



**UNIVERSITAS INDONESIA**

**PENGARUH PEMBERIAN LAKTOFERIN SAPI TERHADAP  
JUMLAH LIMFOSIT CD4<sup>+</sup> PASIEN HIV POSITIF DI  
RSUPNCM JAKARTA**

**TESIS**

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Magister**

**FLORENTINA MARIANE RAHARDJA**

**0806419775**

**FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS INDONESIA  
PROGRAM STUDI ILMU GIZI  
KEKHUSUSAN GIZI KLINIK  
JAKARTA, MEI 2010**

## LEMBAR PERNYATAAN ORISINALITAS

**Tesis ini adalah hasil karya saya sendiri,  
dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk  
telah saya nyatakan dengan benar.**

**Nama : FLORENTINA MARIANE RAHARDJA**

**NPM : 0806419775**

**Tanda tangan : **

**Tanggal : 26 Mei 2010**

## LEMBAR PENGESAHAN

Tesis ini diajukan oleh:

Nama : Florentina Mariane Rahardja  
NPM : 0806419775  
Program Studi : Ilmu Gizi, Kekhususan Gizi Klinik  
Judul Tesis : Pengaruh Pemberian Laktoferin Sapi Terhadap Jumlah Limfosit CD4<sup>+</sup> Pasien HIV Positif Di RSUPNKM Jakarta

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Magister pada Kekhususan Ilmu Gizi Klinik, Program Studi Ilmu Gizi, Program Pascasarjana Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.

### DEWAN PENGUJI

Pembimbing I	: dr. Lanny Lestiani, MSc, SpGK	(... <i>Lanny</i> ...)
Pembimbing II	: dr. Nanang Sukmana, SpPD-KAI	(... <i>Nanang</i> ...)
Penguji	: dr. Trevino Pakasi, MS, PhD	(... <i>Trevino</i> ...)
Penguji	: Drs. Yul Hasri, MS	(... <i>Yul Hasri</i> ...)
Penguji	: dr. Inge Permadhi, MS, SpGK	(... <i>Inge Permadhi</i> ...)
Penguji	: dr. Teguh H. Karjadi, SpPD-KAI	(... <i>Teguh H. Karjadi</i> ...)

Ditetapkan di : Jakarta

Tanggal : 26 Mei 2010

## KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Tuhan Yang Maha Kuasa atas berkat dan rahmat-Nya yang melimpah sehingga saya dapat menyelesaikan penelitian dan penyusunan tesis ini tepat pada waktunya. Tesis ini disusun dalam rangka memenuhi sebagian persyaratan untuk meraih gelar Magister Ilmu Gizi, Kekhususan Ilmu Gizi Klinik di Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.

Penelitian ini merupakan *preliminary study* dengan *pre-post study design* yang bertujuan untuk mengetahui pengaruh suplementasi laktoferin sapi terhadap jumlah limfosit CD4<sup>+</sup> pasien HIV positif di Poliklinik Kelompok Studi Khusus (POKDISUS) AIDS FKUI/RSUPNCM Jakarta. Hasil penelitian ini diharapkan bermanfaat bagi perkembangan Ilmu Gizi khususnya dalam upaya mewujudkan peran nyata Ilmu Gizi Klinik untuk menunjang kemajuan kesehatan para penderita HIV positif.

Penulis secara khusus patut mengucapkan terima kasih dan penghargaan setinggi-tingginya kepada dr. Lanny Lestiani, MSc, SpGK, selaku Pembimbing I sekaligus Ketua Program Studi Ilmu Gizi Klinik FKUI, dan dr. Nanang Sukmana, SpPD-KAI, selaku Pembimbing II yang sejak awal seminar tinjauan pustaka sampai selesainya penyusunan tesis ini dengan tekun dan penuh kesabaran senantiasa memberikan semangat, dorongan, perhatian, bimbingan dan pengarahan yang sangat berharga.

Ucapan terima kasih juga saya tujukan kepada dr. Victor Tambunan, MS, SpGK selaku Ketua Departemen Ilmu Gizi, dr. Erwin Christianto, MGizi, SpGK dan dr. Diana Sunardi, MGizi, yang menjabat sebagai Ketua Kekhususan Ilmu Gizi Klinik, beserta seluruh staf pengajar Ilmu Gizi, teman sejawat seangkatan, dan khususnya senior saya dr. Taufik Rahmadi, MGizi, serta seluruh karyawan di Departemen Ilmu Gizi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia atas segala arahan, bantuan dan saran yang diberikan dalam penyelesaian tesis ini.

