

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. HIV

2.1.1 *Human Immunodeficiency Virus (HIV)/ Acquired Immune Deficiency Syndrome (AIDS)*

AIDS adalah sindroma penyakit yang terjadi karena penurunan daya tahan tubuh yang disebabkan oleh virus HIV.¹¹ Penyakit ini pertama kali dideskripsikan pada tahun 1981 dan isolasi virus berhasil dilakukan pada tahun 1983.¹²

Penularan virus HIV terjadi karena hubungan seksual, cairan darah dan ibu ke anak. Penularan lewat seksual terjadi karena cairan sperma maupun vagina yang mengandung virus. Penetrasi seksual menimbulkan mikrolesi yang menyebabkan masuknya virus ke dalam aliran darah. Diperkirakan 0,1-1% hubungan seksual berisiko menularkan virus HIV.¹³ Penggunaan kondom mengurangi risiko penularan secara signifikan. Penularan lewat transfusi darah terjadi karena darah tercemar. Risiko penularan pada kasus ini antara 90-98%. Kasus transfusi tercemar terjadi ketika HIV belum terdeteksi sekitar tahun 1985. Setelah 1996 dimana tes *screening* diberlakukan, risiko infeksi lewat transfusi menjadi sangat kecil.¹¹ Tertusuk jarum yang baru dipakai orang terinfeksi mempunyai risiko 0,03%, mukosa yang terpapar cairan darah penderita mempunyai risiko 0,0051%. Penggunaan jarum bersama dengan penderita pengguna narkoba mempunyai risiko penularan 7-30%. Penularan selama kehamilan, persalinan dan

menyusui mempunyai resiko penularan 40 - 65%.¹³ Daya penularan pengidap HIV tergantung pada sejumlah virus yang ada didalam darahnya, semakin tinggi/semakin banyak virus dalam darahnya semakin tinggi daya penularannya sehingga penyakitnya juga semakin parah.¹⁴

Virus HIV merupakan virus RNA dalam famili retrovirus. Tiap untai RNA mengandung 9 gen yaitu gag, pol, env, vif, vpr, vpu, rev, tat, dan nef. Tiga gen pertama adalah gen utama yang untuk proses replikasi virus. 6 gen berikutnya adalah gen tambahan yang berfungsi pada ekspresi virus.¹¹ Genomiknya merupakan *single strand* RNA. RNA dikelilingi oleh kapsul kerucut terdiri dari 2000 kopi protein p24 dan gp17 yang bulat, kemudian dikelilingi selubung (*envelope*) dari membrane lipid dengan tiap sub unit terdapat 2 lapis glikoprotein gp120 dan gp41. Glikoprotein tersebut merupakan reseptor yang memungkinkan terjadinya perlekatan dengan permukaan penjamu.¹⁵ Replikasi dengan bantuan *reverse transcriptase* yang membuat kopi DNA dari gen RNA.

Virus HIV tidak aktif dalam 10 menit pada suhu ruang bila dipapar: 10% larutan pemutih, 50% ethanol, 35% isopropanol, 1% ninodet, 0,5% lysol, 0,5% paraformaldelhide atau 0,3 hidrogen peroksida. Virus juga tidak aktif pada suhu ekstrim, kesamaan (PH) 1 kebawah atau PH 13 ke atas. Gumpalan darah dalam spuit atau jarum memerlukan kurang lebih 30 menit untuk inaktivasi virus. Virus juga inaktif dalam 10% serum dengan pemanasan 56⁰C dalam 10 menit.¹⁵

2.1.2. Patogenesis

Target virus HIV adalah pada sel yang mempunyai reseptor sel T CD4, dan efek dari metabolisme virus membuat terjadinya proses disfungsi sel T CD4, sehingga jumlah maupun fungsinya akan menurun. Sel T CD4 terdapat dalam darah seperti sel limfosit T, monosit, makrofag, dalam sel saraf seperti sel dendrite, astrosit, dan mikroglia serta dalam kulit seperti sel Langerhan's.¹⁶ Sel Limfosit T memiliki reseptor sel T CD4 serta ko reseptor kimia paling banyak sehingga menjadi target utama virus. Ko-reseptor CC *chemocine reseptor 5* (CCR5) dan CXC *chemokine reseptor 4* (CXCR4) merupakan ko-reseptor lini kedua yang sangat penting membantu masuknya virus ke dalam sel.¹⁷

Struktur dinding virus dikelilingi gp120 yang terdiri dari 2 bagian yang tidak stabil disebut region V dan bagian yang stabil disebut region C. Afinitas virus terjadi terutama pada V3. Penetrasi dalam sel dimulai dengan ikatan gp120 virus dengan sel T CD4. Ikatan ini akan diikuti perlekatan gp41 dengan CCR5. Ikatan CCR5 dengan virus dan inhibitorynya menjadi studi yang intensif dilakukan saat ini dalam upaya penemuan obat HIV/AIDS.¹⁸ Setelah ikatan gp120 dan sel T CD4, gp41 berikatan dengan CCR5 untuk mengawali terjadinya fusi dinding virus dengan penjamu.¹¹ Setelah melakukan fusi RNA virus masuk ke dalam sitoplasma penjamu.

