* (He, 2017).

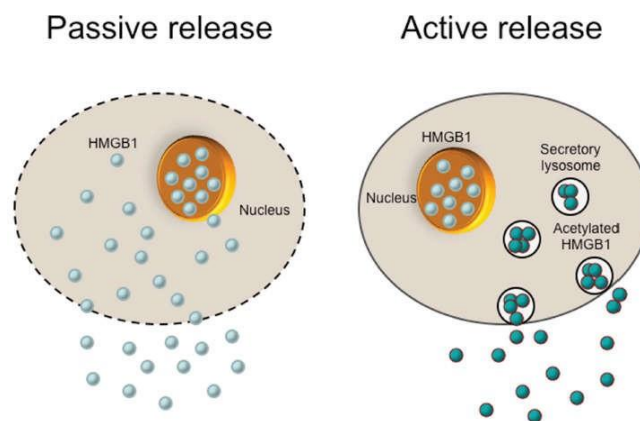
Beberapa penelitian telah mengindikasikan bahwa hipoksia seluler sublethal menginduksi pelepasan HMGB1 aktif daripada pelepasan pasif dengan cara yang tidak bergantung tipe sel. Pada sinovitis, area hipoksia

ditemukan bertepatan dengan area ekspresi HMGB1 patologis, sehingga memperkuat terdapat hubungan antara iskemia dan translokasi HMGB1 (He, 2017).

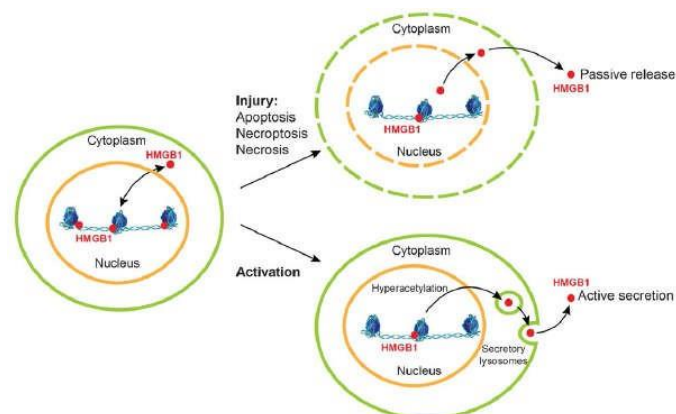
- **Pelepasan pasif**

HMGB1 secara pasif dilepaskan ke ruang ekstraseluler dari sel yang rusak atau sel nekrotik dengan membran plasma bocor. Sel-sel apoptosis yang mengalami nekrosis sekunder juga dapat memicu pelepasan HMGB1 (He, 2017; Gaskell, 2018).

Percobaan yang dilakukan di tikus pada model rheumatoid arthritis, HMGB1 dapat dikeluarkan melalui makrofag nekrotik dan sel apoptosis yang bocor. Selain itu, banyak makrofag yang tidak tercerna, diaktifkan sebelum kematian sel dan secara aktif mengeluarkan TNF, IL-1 β , dan mungkin HMGB1 (He, 2017).



Gambar 10. Pelepasan protein HMGB (He, 2017)



Gambar 11. Pelepasan protein HMGB1 (He, 2017)

2.4.6 Aktivasi Sitokin atau Peran Patologis HMGB1

Sebagai bagian dari respon imunitas bawaan, HMGB1 dapat secara aktif disekresikan dari beberapa tipe sel termasuk makrofag, monosit, sel NK, DC, sel endotel, dan platelet. HMGB1 juga bisa dilepaskan secara pasif dari sel nekrotik dan oleh karena itu, disebut sebagai penanda nekrosis yang optimal. Kedua mekanisme tersebut dapat mengeluarkan HMGB1 ekstraseluler dalam jumlah yang signifikan. Meskipun sel-sel apoptosis melepaskan HMGB1 secara substansial lebih sedikit dibandingkan dengan sel-sel nekrotik, makrofag yang diselubungi sel apoptosis dapat menginduksi pelepasan HMGB1 secara aktif yang signifikan. Molekul yang dilepas berpotensi menimbulkan respons inflamasi dalam pengaturan berbagai penyakit inflamasi melalui produksi berbagai sitokin dan kemokin inflamasi termasuk TNF- α , IL-1 α , IL-1 β , IL-1RA, IL-1RA, IL-6, IL-8, MIP-1 α dan MIP-1 β (Deng, 2019; Yamada, 2010).

2.5 HUBUNGAN INFEKSI HIV DENGAN RESEPTOR VITAMIN D

Jumlah penderita defisiensi vitamin D didapatkan semakin meningkat, bahkan dapat mencapai 75% kasus pada penderita dengan positif HIV. Faktor risiko defisiensi vitamin D pada penderita HIV dapat merupakan faktor klasik (bawaan) serta faktor terkait HIV yang meliputi aktivasi imun dan efek samping obat anti retroviral. Dalam suatu studi, Mansueto menunjukkan prevalensi defisiensi vitamin D bervariasi antara 70 – 80 % pada pasien terinfeksi HIV. Didapatkan berbagai jenis penyebab adanya defisiensi vitamin D pada pasien yang menderita HIV (Mansueto, 2015).