Demikian pula saya sampaikan ucapan terima kasih kepada Prof. DR. dr. R. Sjamsuridjal Djauzi, SpPD-KAI, Prof. DR. dr. Zubairi Djoerban, SpPD-KHOM, DR. dr. Evy Yuniastuti, SpPD, dr. Okki Ramadian, SpPD, dr. Haridana Indah Mahdi, SpPD yang telah memberikan saya kesempatan untuk melakukan

penelitian di POKDISUS AIDS RSUPNCM. Kepada seluruh karyawan POKDISUS dan petugas laboratorium Patologi Klinik RSUPNCM juga tidak lupa saya ucapkan terima kasih, karena tanpa keterlibatan mereka, penelitian ini mustahil dapat selesai.

Selanjutnya ucapan terima kasih juga saya haturkan kepada dr. Savitri Sayogo, SpGK, dr. Evy Luciana, MEpid dan dr. Trevino Pakasi, MS, PhD, atas petunjuk dan saran serta bimbingan metodologi penelitian yang diperlukan dalam penelitian ini.

Tak lupa ucapan terima kasih juga ditujukan kepada dr. Inge Permadhi, MS, SpGK, dan Drs. Yul Hasri, MS, atas saran dan kritik yang berharga yang disampaikan dalam menyempurnakan tesis ini. Demikian pula kepada dr. Lestari R. Praptiwi Essen yang sangat berjasa menyiapkan kapsul laktoferin dalam penelitian ini, saya sampaikan terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya.

Hasil pendidikan dan tesis ini saya dedikasikan kepada kedua orang tua tercinta dr. Ekky M. Rahardja, MS, SpGK dan dr. Ayda Rahmad, MS, SpParK, terima kasih yang tak terhingga atas doa, kasih sayang, teladan, dan dukungan yang senantiasa diberikan selama saya mengikuti pendidikan ini.

Terima kasih juga saya sampaikan kepada kakak saya dr. Fransisca Widya Rahardja dan dr. Paul Kristiawan Pribadi, yang di tengah kesibukannya menjalani pendidikan tetap menyempatkan waktu membantu penelusuran pustaka serta memberikan doa, dukungan yang sangat berharga sehingga dua tahun pendidikan ini dapat saya lalui dengan baik.

Akhirnya, terima kasih yang setulusnya saya sampaikan pula kepada Hermawan Kamili, BSCE, M.Eng, M.B.A. atas doa, dukungan, dan saran yang diberikan dalam penyelesaian akhir tesis ini. Semoga Tuhan Yang Maha Pengasih membalas dengan melimpahkan berkat dan rahmatNya atas semua kebaikan yang diberikan kepada saya.

Jakarta, 21 Mei 2010

Penulis

**LEMBAR PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI  
KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

---

Sebagai sivitas akademik Universitas Indonesia, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Florentina Mariane Rahardja

NPM : 0806419775

Program Studi : Ilmu Gizi

Fakultas : Kedokteran

Jenis Karya : Tesis

demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia **Hak Bebas Royalti Noneksklusif (Non-exclusive Royalty- Free Right)** atas karya ilmiah saya yang berjudul:

**PENGARUH PEMBERIAN LAKTOFERIN SAPI TERHADAP JUMLAH  
LIMFOSIT CD4<sup>+</sup> PASIEN HIV POSITIF DI RSUPNCM JAKARTA**

berserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat, dan memublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Dibuat di Jakarta

Pada tanggal 26 Mei 2010

Yang menyatakan



(Florentina Mariane Rahardja)

## ABSTRAK

**Nama** : Florentina Mariane Rahardja  
**Program studi** : Ilmu Gizi, Kekhususan Gizi Klinik  
**Judul** : Pengaruh pemberian laktoferin sapi terhadap jumlah limfosit CD4<sup>+</sup> pasien HIV positif di RSUPNKM Jakarta

Tujuan penelitian awal ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian laktoferin sapi terhadap jumlah limfosit CD4<sup>+</sup> penderita HIV positif dewasa. Penelitian dilakukan di POKDISUS AIDS RSUPNKM Jakarta, mulai bulan Februari 2010 sampai dengan bulan April 2010. Dua puluh delapan subyek yang diseleksi dari pasien HIV positif dengan metode *consecutive sampling* mengikuti penelitian ini dari awal sampai akhir. Semua subyek diberi kapsul berisi 200 mg laktoferin sapi. Kapsul diminum setiap hari satu butir selama enam minggu. Data dikumpulkan sebelum dan sesudah pemberian kapsul laktoferin melalui wawancara, pengukuran antropometrik, dan pemeriksaan laboratorium darah untuk penentuan jumlah limfosit CD4<sup>+</sup>. Data asupan makanan ditentukan dengan menggunakan metode *food recall* 1x24 jam dan *food record* 3x24 jam pada awal dan akhir penelitian.