Virus berhasil masuk ke dalam sel target, kemudian virus HIV merubah diri dari *single strand RNA* (ssRNA) menjadi *double strand*. Enzym *reverse transcriptase* akan memakai RNA sebagai cetakan untuk mensintesis

DNA. Kemudian RNA dipindahkan oleh enzim ribonuklease untuk mencetak DNA satu kali lagi sehingga terbentuk dua rantai DNA (*double strand DNA*) yang disebut provirus. Provirus masuk *nucleus* menyatu dengan kromosom penjamu, provirus tidak langsung aktif. Pengaktifan provirus dilakukan oleh penjamu sendiri. Fase berdiam itu dapat berjalan 2 - 10 tahun.¹¹ Bila penjamu terangsang oleh antigen, sitokin atau faktor lain, maka sel akan memacu *Nuclear Factor Kappa B* (NF-κB) menjadi aktif dan menstimulasi replikasi DNA virus HIV. Antigen yang mengaktifkan NF-κB berasal dari mikroorganisme lain yang menginfeksi sekunder seperti virus, bakteri dan jamur. Sehingga infeksi sekunder pada pasien dengan infeksi HIV akan merangsang replikasi virus.¹⁵

Di dalam sel, virus berkembangbiak dan pada akhirnya menghancurkan sel serta melepaskan partikel virus yang baru. Partikel virus yang baru kemudian menginfeksi limfosit lainnya dan menghancurkannya. Limfosit T sendiri mempunyai fungsi untuk mengaktifkan dan mengatur sel-sel lainnya pada sistem kekebalan (misalnya limfosit B, makrofag dan limfosit T sitotoksik), yang kesemuanya membantu menghancurkan sel-sel ganas dan organisme asing. Infeksi HIV menyebabkan hancurnya limfosit T penolong, sehingga terjadi kelemahan sistem tubuh dalam melindungi dirinya terhadap infeksi dan kanker. Seseorang yang terinfeksi oleh HIV akan kehilangan limfosit T melalui 3 tahap selama beberapa bulan atau tahun.^{19,20,21}

Fase Infeksi Akut (Sindroma Retroviral Akut)

Keadaan ini disebut juga infeksi primer HIV. Awalnya, seseorang yang sehat memiliki limfosit T CD4 sebanyak 800-1300 sel/mL darah. Beberapa bulan pertama setelah terinfeksi HIV, jumlahnya menurun sebanyak 40-50%. Selama bulan-bulan ini penderita bisa menularkan HIV kepada orang lain karena banyak partikel virus yang terdapat di dalam darah. Meskipun tubuh berusaha melawan virus, tetapi tubuh tidak mampu meredakan infeksi. Kemudian, setelah sekitar 6 bulan, jumlah partikel virus di dalam darah mencapai kadar yang stabil, dengan kadar yang berlainan pada setiap penderita.¹⁴

Fase Infeksi Laten

Setelah terjadi infeksi primer HIV akan timbul respons imun spesifik tubuh terhadap virus HIV. Sel sitotoksik B dan limfosit T memberikan perlawanan yang kuat terhadap virus sehingga sebagian besar virus hilang dari sirkulasi sistemik. Sesudah terjadi peningkatan respons imun seluler, akan terjadi peningkatan antibodi sebagai respons imun humoral. Selama periode terjadinya respons imun yang kuat, lebih dari 10 milyar HIV baru dihasilkan tiap harinya, namun dengan cepat virus-virus tersebut dihancurkan oleh sistem imun tubuh dan hanya memiliki waktu paruh sekitar 5–6 jam.¹⁴

Fase Infeksi Kronis

Selama berlangsungnya fase ini, di dalam kelenjar limfa terus terjadi replikasi virus yang diikuti dengan kerusakan dan kematian sel dendritik folikuler serta sel limfosit T CD4 yang menjadi target utama dari virus HIV

oleh karena banyaknya jumlah virus. Fase ini akan terjadi peningkatan jumlah virion secara berlebihan di dalam sirkulasi sistemik. Jumlah sel limfosit T CD4 menurun hingga dibawah 200 sel/mm³, jumlah virus meningkat dengan cepat sedangkan respons imun semakin tertekan sehingga pasien semakin rentan terhadap berbagai macam infeksi sekunder yang dapat disebabkan oleh virus, jamur, protozoa atau bakteri.¹⁴

2.1.3. Tanda dan gejala

Infeksi virus HIV mempunyai beberapa tanda dan gejala yang dapat dibedakan berdasarkan stadium.²²

- a. Stadium I tidak menimbulkan gejala/ *asimptomatis*, dan dapat melakukan aktivitas normal pada penampilan klinisnya.
- b. Stadium II, penderita mengalami penurunan berat badan 10%, manifestasi mukokutaneus minor (dermatitis seboroika, prurigo, jamur kuku, ulserasi mulut berulang), herpes zoster pada 5 tahun terakhir, infeksi saluran nafas atas yang berulang.
- c. Stadium III (HIV/AIDS *wasting syndrome*), penderita mengalami infeksi toksoplasma otak, diare cryptosporidiosis lebih 1 bulan, infeksi sitomegalovirus, infeksi herpes simplek dan gejala mukokutaneus lebih 1 bulan, kandidiasis oral, TBC, pneumonia, infeksi mikosis, kandidiasis esophagus, infeksi mikosis, kandidiasis esophagus, infeksi mikrobakterial atypik, limfoma maligna, sarcoma kaposi.

2.1.4. Terapi ARV

Setelah dinyatakan terinfeksi HIV maka pasien perlu segera ditindak lanjuti dengan cara menjalankan serangkaian layanan meliputi, penilaian stadium klinis, penilaian imunologi dan penilaian *virology*. Hal tersebut dilakukan untuk menentukan pasien apakah sudah memenuhi syarat untuk terapi antiretroviral (ARV), menilai status supresi imun pasien, menentukan infeksi oportunitik yang pernah ada dan sedang terjadi, serta menentukan paduan obat ARV yang sesuai.

Terdapat persyaratan yang terpeting sebelum melakukan terapi ARV adalah pasien harus di persiapkan secara matang dengan konseling kepatuhan karena terapi ARV berlangsung seumur hidup.

ODHA yang akan memulai terapi ARV dengan sel T CD4 di bawah 200 sel/mm³ dianjurkan untuk memberikan kotrimoksasol 2 minggu sebelum ARV. Hal tersebut berguna untuk tes kepatuhan pasien dalam minum obat serta menyingkirkan efek samping yang tumpang tindih antara kotrimoksasol dengan obat ARV, mengingat banyak obat ARV mempunyai efek samping yang sama dengan efek samping kotrimoksasol.