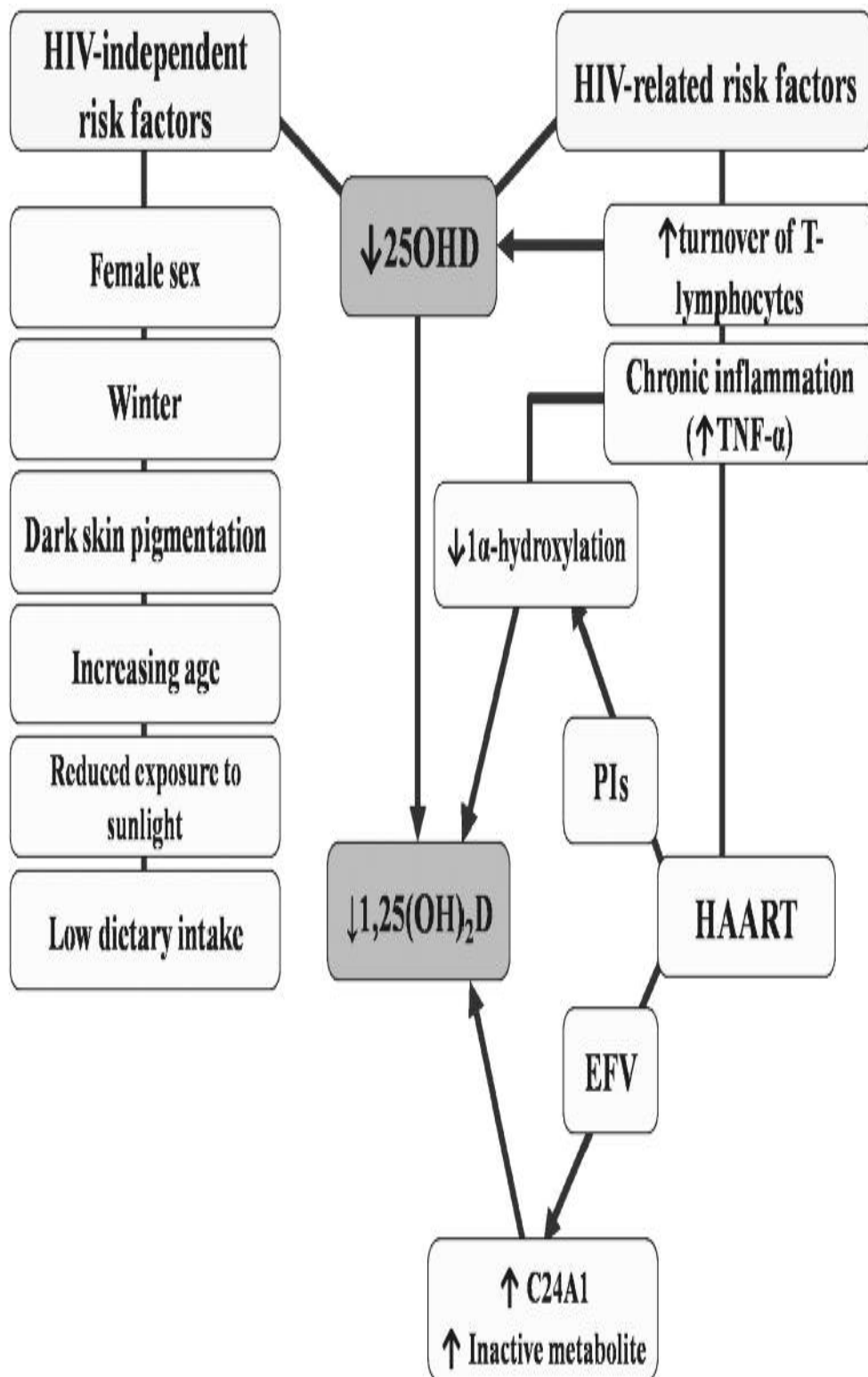
Faktor risiko defisiensi vitamin D pada infeksi HIV meliputi faktor risiko spesifik terkait HIV dan faktor risiko tidak terkait HIV. Faktor risiko tidak terkait HIV untuk defisiensi vitamin D antara lain jenis kelamin (wanita memiliki risiko lebih besar), usia lanjut, paparan sinar matahari yang terbatas, pigmentasi kulit, etnis kulit gelap, intake vitamin D rendah, penyakit gangguan absorpsi gastrointestinal, penyakit hati dan ginjal, indeks massa tubuh yang tinggi, DM dan konsumsi alkohol.

Faktor resiko terkait HIV juga dapat menyebabkan defisiensi vitamin D. Faktor resiko tersebut antara lain inflamasi kronik (peningkatan TNF- α), peningkatan turnover limfosit T, serta efek obat anti retroviral tertentu (protease inhibitor dan efavirenz). Mekanisme yang dianggap berperan adalah adanya hiperaktivitas imunologis dan overproduksi TNF- α yang menyebabkan gangguan 1α -hidroksilase ginjal, sehingga menurunkan kadar $1,25(\text{OH})_2\text{D}$.

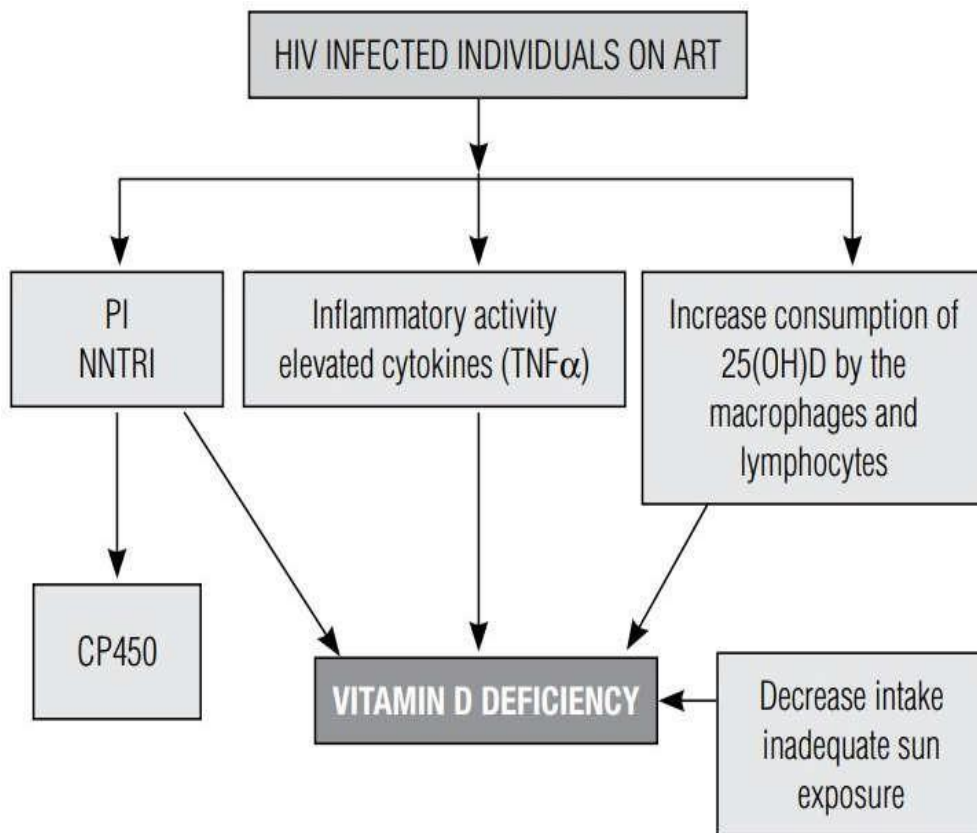
Infeksi HIV dapat menyebabkan inflamasi kronik dan aktivasi imun. Pada pasien-pasien dengan defisiensi vitamin D ditemukan peningkatan kadar IL-6 dan TNF α serta peningkatan fenotip monosit. Adanya proses inflamasi kronis dapat menyebabkan aktivitas 1α -hydroxylase di ginjal terganggu, sehingga menyebabkan pengurangan produksi $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ dengan cara memblok konversi dari $25(\text{OH})\text{D}$ menjadi $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ yang distimulasi PTH. Faktor lain seperti komorbiditas, komplikasi infeksi dan hospitalisasi pada pasien terinfeksi HIV dapat menyebabkan berkurangnya paparan sinar matahari, malnutrisi dan berkurangnya intake makanan oral yang mengandung vitamin D tinggi. Pada pengguna narkoba suntikan yang terinfeksi HIV akan mengalami beban defisiensi vitamin D yang tidak proporsional karena mereka sering memiliki nutrisi buruk, keterbatasan dan terlambatnya akses ke pelayanan kesehatan dan prevalensi yang lebih tinggi terhadap komorbid dan penyakit infeksi.

Faktor resiko defisiensi vitamin D terkait terapi obat ARV antara lain pada penggunaan protease inhibitors (PIs) dan non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NNRTIs). Obat ini memiliki efek terhadap jalur metabolik vitamin D. protease inhibitors (PIs) dapat mengurangi konversi $25(\text{OH})\text{D}$ menjadi $1,25(\text{OH})_2\text{D}$, sedangkan NNRTIs dapat meningkatkan katabolisme $25(\text{OH})\text{D}$. Kadar vitamin D ($25(\text{OH})\text{D}$) yang rendah dapat terlihat pada pasien yang diobati dengan ARV ini.