Table 2. Pemberian Kotrimoksasol Primer Sebagai Profilaksis Primer

Indikasi	Saat Penghentian	Dosis	Pemantauan
Bila tidak tersedia pemeriksaan jumlah sel T CD4, semua pasien di berikan kotrimoksasol segera setelah dinyatakan HIV positif	2 tahun setelah penggunaan kotrimoksasol jika mendapatkan ARV	960 mg/hari dosis tunggal	Efek samping berupa tanda hipersensitivitas seperti demam, rash, sindrom steven Johnson, tanda penekanan sumsum tulang seperti anemi,
Bila tersedia pemeriksaan jumlah sel T CD4, kotrimoksasol	Bila sel T CD4 naik >200 sel/mm ³ pada pemeriksaan dua kali		

diberikan pada pasien dengan jumlah CD4 <200 sel/mm ³	interval 6 bulan berturut-turut jika mendapatkan ARV		trombositopeni, lakopeni, pansitopeni, reaksi obat dengan ARV dan obat lain yang di gunakan dalam pengobatan penyakit terkait HIV
Semua bayi lahir dari ibu hamil positive HIV berusia 6 minggu	Dihentikan pada usia 18 bulan dengan hasil tes HIV negatif , jika tes HIV positif dihentikan pada usia 18 bulan jika mendapatkan terapi ARV	Trimetropim 8-10 mg/kg BB dosis tunggal	

Untuk memulai terapi anteropiral (ARV) perlu dilakukan pemeriksaan jumlah sel T CD4 (bila tersedia) dan penentuan stadium klinis infeksi HIV-nya. Hal tersebut adalah untuk menentukan penderita sudah memenuhi syarat terapi anteropiral atau belum. Berikut ini adalah cara memulai terapi ARV pada ODHA.

Tabel 3. Saat Mulai Terapi Pada ODHA Dewasa

Tempat populasi	Stadium klinis	Jumlah sel T CD4	Rekomendasi
ODHA dewasa	Stadium klinis 1 dan 2	>350 sel/mm ³	Belum mulai terapi. Monitor gejala klinis dan jumlah sel T CD4 setiap 6-12 bulan
		<350 sel/mm ³	Mulai terapi
	Stadium klinis 3 dan 4	Berapapun jumlah sel T CD4	Mulai terapi
Pasien dengan infeksi TB	Apapun stadium klinis	Berapapun jumlah sel T CD4	Mulai terapi
Pasien dengan infeksi hepatitis B kronik aktif	Apapun stadium klinis	Berapapun stadium klinis	Mulai terapi
Ibu hamil	Apapun stadium klinis	Berapapun jumlah sel T CD4	Mulai terapi

Banyak obat yang bisa digunakan untuk menangani infeksi HIV dengan terapi ARV, diantaranya adalah:²³

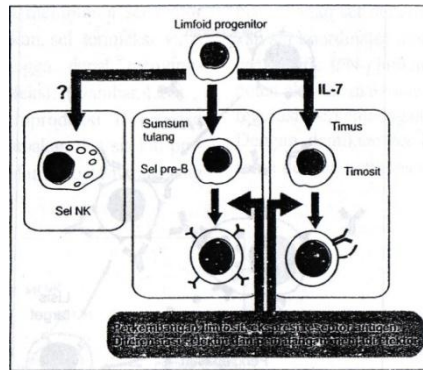
- *Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitor* (competitor *enzyme reverse transcriptase* pada pembentukan DNA virus):
 - AZT (zidovudin) - ddI (didanosin)
 - ddC (zalcitabin) - d4T (stavudin)
 - 3TC (lamivudin) - Abakavir
- *Non-Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitor* (Menutup rantai *enzyme* sehingga pembentukan DNA virus terganggu):
 - Nevirapin - Delavirdin
 - Efavirenz (EVP)
- *Protease Inhibitor* (Menghambat pembentukan kapsul virus):
 - Saquinavir - Ritonavir
 - Indinavir - Nelfinavir

2.2. Respon Imun Terhadap Infeksi HIV

2.2.1. Sel NK

Infeksi virus, termasuk infeksi HIV, dapat menimbulkan beberapa mekanisme alami pertahanan tubuh. Mekanisme yang terjadi pada imun non spesifik seperti sel NK mampu melakukan apoptosis pada sel yang terlanjur terinfeksi oleh virus HIV. Ketika virus berhasil mengubah reseptor pada permukaan sel dengan menurunkan ekspresi MHC sehingga sel terinfeksi tidak dikenal oleh CD8, sel NK justru akan mengidentifikasi ketidaknormalan ini dan memusnahkan sel terinfeksi.⁸

Sel NK berkembang dari sel asal progenitor yang sama dengan sel T dan sel B, namun bukan sel progenitor sel T dan sel B. Gambar dibawah ini menggambarkan perkembangan sel NK dengan asal progenitor limfoid.



Gambar 01. Perkembangan Sel NK Asal Progenitor Limfoid⁸

Istilah NK (*Natural Killer*) berasal dari kemampuannya yang mampu membunuh berbagai sel tanpa bantuan untuk aktivitasnya. Sel NK juga bermigrasi ke organ limfoid perifer, seperti limpa dan kelenjar getah bening.

Sel NK juga mengandung perforin atau sitolisin, sejenis C9 yang dapat membuat lubang-lubang kecil (perforasi) yang mengikat perforin, mencegah insersi dan polimerasi dalam membrane sehingga sel NK sendiri terhindar dari efek perforin tersebut.