Adapun mekanisme hubungan antara HIV dan faktor resiko defisiensi vitamin D seperti terlihat pada gambar 10 dan 11 berikut.



Gambar 10. Faktor resiko defisiensi vitamin D pada penderita HIV (Pinzone, 2013).



Gambar 11. Faktor Resiko Defisiensi Vitamin D pada Penderita HIV
(Conrado, Tereza et al., 2010)

2.5.1 Peran Reseptor Vitamin D pada Infeksi HIV

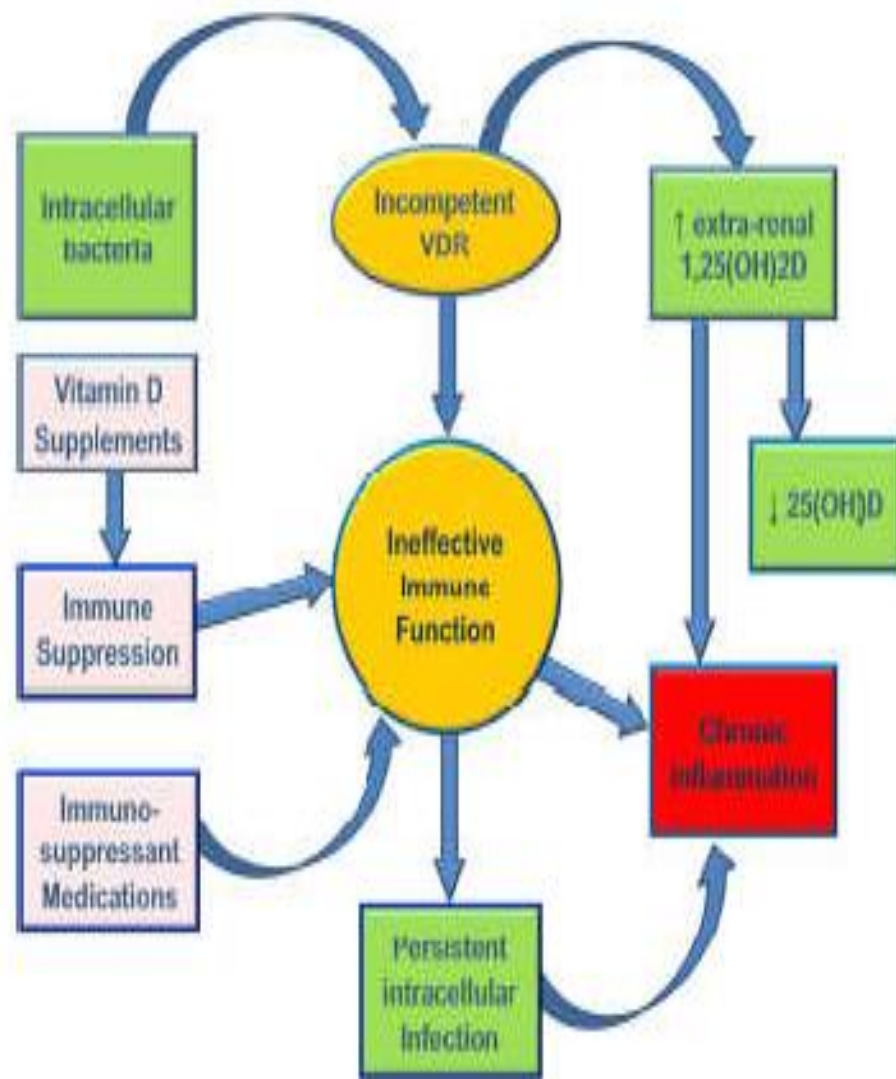
Vitamin D adalah immunomodulator yang poten dalam proses respon imun tubuh. Vitamin D berperan sebagai kofaktor untuk induksi aktivitas antimicrobial. Menurut Mangin et al. (2014), kadar vitamin D yang rendah merupakan akibat dari infeksi bakteri, bukan sebaliknya. Bakteri intraselular atau *cell wall deficient bacteria*, contohnya, akan menginvasi makrofag. Selanjutnya invasi makrofag tersebut akan mengakibatkan aktifnya *cell-mediated immune response*. Respon imun tersebut akan merangsang terbentuknya sitokin. Dalam makrofag dan monosit, aktivasi sitokin dapat menghambat ekspresi gen VDR. Terhambatnya VDR mengakibatkan meningkatnya kadar 1,25(OH)₂D karena aktivitas pengikatannya dengan reseptor vitamin D (VDR) berkurang. Hal tersebut juga memicu peningkatan metabolisme 25(OH)D sehingga kadar vitamin D serum

pun berkurang. Peningkatan metabolisme tersebut terjadi karena tubuh mendeteksi kurangnya pengikatan bentuk aktif vitamin D dengan reseptor sehingga tubuh meningkatkan pengaktifan 25(OH)D menjadi 1,25(OH)D secara berlebihan. Kadar vitamin D <20 ng/mL dapat menghambat *macrophage-initiated immune response* terhadap infeksi. Seluruh proses tersebut akhirnya mengakibatkan penurunan daya tahan tubuh dan mengakibatkan infeksi yang persisten oleh bakteri. (CDC, 2010)

Peranan vitamin D dapat terjadi melalui aktivasi *Cathelicidin*, sebuah peptide antimikrobal yang ditemukan di lisosom makrofag dan granula sekunder netrofil, serta dapat diproduksi oleh sel epitelial. Bentuk aktif vitamin D dapat meningkatkan ekspresi gen untuk produksi *AMP Cathelicidin*, suatu protein yang bersifat mikrobisidal melawan bakteri, jamur dan virus. Pada manusia hanya satu jenis *Cathelicidin* yang teridentifikasi. Penelitian menunjukkan bahwa LL-37 memiliki aktivitas anti HIV dengan kadar efektif 50% untuk penghambatan replikasi virus. Hal inilah yang menjelaskan mengapa pada kadar vitamin D rendah, didapatkan viral load yang tinggi.

Kadar 1,25(OH)D yang adekuat untuk produksi *Cathelicidin* adalah 30 ng/ml. Sebelum kadar tersebut tercapai, zat-zat inflamatorik dikeluarkan secara kontinyu sehingga saat kadar tersebut tercapai, sudah terjadi akumulasi zat-zat inflamatorik yang bersifat litik yang juga dapat mengakibatkan kerusakan pada sel normal. Hal ini terjadi terutama pada infeksi yang bersifat kronis. Gejala klinis baru akan muncul beberapa minggu hingga bulan setelah terjadi infeksi, dan bahkan dapat terjadi fase dorman dimana bakteri “tertidur” di dalam tubuh kita dalam waktu yang lama dan akan “terbangun” sewaktu-waktu jika imun kita mulai melemah lagi. Peningkatan 1,25(OH)D terbukti memacu autofagi dalam makrofag manusia, sehingga menyebabkan penghambatan pada replikasi virus HIV. (Mangin et al, 2014).

Secara singkat, proses tersebut dapat dilihat pada Gambar 14.



Gambar 14. Patogenesis proses inflamatorik kronis akibat infeksi persisten bakteri (Mangin et al, 2014).

Efek vitamin D pada progresifitas HIV dapat dijelaskan melalui perannya pada imunitas innate dan adaptif. Sistem imun innate adalah lini pertama pertahanan tubuh melawan infeksi dan meliputi sel imunitas innate seperti sel NK yang memiliki kemampuan untuk menghancurkan sel yang terinfeksi virus. Sistem imun innate juga merekrut sel imun ke lokasi infeksi lewat produksi sitokin oleh sel dendritik.

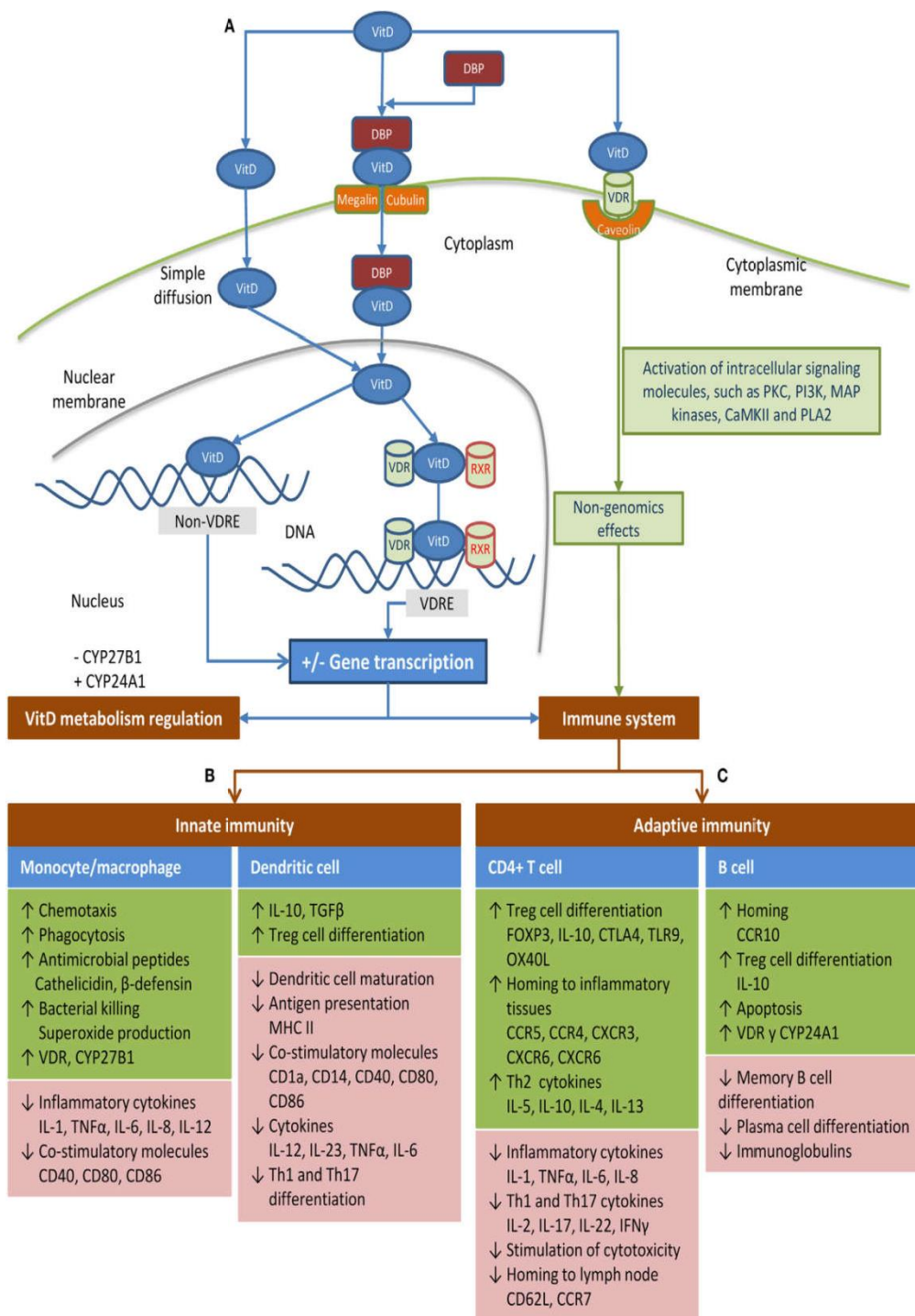
Beberapa studi sebelumnya telah menghubungkan antara kadar vitamin D yang rendah dengan peningkatan resiko infeksi. Sebuah studi potong lintang yang melibatkan 19.000 subyek menunjukkan bahwa individu dengan kadar vitamin D rendah (< 30 ng/ml) lebih sering menderita ISPA daripada mereka dengan kadar vitamin D yang cukup.

Penelitian lain dilakukan untuk mencari tentang kaitan status vitamin D pada efek kesehatan pasien HIV. Sebuah penelitian baru mengenai hubungan antara vitamin D, lipid, infeksi HIV, dan terapi HIV menunjukkan bahwa kadar serum total 25(OH)D lebih tinggi pada pasien HIV yang mendapat terapi ARV dibandingkan yang tidak mendapatkan terapi. Hal ini konsisten dengan hasil kadar 25(OH)D yang rendah (20,181 ng/dl) pada pasien yang tidak diterapi ARV dibandingkan kelompok yang mendapat terapi ARV (rerata kadar vitamin D 27,619 ng/ml).

Progresifitas menuju HIV stadium 3 secara bermakna terkait dengan kadar vitamin D yang rendah. Hal ini sesuai dengan yang dilaporkan Mehta (2013) bahwa vitamin D mempunyai peranan pada progresifitas penyakit HIV dapat berkaitan dengan peranannya pada imunitas innate dimana telah terbukti berperan memperbaiki kapasitas fagositik makrofag, imunitas dimediasi sel (*cell mediated immunity*), serta meningkatkan jumlah sel NK dan aktvias sitolitik. (Mehta et al, 2013)

Metabolit hidroksilasi vitamin D3 dapat menyebabkan hambatan pertumbuhan *Mycobacterium tuberculosis* pada sel monosit manusia sehat. Hal ini dapat menjelaskan mengapa vitamin D dapat digunakan untuk mencegah progresifitas menuju AIDS karena *Mycobacterium tuberculosis* merupakan salah satu penyebab progresifitas penyakit dan mortalitas pada pasien yang terinfeksi HIV. Selain itu, terdapat efek vitamin D yang meningkatkan resistensi terhadap tuberculosis sehingga memperpanjang survival pada penderita tersebut.

Adapun mekanisme peran vitamin D dan reseptor vitamin D pada sistem imun terkait HIV dapat dijelaskan sebagaimana gambar berikut.



Gambar 15. Peran vitamin D dan reseptor vitamin D pada sistem imun (Jimenez Sousa, et al., 2018)

2.5.2 Reseptor Vitamin D dan Sel CD4 pada Infeksi HIV

Sel CD4 merupakan target primer infeksi HIV. Sel tersebut menunjukkan pertahanan tubuh pertama melawan pathogen, menginisiasi respon antimicrobial dan antiviral (Sant dan McMichael, 2012). Sel CD4 terbagi atas 2 tipe yaitu T *helper* dan sel T *regulator* (Tregs). Sel T helper yang dikenal sebagai sel efektor bertanggung jawab membunuh pathogen terbagi atas Th1 dan Th2. Saat invasi pathogen, TH1 berperan pada pertahanan intraseluler sedangkan Th2 berperan pada pertahanan ekstraseluler (BMJ, 2000). Sel T regulator memiliki fungsi utama mengontrol mekanisme supresi imun, terutama menekan produksi sel T (Hewison, 2010).