Sel NK mempunyai reseptor untuk komplemen C3/TCR dan reseptor Fc. Sel NK bersifat non-fagositik, dan secara fenotip berbeda dengan limfosit T maupun sel B, yaitu tidak memiliki CD3/TCR. Sel NK memiliki penanda permukaan CD16 (yang merupakan reseptor untuk Fc) dan CD56. Ciri permukaan CD16⁺ dan atau CD56⁺ tanpa CD3 (CD16⁺/CD56⁺CD3⁻) saat ini digunakan untuk memastikan bahwa sel tersebut adalah sel NK.²⁴

Aktivasi sel NK diatur oleh keseimbangan antara sinyal yang terjadi melalui reseptor aktivasi (*activating receptor*) dan reseptor penghambat (*inhibitory receptors*). Reseptor aktivasi pada sel NK mencakup berbagai molekul dengan struktur yang berbeda-beda. CD16 seperti disebut diatas, adalah salah satu reseptor aktivasi yang merupakan reseptor afinitas rendah untuk IgGFc, dan bertanggung jawab atas proses ADCC (*antibody-mediated-cellular-cytotoxicity*). Reseptor penghambat (*inhibitory receptor*) terdiri atas 3 keluarga yang memiliki satu kesamaan umum yaitu adanya *immunoreceptor tyrosine-based inhibition motifs* (ITIMs) dalam sitoplasmanya. ITIMs penting untuk fungsi pensinyalan molekul-molekul reseptor ini, dan sesuai dengan fungsinya aktivasi reseptor penghambat mengakibatkan pengurangan pensinyalan reseptor aktivasi.

Banyak dari reseptor-reseptor sel NK tersebut mengenali molekul MHC kelas I atau protein yang secara struktural homolog dengan MHC kelas I. MHC kelas I mempresentasikan peptide yang berasal dari protein sitoplasmik, termasuk protein mikroba pada permukaan sel CD8+. Reseptor aktivasi pada permukaan sel NK mengenali berbagai ligans heterogen yang diekspresikan pada sel yang mengalami stress, sel yang terinfeksi virus atau mikroba intraseluler, atau sel yang mengalami transformasi ganas. Sebaliknya reseptor penghambat pada sel NK mengenali atau berikatan dengan MHC kelas I yang dalam keadaan normal diekspresikan pada sel sehat yang tidak terinfeksi.²⁴

Reseptor sel NK untuk pengikatan pada sel sasaran belum diketahui pasti, tetapi akhir-akhir ini ada bukti-bukti bahwa pengenalan sel sasaran terjadi melalui reseptor yang mengikat molekul semacam lektin, yang disebut NKR-PI. Ligand NKR-PI ini diekspresikan pada hampir semua jaringan normal, sehingga perlu ada mekanisme untuk mencegah lisis sel-sel normal ini oleh sel NK.²⁴

Sel NK diduga berkembang dalam sumsum tulang, namun hingga saat ini belum ditemukan penanda permukaan bagi sel induknya. Ada dugaan bahwa sel NK dan sel T berasal dari induk yang sama (*common thymocyte precursor*).²⁴

Lisis sel sasaran oleh sel NK dapat terjadi dalam waktu beberapa menit setelah paparan. Mekanisme sitolisis berlangsung dalam 4 tahap, mirip dengan sitolisis oleh sel efektor lain. Tahap-tahap tersebut yaitu,

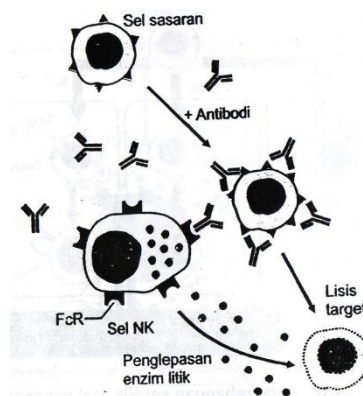
1. pengikatan sel sasaran,
2. aktivasi sel efektor melalui sinyal dan transduksi sinyal,
3. melancarkan *lethal hit* kepada sel sasaran,
4. penglepasan sel NK dari sel sasaran dan siklus ulang.

Sel NK mempunyai peranan dalam sistem imun nonspesifik selular, yang dapat ditemukan dalam sirkulasi atau jaringan. Berdasarkan komponennya, sel NK mempunyai tugas utama, yaitu melisis sel terinfeksi, dan membantu dalam aktivasi makrofag.

Sel NK mengandung dan melepaskan granula-granula berisikan TNF- β dan protease serin yang disebut granzim, contohnya fragmentin yang

merupakan protein sitotoksik. Sel NK mengenal dan kemudian membunuh sel terinfeksi atau sel yang menunjukkan transformasi ganas, tetapi tidak membunuh sel sendiri yang normal oleh karena dapat membedakan sel sendiri dari sel yang potensial berbahaya. Hal tersebut dimungkinkan oleh reseptornya berupa reseptor inhibitor dan reseptor aktivasi.

Sel NK yang memiliki reseptor aktivasi dapat menjadi pembunuh poten sel yang terinfeksi virus, jamur dan tumor secara langsung, tanpa bantuan komplemen. Fenomena ini disebut ADCC (*Antibody Dependent Cell Cytotoxicity*). Makrofag dan neutrofil juga dapat berperan pada ADCC. Proses ADCC dapat dideskripsikan pada gambar dibawah ini.



Gambar 02. ADCC⁸

Proses ADCC pertama kali digambarkan sel NK yang memiliki Fc γ -R, Fc γ -RIII atau molekul CD16 untuk mengikat sel yang dilapisi antibodi. Sitokin seperti IFN- γ yang semuanya berperan dalam pembunuhan sel.

Sel NK memproduksi IFN- γ dan TNF- α yang merupakan dua sitokin pro-inflamasi poten dan mampu merangsang pematangan sel dendritik yang merupakan sel koordinator imunitas nonspesifik dan spesifik. IFN- γ juga

merupakan mediator poten aktivasi makrofag dan penting pada regulasi perkembangan Th. Jadi, sel NK juga bekerja sama dengan sel imun spesifik.

Interaksi Antara Sel NK dengan Sistem Imun Lain

Interaksi dalam hal ini, adalah interaksi yang dapat terjadi antara sel imun nonspesifik dan spesifik. Invasi mikroba memacu berbagai efektor nonspesifik dan sinyal inflamasi sehingga mikroba mudah diserang oleh berbagai molekul dan sel efektor.⁸

Liporisakarida (LPS) dari produk mikroba, IFN yang menjadi produk sel NK, dan sel T, memacu transkripsi gen APC untuk memproduksi IL-12 yang memacu diferensiasi sel T CD4 menjadi sel efektor Th1 yang memproduksi IFN- γ . Yang akhir meningkatkan fagositosis makrofag untuk membunuh mikroba dan merangsang sel B untuk memproduksi IgG yang bekerja sebagai opsosin dalam fagositosis.⁸

Sistem imun nonspesifik dan spesifik perlu kerjasama dalam interaksi dan sistem kooperasi yang sangat tinggi yang menghasilkan respon kombinasi yang lebih efektif. Sistem imun nonspesifik bekerja dengan cepat, dan fungsi ini sering diperlukan untuk merangsang kerja sistem imun spesifik.