Selama infeksi HIV, virus menuju ke limfonodi dimana terdapat sel imun (terutama limfosit T CD4 dan limfosit B) yang diprogram untuk mengenali dan menghancurkan benda asing. Saat pertama kali sel imun mendeteksi, mereka mengaktivasi dan memproduksi secara cepat untuk melawan infeksi lewat awal mekanisme pertahanan cell mediated, yang menghasilkan sitokin dan kemudian dilanjutkan produksi respon imun humoral atau *antibody-mediated*. Pada akhirnya menyebabkan destruksi gradual sel CD4 dengan adanya replikasi HIV yang cepat dan aktivasi imun yang terus menerus (Kestens, 2005).

Keseimbangan antara Th1 dan Th2 adalah sangat penting untuk homeostasis dan respons imun yang optimal terhadap benda asing yang masuk ke tubuh. Dari kepentingan tersebut, vitamin D berperan utama sebagai imunomodulator yang meregulasi produksi sitokin dan memacu pergeseran keseimbangan imun selular dari pro inflamatorik menjadi anti inflamatorik (Boonstra et al, 2001; Prietl et al, 2013).

2.5.3 Reseptor Vitamin D, Imunitas *Innate* dan Infeksi HIV

Vitamin D terlibat dalam pertahanan host melalui jalur autokrin pada monosit manusia dan stimulasi berkelanjutan makrofag terhadap *toll like-receptor* (TLRs)2, TLR4, reseptor interferon γ (IFN- γ) atau CD40. Reseptor ini memulai sinyal kaskade yang menginduksi regulasi dari VDR dan CYP27B1, menyebabkan konversi 25(OH)D menjadi 1,25(OH)₂D. Ikatan 1,25(OH)₂D

terhadap VDR menyebabkan ekspresi gen multitarget yang memodulasi fungsi monosit/makrofag selama infeksi. Pada tahap selanjutnya vitamin D mencegah respon inflamasi berlebihan terhadap penyakit infeksi dengan menghambat maturasi sel dendritik. Sel dendritik juga mengekspresikan VDR, begitu pula CYP27A1 dan CYP27B1, dengan demikian menggeneralisasi secara lokal bioaktif $1,25(\text{OH})_2\text{D}$. Monosit manusia dari sel dendritik mengkonversi $25(\text{OH})\text{D}$ menjadi $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ lebih sedikit dari makrofag. Hal ini disebabkan sel dendritik mengekspresikan sebagian besar transkrip CYP27B1 yang terpotong, menyebabkan defisiensi aktivasi vitamin D. (Kundu et al, 2014)

Tingginya kadar vitamin D dan reseptornya (VDR) dapat dihubungkan dengan resistensi alami infeksi HIV 1. Hal ini dapat menjadi dasar regulasi anti inflamasi IL-10 dan induksi defesin anti HIV-1 di mukosa terhadap individu seronegatif yang terekspos HIV-1. Sebagai tambahan, ekspresi VDR secara positif berhubungan dengan ekspresi beberapa molekul anti HIV (seperti elafin, TRIM5, cathelicidin microbial peptide/CAMP, HAD-4, dan RNase7), yang terkait dengan resistensi alami terhadap infeksi HIV-1. Selanjutnya, dapat digambarkan bahwa $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ eksogen di monosit menurunkan suseptibilitas infeksi HIV dengan menghambat masuknya virus, mengurangi ekspresi permukaan CD4 dan membatasi proliferasi. Diketahui bahwa agonis TLR8 menghambat infeksi HIV melalui vitamin D dan CAMP tergantung mekanisme autofagi di makrofag manusia. Selain itu diketahui bahwa vitamin D memicu autofagi di makrofag secara signifikan menghambat replikasi HIV-1 namun tergantung dosis yang digunakan (Watkins, et al, 2015).

Defisiensi vitamin D dihubungkan dengan inflamasi yang lebih besar (regulasi dari CXCL10, IL6, TNF α , dan D-dimer) dan fenotip monosit teraktivasi (CX3CR1+ dan CCR2+) pada pasien terinfeksi HIV yang berhubungan dengan disfungsi jaringan, berkembangnya komorbid, progresivitas AIDS, dan kematian pada pasien terinfeksi HIV. Selain itu, inflamasi kronik dapat menginduksi hipovitaminosis D (Watkins et al, 2015).

Proses inflamasi pada perjalanan klinis penyakit dapat mengurangi kadar 25(OH)D, dimana akan menjelaskan rendahnya kadar vitamin D dalam skala besar penyakit pada populasi umum dan pasien terinfeksi HIV. Selain itu juga didapatkan bahwa beratnya defisiensi vitamin D dihubungkan dengan rendahnya jumlah CD4 dan peningkatan marker inflamasi sebagai kombinasi pada pasien terinfeksi HIV yang naive ARV. (Legeai et al, 2013)). Adanya LPS dan HIV gp120 mengatur ekspresi dari CYP27B1 dan CYP24A1 di monosit dan makrofag. Hal ini menyebabkan hipovitaminosis vitamin D pada individu terinfeksi HIV, pengurangan ekspresi mRNA dari VDR dan peptide antivirus PI3 dan CAMP.(Aguilar-Jimenez et al,2017; Pinzone MR et al, 2013).

Vitamin D dapat dihubungkan dengan penyakit infeksi lainnya pada pasien terinfeksi HIV. Vitamin D membantu pengeluaran TNF yang dimediasi pada makrofag pasien terinfeksi HIV melalui peningkatan jalur sinyal TLR. (Anandaiah, 2013). Sebagai tambahan, tingginya kadar vitamin D dihubungkan dengan proteksi melawan terjadinya sindrom inflamasi rekonstruksi imun (IRIS) dan penurunan insidensi TB paru dan mortalitas di antara pasien yang terinfeksi HIV. (Dimitrov et al, 2016).

2.5.4 Reseptor Vitamin D, Imunitas Adaptif, dan Infeksi HIV

Vitamin D dapat secara tidak langsung mempengaruhi respon sel T melalui modulasi fenotip DC dan kapasitas stimulasinya terhadap sel T. Sel T naïve ataupun memori, mengekspresikan VDR pada kadar yang rendah, memicu vitamin D beraksi secara langsung pada sel T ini. Aktivasi sel T meningkatkan ekspresi VDR dan CYP27B1 yang memungkinkan 25(OH)D diubah menjadi 1,25(OH)₂D untuk memodulasi fungsi efektor vitamin D. Vitamin D menekan profil Th1, Th17, Th2 terhadap produksi sitokin sehingga merubah fenotip dan fungsi sel T. Efek vitamin D pada sel B diduga berupa modulasi sel Th. Sel B manusia juga mengekspresikan VDR dan CYP27B1 yang mengatur aktivasi, menyebabkan sel B dapat menerima rangsangan 1,25(OH)₂D. Vitamin D menginduksi dan terlibat dalam diferensiasi sel plasma manusia. (Vanherwegen AS, 2016).