Sel NK memberikan pertahanan pertama terhadap infeksi virus. Yang menjadi sasaran sel NK adalah partikel virus. Dalam hal interaksi ini, sel NK melisis sel terinfeksi virus dengan cara menyingkirkan infeksi yang diperlukan sampai sistem imun spesifik sel Tc dan antibodi dapat bekerja. Kadang infeksi virus dapat disingkirkan hanya oleh sel NK tanpa bantuan

imunitas spesifik. Sel NK yang diaktifkan juga merupakan sumber berbagai sitokin yang mengatur sel imun lainnya. Sel NK dapat memproduksi IFN- γ dan TNF- α yang merupakan sitokin imunoregulator poten. Sitokin yang diproduksi oleh sel NK tersebut dapat berfungsi untuk merangsang pematangan sel dendritik yang merupakan koordinator dalam inisiasi dan imunitas spesifik. IFN- γ juga merupakan mediator poten dalam aktivasi makrofag dan regulator perkembangan sel Th.

Aktivasi Sitotoksitas Sel NK dan Peran Terhadap Infeksi HIV

Virus HIV menginfeksi tubuh, dengan target utamanya pada sel yang mempunyai reseptor sel T CD4. Efek dari metabolisme virus membuat terjadinya proses disfungsi sel T CD4, sehingga jumlah maupun fungsinya akan menurun. Penurunan jumlah sel T CD4 dapat terjadi karena beberapa akibat, salah satunya adalah mekanisme *Natural Killer Cell* yang mengikat dan membunuh sel terinfeksi. Virus HIV yang masuk, ditangkap oleh makrofag, maka fragmen virus HIV dibawa sebagai antigen ke kelenjar getah bening (KGB). Sebagai *Antigen Presenting Cells (APC)*, antigen tersebut diekspresikan pada permukaan sel T dan B. Selanjutnya, sel T dan sel B bekerja sesuai fungsinya, yaitu mengaktifasi dan membantu kerja makrofag dan sel NK.⁴

Sebuah studi baru menunjukkan untuk pertama kalinya bahwa pembunuh alami (sel NK) merupakan bagian dari lini pertama pertahanan tubuh terhadap infeksi, yang berperan penting dalam kontribusi terhadap kekebalan infeksi HIV. Studi ini juga melaporkan bahwa jenis HIV yang

menginfeksi individu dengan molekul reseptor khusus pada sel NK, memiliki bentuk varian protein utama, yang menunjukkan bahwa virus telah bermutasi untuk menghindari aktivasi sel NK, karena sel NK mampu mengikat sel yang terinfeksi dan membunuh sel dengan melepaskan protein yang dapat merusak target. Sel NK mampu melakukan apoptosis pada sel yang terlanjur terinfeksi oleh virus HIV. Sel NK memiliki aktivitas sitotoksik yang sangat kuat oleh karena itu sel NK harus secara ketat dikontrol, sehingga membran sel mereka dipenuhi dengan reseptor pengaktivasi yang melepas tanggapan sel pembunuh dan reseptor penghambat yang menjaganya. Sel NK membunuh sel yang terinfeksi virus HIV melalui mekanisme *Antibody Dependent Cell Mediated Cytotoxicity (ADCC)*.⁴

Ketika virus berhasil mengubah reseptor pada permukaan sel dengan menurunkan ekspresi MHC sehingga sel terinfeksi tidak dikenal oleh CD8, sel NK justru akan mengidentifikasi ketidaknormalan ini dan memusnahkan sel terinfeksi.

Sel NK dapat mensekresi IL-1 dan atas rangsangan IL-2 ia mampu membunuh lebih banyak sel sasaran. IL-3 yang diproduksi oleh sel T merangsang sel NK untuk memproduksi IFN yang kemudian meningkatkan aktivitas sel NK lebih lanjut.²⁴

Kemampuan sel NK untuk menjadi sitotoksik, sel NK tidak perlu terpapar pada antigen sebelumnya. Sel NK dapat mengenal sel yang terinfeksi virus karena sel sasaran tersebut mengekspresikan molekul glikoprotein pada permukaan sel yang membedakannya dari sel normal.

Glikoprotein itu kemudian bertindak sebagai lektin yang mengikat sel NK melalui reseptor yang terdapat pada permukaan sel NK sehingga terjadi rangsangan. Sitolisis sel tumor terjadi karena dilepaskannya faktor sitotoksik (sitolisin atau perforin) yang berasal dari granula yang terdapat dalam sel NK. Granula itu juga mengandung serine protease yang berfungsi sebagai faktor sitotoksik sel NK. Tetapi, disamping itu di dalam granula juga terdapat zat yang tahan terhadap protease, yaitu kondroitin sulfat A, yang melindungi sel NK terhadap autolisis oleh substansinya sendiri.²⁵ Sel NK juga mengekspresikan reseptor penghambat (*inhibitory receptors*) yang mengenal molekul MHC kelas I, karena itu sel NK dihambat oleh sel-sel yang mengekspresikan MHC kelas I. Makna penting dari hal ini adalah adanya semacam upaya pencegahan agar sel NK tidak merusak sel normal karena semua sel berinti dalam tubuh mengekspresikan MHC kelas I.²⁴

2.2.2. Sitokin IFN- γ

Setelah sel NK mengidentifikasi mikroba, dan melakukan fungsinya seperti sitolitik, sel NK juga memproduksi IFN- γ yang merangsang makrofag menjadi aktif. Mekanisme ini dibantu oleh IL-12 yang merangsang sel NK untuk mensintesis IFN- γ . IFN- γ juga diproduksi oleh Th1 yang mengaktivasi sel NK dan makrofag.

IFN- γ dapat meningkatkan aktivitas sitotoksik sel NK dengan berbagai cara, diantaranya meningkatkan ekspresi molekul pengenalan pada permukaan sel sasaran, merubah sifat cairan yang ada dalam sel NK maupun sel sasaran sehingga kedua sel lebih mudah saling melekat, dan

meningkatkan produksi molekul-molekul sitolitik oleh sel NK. Fungsi utama IFN- γ dalam mengatur respon imun salah satunya untuk merangsang aktivitas sitolitik sel NK.²⁶

IFN- γ yang disebut interferon tipe II, diproduksi oleh sel T CD4, sel CD8⁺ dan sel NK teraktivasi. Transkripsi IFN- γ ini terjadi karena stimulasi antigen dan ditingkatkan oleh IL-2 dan IL-18. IL-12 dan IL-18 menunjukkan sinergisme yang jelas dalam induksi IFN- γ pada sel T. IL-12 meningkatkan ekspresi IL-18 pada sel yang memproduksi IFN- γ . Walaupun IL-18 menginduksi sel Th1, sitokin IFN- γ penting untuk induksi dan aktivitas Th1 oleh IL-12 secara efektif.²⁷

Walaupun IL-12 dan IL-18 mengaktivasi baik imunitas bawaan maupun imunitas didapat, produksi berlebihan sitokin ini oleh makrofag dapat menyebabkan kelainan multi-organ, termasuk gangguan sistem imun.²⁷

IFN- γ yang diproduksi oleh sel NK dapat berfungsi sebagai mediator respons imun bawaan dan berperan pada terjadinya *septic shock*. Fungsi utama IFN- γ dalam mengatur respon imun adalah:

- a. sebagai aktivator poten untuk fagosit mononuclear. IFN- γ secara langsung menginduksi sintesis enzim yang berperan pada *respiratory burst*, sehingga makrofag dapat membunuh mikroba yang ditelannya. IFN- γ meningkatkan reseptor untuk IgG (Fc γ RI) pada permukaan makrofag sehingga disebut *macrophage activating factor* (MAC).

- b. IFN- γ meningkatkan ekspresi molekul MHC kelas I, dan juga ekspresi MHC kelas II pada beberapa jenis sel. IFN- γ berperan penting dalam fase pengenalan respon imun.
- c. IFN- γ merangsang sel T untuk berdiferensiasi dan merangsang sel B untuk meningkatkan *class switching* yang menghasilkan IgG2a dan IgG3, tetapi menghambat *class switching* yang menghasilkan IgG1 dan IgE.
- d. IFN- γ juga mengaktivasi neutrofil dan meningkatkan *respiratory burst*,
- e. IFN- γ merangsang aktivitas sitolitik sel NK
- f. IFN- γ juga merupakan aktivator sel endotel, meningkatkan adhesi sel T CD4 dan perubahan morfologik yang memudahkan ekstravasasi limfosit. Dampak akhir dari semua aktivitas di atas adalah meningkatnya reaksi inflamasi yang penuh dengan makrofag, dan menghambat reaksi eosnofil yang bergantung pada IgE. Percobaan yang dilakukan pada mencit yang dihilangkan gen IFN- γ dan atau reseptornya yang menunjukkan, bahwa mencit itu mengalami berbagai defek imunologik, diantaranya peningkatan kerentanan terhadap infeksi dengan mikroorganisme intraselular, penurunan nitrit-oksida oleh makrofag, penurunan ekspresi molekul MHC kelas II pada permukaan makrofag setelah infeksi dengan *mycobacteria*, penurunan kadar IgG2 dan IgG3 dalam serum dan defek fungsi sel NK.^{25,27}

Peran IFN Pada Infeksi HIV

Infeksi virus disertai produk RNA pada infeksi HIV, dapat menginduksi sel terinfeksi untuk sekresi IFN- γ , melalui ikatan dengan TLR. IFN- γ berfungsi untuk mencegah replikasi virus dalam sel terinfeksi dan sel sekitarnya yang menginduksi lingkungan anti-viral. Sitokin IFN- γ yang diproduksi sel NK ini, juga mempunyai *feedback* positif terhadap sel NK sendiri, dimana sel NK dapat menjadi lebih aktif pada fungsinya. Produksi IFN- γ selama infeksi virus akan mengaktivasi sel NK dan meregulasi ekspresi MHC pada sel terdekat sehingga menjadi resisten terhadap infeksi virus.⁸ IFN- γ juga mempunyai pengaruh penting pada regulasi perkembangan Th. IFN- γ meningkatkan diferensiasi sel T CD4 naif ke subset Th1. Regulasi perkembangan Th ini, pada pasien yang terinfeksi HIV, mengalami perubahan aktivasi subset sel Th, seperti halnya pada sel T CD4 yang diikat oleh glikoprotein HIV yang kemudian akan terjadi penghancuran limfoid deplesi sel T CD4. Infeksi HIV mengakibatkan penghancuran limfoid deplesi sel T CD4. Disamping itu, terjadi disregulasi produk sitokin pada infeksi HIV juga akan mengakibatkan perubahan aktivasi sel T CD4. Beberapa studi menunjukkan bahwa proporsi sel Th1 (sekresi IL-2 dan IFN- γ) menurun dan proporsi sel Th2-like (sekresi IL-4 dan IL-10) meningkat pada pasien HIV. Perubahan ini dapat menjelaskan kerentanan pasien HIV terhadap infeksi mikroba intraselular karena IFN- γ berperan untuk aktivasi pemusnahan mikroba oleh makrofag.