Pada pengujian *in vitro*, vitamin D menginduksi ekspresi gen antivirus, mengurangi ko-reseptor virus CCR5 pada sel T CD4+, dan mempromosikan imunofenotipe CD38+HLA-DR+ yang restriktif terhadap HIV-1, sehingga menghambat infeksi HIV-1 di sel T (Aguilar-Jimenez, 2016). Vitamin D mengurangi kemampuan TNF α untuk mengatur transkripsi RNA HIV dari sel CD4+ terinfeksi yang laten. (Nunnari, 2016). Selain itu, rendahnya kadar vitamin D berkaitan dengan tingginya *viral load* HIV dalam plasma, progresivitas AIDS yang cepat, dan rendahnya survival pada pasien terinfeksi HIV (Sheperd, 2014; Mehta et al, 2010).

Defisiensi vitamin D juga berhubungan dengan jumlah *recovery* sel T CD4+ yang terganggu pada pasien HIV positif dengan terapi ARV. Selain itu, kadar vitamin D secara positif berhubungan dengan pemulihan sel T CD4+ setelah 24 minggu suplementasi vitamin D, memungkinkan manfaat potensial dari suplementasi vitamin D pada pemulihan imunologi selama terapi ARV (Coelho L, 2015).

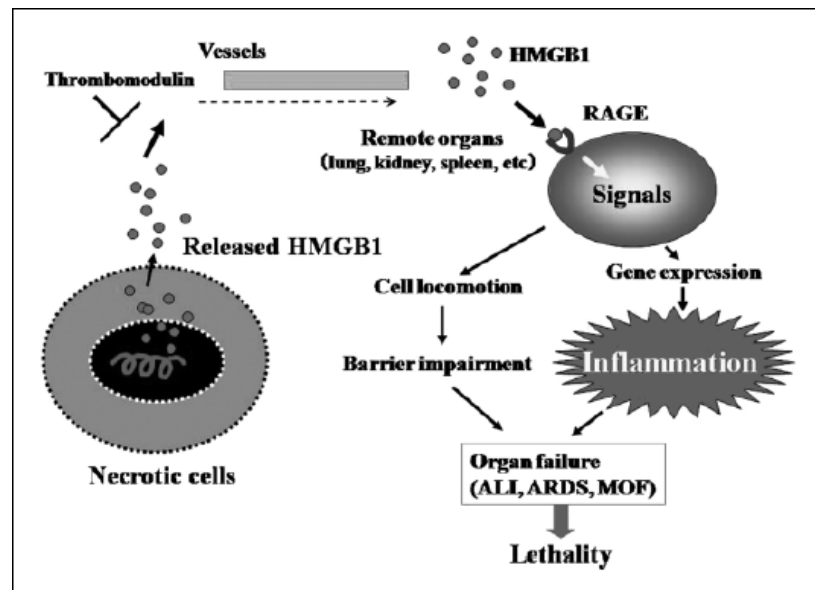
2.6 HMGB1 DAN PENYAKIT INFEKSI

2.6.1 HMGB1 Sebagai Mediator Penting Penyebab Kematian Pada Peradangan Steril dan Infeksi

Respons inflamasi juga disebabkan oleh cedera atau infeksi steril. Selama infeksi, imunitas bawaan diaktifkan oleh produk molekul asing yang disebut *Pathogen Associated Molecular Pattern* (PAMP), yang meliputi, *Lipopolysaccharide* (LPS), dsRNA, dan CpG-DNA. Selama cedera steril atau iskemia, sel-sel yang sama diaktifkan oleh paparan DAMP endogen, yang meliputi molekul seperti *heat shock protein*, asam urat, annexins, dan IL-1 α . DAMP dan PAMP menginduksi kaskade peradangan yang sama, kerusakan jaringan, dan kegagalan banyak organ. HMGB1, dilepaskan oleh sel-sel imun yang diaktifkan dan sel-sel yang terluka atau nekrotik, berperan penting dalam respons inang terhadap kedua jenis ancaman; dengan demikian menjadi mediator penting di akhir morbiditas dan mortalitas selama infeksi dan cedera steril (Yang, 2013).

HMGB1 adalah penjaga universal untuk mediasi asam nukleat pada respon imun bawaan HMGB1 dan anggota keluarga dari HMGB 2, dan 3 menjadi sensor universal bagi asam amino sitosolik. HMGB1 berikatan dengan semua asam nukleat imunogenik yang diperiksa dan memediasi respon imun melalui stimulasi transkripsi tipe 1 IFN, IL-6, dan RANTES dari sel-sel imun atau fibroblas embrio tikus. Kekurangan ekspresi HMGB1 banyak mengurangi respon imun saat di stimulasi dengan DNA/RNA mirip virus yang dibandingkan oleh kontrol WT. Penghentian ketiga protein HMGB ini akan menghambat respon pada stimulasi asam nukleat viral dibandingkan dengan penghentian salah satu HMGB1, menunjukkan bahwa protein HMGB1 berbagi fungsional yang sama. Protein HMGB1 berperan penting dalam pengaturan sentinel universal dalam aktivasi asam nukleat merespon kekebalan bawaan tetapi masih dengan mekanisme yang belum terpecahkan. Reseptor memediasi aktivitas keluarga HMGB1 dari seluler (Yang, 2013).

HMGB1 yang terlepas ke lingkungan ekstraselular HMGB1 akan berikatan dengan reseptor sel permukaan untuk menimbulkan respon inflamasi. Reseptor yang memediasi signal HMGB1 yaitu *Reseptor for Advanced Glycation End Product* (RAGE), TLR2, TLR4, dan TLR9, antigen makrofag-1, syndecan-3, CD24-Siglec-10, CSCR4, dan sel T Ig mucin-3. TLR4 adalah reseptor primer yang dibutuhkan untuk promosi aktivasi makrofag, pelepasan sitokin, dan kerusakan jaringan. Terpisah dari interaksi reseptor secara langsung, HMGB1 mungkin membentuk heterokompleks dengan molekul lain, seperti IL-1, CCL12, DNA, RNA, histon, atau LPS, yang menghasilkan respon sinergistik dibandingkan semua produk hasil komponen individual. Sinyal kompleks ini dari reseptor resiprok untuk molekul pasangan HMGB1 sebagai modus aksi. HMGB1 berperan pada formasi heterokompleksnya sendiri, menginisiasi respon kekebalan bawaan, termasuk aktivitas kemotaksis dan pelepasan sitokin proinflamasi sehingga menyebabkan demam, disfungsi sawar epitel, dan inflamasi kronis dan akut (Yang, 2013).