Telah ditemukan bahwa parameter yang digunakan untuk mengukur progresivitas infeksi HIV tidak hanya *viral load* dan jumlah sel T CD4, namun kadar IFN- γ menjadi indikator untuk mengetahui progresivitas infeksi HIV.⁴ Keberadaan IFN- γ dan IL-2 secara bersama dapat menjadi indikator yang lebih baik dalam pemeriksaan imunologi pada infeksi HIV.⁹ Pemeriksaan ini sangat penting karena hal ini menunjukkan walau sel T CD4 masih rendah, adanya peningkatan IFN- γ dan IL-2 dapat menjadi acuan prognosa menuju perbaikan. IFN- γ dan IL-2 menjadi marker perantara yang dapat menggambarkan keadaan pasien mendatang. Sebaliknya sel T CD4 yang tinggi dengan IFN- γ dan IL-2 yang rendah menggambarkan resiko yang lebih buruk dimasa depannya.³⁰ Hal tersebut menjadi salah satu perhatian peneliti sebagai parameter yang menjadi untuk mempelajari lagi terapi untuk infeksi HIV.

2.3. Antioksidan

Oksidasi adalah jenis reaksi kimia yang melibatkan pengikatan oksigen, pelepasan hidrogen, atau pelepasan elektron. Proses oksidasi adalah peristiwa alami yang terjadi di alam dan dapat terjadi dimana-mana tak terkecuali di dalam tubuh kita. Antioksidan bersifat sangat mudah teroksidasi atau bersifat reduktor kuat dibanding dengan molekul yang lain. Jadi keefektifan antioksidan bergantung dari seberapa kuat daya oksidasinya dibanding dengan molekul yang lain. Semakin mudah teroksidasi maka semakin efektif antioksidan tersebut.⁹

Antioksidan merupakan suatu zat yang terdapat di dalam sel, pada membrane sel maupun di ekstrasel, yang mempunyai sifat menghambat atau mencegah

kemunduran, kerusakan atau kehancuran sel akibat reaksi oksidasi. Antioksidan mampu mengubah oksidan menjadi molekul yang tidak berbahaya atau menjadi molekul yang tidak dapat mempengaruhi jaringan vital. Antioksidan, dapat berupa enzim (katalase, superoksida, dismutase, glutathion peroksidase) dan zat “*scavenger*” seperti vitamin C, E, A dan senyawa *flavonoids*. Antioksidan menghambat kerja radikal bebas karena menyerahkan elektron untuk mengisi kekurangan pasangan elektron dari radikal bebas tanpa menjadi radikal bebas baru.

Berdasarkan kerjanya antioksidan dapat digolongkan menjadi 2 kelas:^{28,29}

Antioksidan penghambat reaksi (*preventing antioxidant*). Antioksidan yang menghambat rantai reaksi, meliputi enzim katalase, dan zat *chelation metal ions* seperti *dietilenetriaminopentaasetat* (DTPA) serta *etilenediaminetetraasetat* (EDTA). Antioksidan pemutus rantai reaksi (*chain breaking antioxidant*) ini bekerja sebagai pemutus rantai reaksi yang sering berupa senyawa fenol atau amin aromatic. Antioksidan pemutus rantai reaksi yang utama adalah enzim superoksida dismutase (SOD) dan vitamin E. Superoksida dismutase perannya menginaktifkan radikal bebas superoksida (O₂).

2.4. Kulit manggis (*Garcinia mangostana*)

2.4.1. Buah Manggis

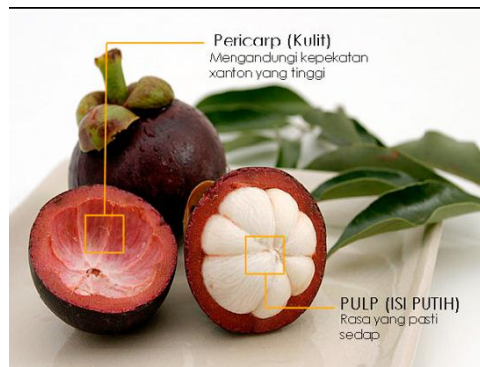
1. Klasifikasi Buah Manggis

Kingdom : Plantae

Divisi : Spermatophyta

Sub Divisi : Angiosperma

Kelas : Dicotyledonae
Ordo : Guttiferales
Famili : Guttiferae
Genus : *Garcinia*
Species : *Garcinia Mangostana*, L³⁰



Gambar 03. Buah Manggis dan Kulit Buah Manggis⁹

2. Morfologi

Tanaman manggis (*Garcinia Mangostana* Linn/GML) merupakan tanaman tropis berasal dari hutan tropis yang teduh di kawasan Asia Tenggara, yaitu hutan belantara Indonesia, Malaysia, India, Myanmar, Philipines, Sri Lanka dan Thailand.³¹

Tanaman manggis dapat tumbuh di dataran rendah sampai di ketinggian di bawah 1.000 m dpl. Pertumbuhan terbaik dicapai pada daerah dengan ketinggian di bawah 500-600 m dpl. Di Indonesia pusat penanaman pohon manggis adalah Kalimantan Timur, Kalimantan Tengah, Jawa Barat (Jasinga, Ciamis, Wanayasa), Sumatera Barat, Sumatera Utara, Riau, Jawa Timur dan Sulawesi Utara Tanaman ini mampu mencapai 6-25 meter dan mempunyai daun yang kasar serta lambat pertumbuhannya. Buah manggis berwarna ungu tua

dengan daging buah yang putih dan manis serta beraroma segar. Manggis dikenal sebagai “*the queen of fruits*” karena merupakan buah yang rasa dan aromanya sangat manis. Kulit manggis telah digunakan sebagai obat di daerah Asia Tenggara selama bertahun-tahun untuk mengobati infeksi dan luka, disertai amuba.^{30,32}

2.4.2. Kulit Manggis Sebagai Anti-Oksidan

Xanthone mampu mengikat oksigen bebas yang tidak stabil yaitu radikal bebas merusak sel di dalam tubuh sehingga *xanthone* dapat menghambat proses degenerasi (kerusakan) sel. *Xanthone* juga merangsang regenerasi (pemulihan) sel tubuh yang rusak dengan cepat sehingga membuat awet muda. Selain itu *xanthone* juga efektif mengatasi sel kanker dengan mekanisme apoptosis yaitu dengan memaksa sel memuntahkan cairan dalam mitokondria sehingga sel kanker mati. Senyawa *xanthone* juga mengaktifkan sistem kekebalan tubuh dengan merangsang sel NK dalam tubuh. Sel NK itulah yang secara alami bertugas membunuh sel kanker dan virus yang masuk dalam tubuh manusia.⁹