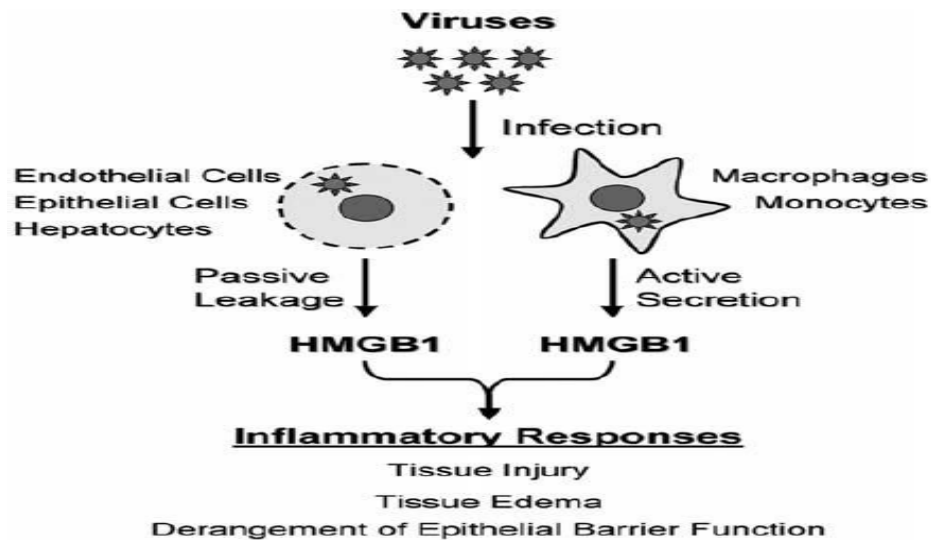


Gambar 16. Mekanisme Disfungsi Organ oleh HMGB1 (Yamada, 2010)

262 Peran HMGB1 pada Penyakit Infeksi Viral

Banyak virus tidak secara langsung sitopatik tetapi dapat memicu respons peradangan seperti yang dimanifestasikan oleh produksi berbagai sitokin proinflamasi. Ketika diproduksi dalam jumlah rendah, sitokin proinflamasi ini dapat melindungi terhadap invasi virus. Namun, jika diproduksi berlebihan, mereka dapat menjadi berbahaya bagi inang dengan memediasi respons inflamasi yang merugikan (Wang, 2007).

HMGB1 dapat dilepaskan secara aktif atau pasif oleh sel yang terinfeksi, dan memulai respons inflamasi yang digerakkan oleh sel yang terinfeksi dan sel imun bawaan yang berdekatan. Respon inflamasi yang ditimbulkan oleh infeksi virus dapat berkontribusi terhadap patogenesis penyakit infeksi virus (Wang, 2007).



Gambar 17. Peran hipotetis kelompok mobilitas tinggi kotak 1 (HMGB1) dalam patogenesis penyakit infeksi virus

2.7 HUBUNGAN PENYAKIT HIV DENGAN HMGB1

Human Immunodeficiency Virus (HIV) menginfeksi banyak jenis sel, terutama limfosit T CD4⁺, dan aktivasi memicu efek sitopatik melalui produksi salinan virus baru. Hal ini menyebabkan penurunan progresif sistem imun seluler dan penekanan sistem imun yang parah, sehingga membuat individu lebih rentan terhadap penyakit oportunistik (Tasca, 2018).

Penelitian yang dilakukan oleh Barqasho dkk, yang mengamati mode kematian sel dan pelepasan HMGB1 selama infeksi HIV in vitro, menunjukkan bahwa selama infeksi *Human Immunodeficiency Virus* (HIV), tingkat plasma protein HMGB1 meningkat dan molekulnya berdampak pada replikasi virus. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Youn dkk. Juga menunjukkan bahwa kadar HMGB1 yang tinggi berpengaruh pada hasil klinis yang buruk pada orang dengan HIV, karena lebih banyak aktivasi seluler, reaktivasi virus laten, dan peningkatan produksi sitokin inflamasi, serta stimulasi monosit dengan HMGB1 menyebabkan produksi TNF- α lebih tinggi (Barqasho, 2010).

Infeksi pada T CD4⁺ dan MT4 menyebabkan efek sitopatik (CPE) dan apoptosis, dan berkaitan juga dengan pelepasan HMGB1 pada suatu penelitian

yang dilakukan dengan *Enzyme-Linked Immunosorbent Spot* (ELISPOT) dengan mengukur kadar pelepasan selama nekrosis atau kematian jaringan. CPE terkait juga dengan pelepasan *Lactate Dehydrogenase* (LDH) dan HMGB1. Nekrosis dan apoptosis berkontribusi pada pelepasan HMGB1 selama kematian sel yang disebabkan oleh HIV dan protein dapat menginduksi TNF. Jadi pelepasan HMGB1 secara pasif berkontribusi terhadap aktivasi sistem imun yang berlebihan pada virus HIV (Tasca, 2018).

Secara pasif HMGB1 dilepaskan dari sel-sel yang rusak atau nekrotik ke lingkungan ekstraseluler, di mana ia dapat bertindak sebagai penanda proinflamasi yang kuat dengan menstimulasi ekspresi sitokin dalam monosit dan sel endotel. HMGB1 memiliki afinitas tinggi untuk membentuk kompleks dengan molekul lain seperti LPS dan CpG-DNA. Kompleks ini cenderung berikatan dengan berbagai reseptor, termasuk TLR4 dan TLR9, dan memicu berbagai macam respon inflamasi yang kuat yang stabil dengan molekul lain dan imunologis (Nowak, 2012).

HMGB1 dalam kompleks dengan ligan TLR (LPS, CpG-ODN, flagellin) dan IL-1 β menginduksi replikasi virus dalam garis sel promonocytic. Produk bakteri dan HMGB1 membentuk kompleks aktif yang efisien tidak hanya dapat menciptakan lingkungan proinflamasi tetapi juga secara langsung memicu replikasi virus dalam sel yang terinfeksi. Pembentukan kompleks ligan HMGB1 / TLR memiliki implikasi langsung pada aktivasi kekebalan, terutama pada tahap akhir penyakit, di mana penghancuran sel dan nekrosis adalah fenomena dominan karena hilangnya sel T CD4 +, infeksi oportunistik, dan kondisi patologis lainnya. Dalam penelitian tersebut juga mengatakan, kadar HMGB1 plasma meningkat pada pasien yang terinfeksi HIV dan dikurangi dengan ART secara efektif (Tasca, 2018; Nowak, 2012).

2.7.1 HMGB1 dengan Sel T CD4

Sel-sel pembunuh alami (NK), sejenis limfosit, memainkan peran utama dalam fase awal penolakan inang terhadap tumor dan sel yang terinfeksi virus. Saat diaktifkan oleh interferon atau sitokin yang diturunkan makrofag/ monosit,

NK melepaskan molekul sitotoksik seperti granzymes dan perforin, yang mengarah pada penghancuran dan pembunuhan yang mengikat diri sel dan virus. Selain molekul sitotoksik, NK mengeluarkan beberapa sitokin, termasuk IFN- γ , TNF- α , IL-12 dan HMGB1. IL-18 berkontribusi untuk pelepasan HMGB1 dari NK-stimulasi DC yang belum matang. Setelah dilepas, HMGB1 mempromosikan pematangan dan batas DC Sitotoksitas NK selama crosstalk DC imatur-NK. Crosstalk NK-DC yang dimediasi oleh HMGB1 penting dalam pengaturan infeksi HIV dan replikasi virus sebagian oleh penghambatan apoptosis.

Selain sekresi, sel NK bisa secara pasif melepaskan HMGB1 setelah kerusakan hati toksik akut, yang bergantung pada CXCR3. Selain itu, pengikatan HMGB1 ke TLR4 meningkatkan ekspresi alami ligan kelompok pembunuh 2D (NKG2D) oleh sel epitel tubulus ginjal. HMGB1 dikombinasikan dengan sitokin lain (IL-2, IL-1, atau IL-12) berkontribusi pada rilis IFN- γ dari sel NK yang distimulasi makrofag. Temuan ini menunjukkan HMGB1 mengatur fungsi sel NK pada berbagai tingkatan seperti sitotoksitas, pelepasan sitokin, dan ekspresi ligan (Tasca, 2018; Kang, 2014; Ingrid, 2005).

Sel T dapat melepaskan HMGB1 sebagai respons terhadap beberapa rangsangan atau kontak sel-sel dalam kultur bersama. Selain itu, HMGB1 dilepas dari DC mengatur polarisasi sel T CD4+ dan memediasi sel-sel interaksi. Dalam sebuah penelitian, tingkat sirkulasi HMGB1 meningkat selama infeksi HIV dan secara positif berhubungan dengan *Viral Load* (VD) yang tinggi. HMGB1 secara pasif dilepaskan oleh sel yang terinfeksi virus termasuk sel T CD4 primer yang terinfeksi dengan HIV, dan ini dikaitkan dengan kematian sel nekrotik dan apoptosis.

HMGB1 juga dapat dilepaskan oleh sel T CD4 apoptosis yang tidak terinfeksi yang dimatikan melalui sebuah proses oleh peneliti, yang terutama disebabkan oleh protein yang dikodekan dan oleh aktivasi kekebalan kronis terkait HIV. Peningkatan level HMGB1 yang bersirkulasi dan terdeteksi pada infeksi HIV progresif, dikombinasikan dengan produk mikroba (seperti LPS) dan ligan TLR, dapat berkontribusi terhadap peradangan usus dan translokasi mikroba

berikutnya, yang memiliki peran penting dalam patogenesis HIV (Kang, 2014; Ingrid, 2005).

HMGB1 pada kadar yang rendah tidak berpengaruh pada aktivitas proliferasi sel T CD4+, tetapi mempromosikan produksi sitokin Th1. HMGB1 memediasi proliferasi T sel, termasuk CD4 + dan CD8 +, sebagai respons terhadap stimulasi antibodi anti-CD3 yang kurang optimal. Selain sel T efektor, HMGB1 mengatur proliferasi, fungsi, dan keseimbangan sel T regulator (misalnya Treg dan Th17). Misalnya, HMGB1 menghambat ekspresi CTLA4 dan Foxp3, serta rilis IL-10 dalam sel Treg dengan cara RAGE-dependent (Kang, 2014).

HMGB1 adalah *chemoattractant* untuk Treg dan mempromosikan kelangsungan hidup dan fungsi supresifnya, menunjukkan peran pro-tumor HMGB1 dalam lingkungan mikro tumor. HMGB1 menekan kekebalan antitumor tergantung sel T CD8 melalui meningkatkan penekanan kekebalan yang dimediasi Treg oleh produksi IL-10 . Namun, dalam beberapa kasus, pengobatan HMGB1 menginduksi ekspresi downregulasi Treg. Temuan ini menunjukkan peran ganda dari HMGB1 dalam peraturan Treg. Sebaliknya, HMGB1 mempromosikan proliferasi sel Th17, diferensiasi, dan aktivasi dalam pengaturan beberapa penyakit autoimun dan inflamasi, seperti rheumatoid arthritis, miokarditis, akut injeksi allograft, hepatitis B kronis (Kang, 2014).

2.8 HUBUNGAN ANTARA RESEPTOR VITAMIN D, EKSPRESI mRNA RESEPTOR VITAMIN D DAN HMGB1

Bentuk aktif vitamin D3 (1,25(OH)₂D₃) mempunyai efek imunomodulator signifikan dan merupakan determinan penting dalam diferensiasi sel T efektor CD4. Efek biologis 1,25(OH)₂D dimediasi oleh VDR dan berkaitan dengan kadar ekspresi protein VDR. Penelitian yang dilakukan oleh Kongsbak, et al (2014) menemukan bahwa sel T CD4 yang teraktivasi memiliki kemampuan untuk merubah 25(OH)D inaktif menjadi 1,25(OH)₂D yang akan meningkatkan ekspresi protein VDR sampai 2 kali lipat. 1,25(OH)₂D tidak meningkatkan ekspresi mRNA VDR tetapi meningkatkan waktu paruh protein VDR pada sel CD4 yang teraktivasi.

Diketahui $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ menginduksi redistribusi intraseluler yang bermakna dari VDR. Selain itu, $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ menstabilisasi kadar VDR dengan melindungi dari degradasi proteasomal. Inhibisi proteasomal menyebabkan *up regulation* protein VDR dan peningkatan aktivasi gen yang menginduksi $1,25(\text{OH})_2\text{D}$. $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ menginduksi peningkatan ekspresi 2 kali lipat pada sel T CD4 yang teraktivasi dengan melindungi VDR dari degradasi proteasomal. $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ meningkatkan kadar ekspresi VDR dengan meningkatkan waktu paruh VDR dan mean life time sampai 1,7 kali lipat (Kongsbak, et al, 2014). Penelitian terdahulu menunjukkan bahwa $1,25(\text{OH})_2\text{VitD}$ dapat meng-*up regulasi* VDR dengan meningkatkan ekspresi mRNA VDR (Kongsbak, 1985; Pan dan Price 1987; Zella, 2010; Mangelsdorf, 1987; Tiosano, 2013).

Pada penelitian Aguilar-Jimenez (2013), memperoleh hasil korelasi positif antara kadar $25(\text{OH})\text{D}$ dan mRNA VDR yang menunjukkan bahwa kadar vitamin D yang tinggi dapat menginduksi ekspresi vitamin D reseptor. Hal ini pun sesuai dengan penelitian yang dilakukan secara *in vitro* oleh Korf (2012) dan McMahon (2011). Pada penelitian yang dilakukan Zebing Rao (2017) melaporkan bahwa sekresi HMGB1 yang diinduksi LPS dihambat oleh $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ dengan penghambatan translokasi HMGB1 dari nukleus ke sitoplasma dalam makrofag. $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ dapat menginduksi heme-oksigenase1 yang berperan penting dalam menghambat translokasi HMGB1 di nukleus dan sekresinya. (Rao, Z, et al, 2017)

HMGB1 dapat berfungsi sebagai protein pengikat DNA dan sebagai mediator sitokin inflamasi yang disekresikan oleh sel imun seperti monosit, makrofag dan sel dendritik (Czura et al, 2001). Penelitian yang dilakukan oleh Nguyen (2016) mengenai HMGB1 dan reseptor vitamin D (VDR) pada defisiensi vitamin D dengan menggunakan subjek penelitian hewan coba babi. Dari hasil penelitian tersebut, didapatkan kadar HMGB1 yang tidak berbeda berdasarkan status vitamin D dan tipe sel. Disebutkan pula bahwa vitamin D tidak memiliki efek langsung pada HMGB1.

HMGB1 dianggap mempunyai peran inti dalam regulasi transkripsi gen yang dipengaruhi steroid meskipun tidak ada interaksi langsung dengan reseptor vitamin D VDR (Boonyaratanakornkit et al, 1998). Hal ini tidak menyingkirkan

kemungkinan keterkaitan antara HMGB1 dengan jalur pensinyalan vitamin D. (Toniato, 2015; Yamada, 2017). Menurut Nguyen (2016), keterkaitan kompleks antara Vitamin D, reseptor vitamin D atau VDR, dan HMGB1 mungkin ada namun belum diteliti.