Beberapa senyawa utama kandungan kulit buah manggis yang dilaporkan bertanggungjawab atas beberapa aktivitas farmakologi adalah golongan *xanthone*. Senyawa *xanthone* yang telah teridentifikasi, diantaranya adalah 1,3,6,7-tetrahidroksi-7-metoksi-2,8-bis (3-metil-2-bufenil)-9H-xanten-9-on dan 1,3,6,7-tetrahidroksi-2,8-bis (3-metil-2-butenil)-9H-xanten-9-on. Keduanya lebih dikenal dengan nama alfa mangostin dan gamma-mangostin. Kandungan *xanthone* dari ekstrak larut dalam dikloromentana, yaitu 2 xanton terprenilasi teroksidasi dan 12 *xanthone* lainnya. Dua senyawa *xanthone* terprenilasi teroksidasi adalah 8-

hidroksikudraksanton G, dan mangostingon [7-metoksi-2-(3-metil-2-butenil)-8-(3-metil-2-okso-3-butenil)-1,3,6 terhidrosiksanton].²² Sedangkan keduabelas xanton lainnya adalah: kudrakson G, 8-deoksigartanin, garsimangostin B, garsinon D, garsinon E, gartanin, 1-isomangoston, gamma-mangostin, mangostinon, smeathxanthon A, dan tovofillin A.³¹

Senyawa *xanthone* merupakan substansi kimia alami yang dapat digolongkan dalam senyawa jenis fenol atau *polyphenolic*. Karena itulah, senyawa *xanthone* dapat digolongkan sebagai senyawa polar. Senyawa ini memiliki rumus molekul C₁₃H₈O₂, sehingga memiliki massa molar sebesar 196,1910 gram/ mol. Dalam penamaan menurut IUPAC, senyawa ini diberi nama *9H-xanthen-9-one*.¹⁰

Polifenol adalah kelompok antioksidan yang secara alami, umumnya banyak terkandung dalam kulit buah. Senyawa polifenol terdiri dari beberapa subkelas yakni, flavonol, isoflavon (dalam kedelai), flavanon, antosianidin, katekin, dan biflavan. Dua unsur terakhir merupakan antioksidan kuat, dengan kekuatan 4-5 kali lebih tinggi dibandingkan vitamin C dan vitamin E yang dikenal sebagai antioksidan potensial. Secara umum kekuatan senyawa fenol sebagai antioksidan tergantung dari beberapa faktor seperti ikatan gugus hidroksil pada cincin aromatik, posisi ikatan, posisi hidroksil bolak-balik pada cincin aromatik dan kemampuannya dalam memberi donor hidrogen atau electron serta kemampuannya dalam "merantas" radikal bebas (*free radical scavengers*). Semua polifenol mampu "merantas" oksigen dan radikal dengan memberikan donor elektron sehingga terbentuk radikal fenoksil yang relatif stabil. Ada hubungan antara kemampuan senyawa fenol sebagai antioksidan dan struktur kimianya.

Konfigurasi dan total gugus hidroksil merupakan dasar yang sangat mempengaruhi mekanisme aktivitasnya sebagai antioksidan.¹⁰

2.4.3. Uji Toksisitas

Uji Toksisitas akut dilakukan pada dosis 2,3g/kgberat badan dan 5 g/kg berat badan (BB) per oral pada hewan coba *swiss albino mice*, dan diobservasi gejala toksisitasnya pada jam ke-1,2,4 dan 6. Uji toksisitas subakut juga dilakukan dengan pemberian per oral selama 28 hari dengan dosis 0,50mg/kg BB, 500mg/kg BB, dan 1000 mg/kg BB. Hasilnya tidak menunjukkan tanda tanda patologis pada organ hewan coba.³³

2.4.4. Bioavailabilitas Zat Aktif Ekstrak Kulit Manggis

Penelitian bioavailabilitas a-mangostin pada manusia menunjukkan bahwa setelah mengkonsumsi peroral 59 ml suplemen liquid yang mengandung mangostin, *aloe vera*, *green tea* dan multivitamin menunjukkan kadar maksimum (C_{max}) adalah 3.12+1.47 ng/mL pada satu jam pertama (t_{max}) kemudian menurun ampai 1/3 dari C_{max} pada jam ke-4 dan kadar ini bertahan seama 6 jam . Berdasarkan penelitian tersebut, maka pada penelitian ini kapsul ekstrak buah manggis diberikan kepada subjek penelitian dengan dosis 3 kali 1 kapsul perhari.

2.4.5. Dosis Pada Manusia

Tabel konversi Lawrence dan Bacharach dan ekstrapolasi menggunakan luas permukaan tubuh, maka dosis manusia (dengan berat badan 70 kg) adalah 56/0.14 kali dosis pada tikus (BB = 200 gr) sama dengan 3200 mg/hari. Perhitungan pada manusia dengan BB 50 kg, maka dosis perhari adalah 50/70 x

3200 mg = 2286mg.⁵⁹ Penelitian ini menggunakan sediaan kapsul ekstrak etanol kulit buah manggis yang sudah beredar dipasaran (lampiran sertifikat) dan dosis tersebut hampir setara dengan 3 kali sehari 2 kapsul @400mg (=6x400mg=2400 mg perhari).^(60,61) Subjek penelitian diberi dosis minimum (sesuai dengan uji klinis fase II) yakni 3 kali sehari 1 kapsul @400mg, dengan jadwal yang disesuaikan dengan ketersediaan hayatinya (bioavailability) 50.52:

1. 1/2 jam sebelum makan pagi (sekitar jam 6:30)
2. 1/2 jam sebelum makan siang (sekitar 12:30)
3. 1/2 jam sebelum makan malam (sekitar 18:30)