Nilai rerata jumlah limfosit CD4<sup>+</sup> sebelum pemberian laktoferin adalah  $231,85 \pm 122,89$  sel/ $\mu$ L dan meningkat menjadi nilai median 236,50 sel/ $\mu$ L (50,00–731,00 sel/ $\mu$ L) sesudah enam minggu perlakuan. Uji Wilcoxon terhadap kedua nilai tersebut, tidak berbeda bermakna ( $p=0,22$ ). Sebelum diberikan laktoferin, nilai rerata jumlah limfosit CD4<sup>+</sup> subyek yang belum mendapat ARV adalah  $302,33 \pm 132,79$  sel/ $\mu$ L dan meningkat menjadi  $345,33 \pm 202,33$  sel/ $\mu$ L pada akhir penelitian. Respon serupa ditemukan pula pada subyek yang telah mendapat ARV di mana jumlah limfosit CD4<sup>+</sup> sebelum pemberian laktoferin adalah  $178,00 \pm 84,77$  sel/ $\mu$ L, dan sesudahnya meningkat menjadi  $204,38 \pm 122,66$  sel/ $\mu$ L. Uji t berpasangan terhadap peningkatan jumlah limfosit CD4<sup>+</sup> antara subyek yang sudah dan belum mendapat ARV, ternyata tidak berbeda bermakna ( $p=0,12$ ). Perbaikan jumlah limfosit CD4<sup>+</sup> sesudah pemberian laktoferin terjadi pada 7 (58,33%) dari 12 subyek yang belum mendapat ARV dan pada 9 (56,25%) dari 16 subyek yang mendapat ARV. Uji Chi-Square menunjukkan bahwa perbaikan jumlah limfosit CD4<sup>+</sup> pada kedua kelompok tersebut tidak berbeda bermakna ( $p=0,91$ ). Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa sesudah intervensi laktoferin selama enam minggu, terjadi peningkatan nilai rerata jumlah limfosit CD4<sup>+</sup> dibandingkan keadaan sebelumnya namun secara statistik, perubahan tersebut tidak berbeda bermakna. Meski secara statistik tidak berbeda bermakna, peningkatan jumlah limfosit CD4<sup>+</sup> tersebut mempunyai manfaat klinis. Argumentasi ini didukung oleh data yang menunjukkan adanya perbaikan jumlah limfosit CD4<sup>+</sup> pada 7 dari 12 subyek yang belum mendapat ARV dan juga pada 9 dari 16 subyek yang sudah mendapat ARV tetapi hampir selama dua tahun diobati, jumlah limfosit CD4<sup>+</sup> nya tidak meningkat.

**Kata-kata kunci:** HIV-positif, laktoferin sapi, jumlah limfosit CD4<sup>+</sup>

## ABSTRACT

**Name** : Florentina Mariane Rahardja  
**Study program** : Nutrition, Clinical Nutrition  
**Title** : The effect of bovine lactoferrin administration on CD4<sup>+</sup> lymphocyte count of HIV-positive patients at RSUPNCM Jakarta

The aim of this preliminary study is to find out the effect of bovine lactoferrin administration on CD4<sup>+</sup> lymphocyte count of adult HIV-infected patients. The study was conducted from February to April 2010, at POKDISUS AIDS Department of Internal Medicine, Central District Cipto Mangunkusumo National General Hospital (RSUPNCM) Jakarta. Subjects were selected from HIV-positive patients and only 28 were fully participated in the study. Capsules containing 200 mg of bovine lactoferrin were taken orally by all subjects once a day for six weeks. Data were collected before and after bovine lactoferrin administration by interview, anthropometric measurement, and laboratory examination of blood for determining CD4<sup>+</sup> lymphocyte count. Daily dietary intake data were determined by using 1 x 24 hour food recall and 3 x 24 hour food record at the beginning and at the end of the study.

Mean value of CD4<sup>+</sup> lymphocyte count before lactoferrin administration was  $231.85 \pm 122.89$  cells/ $\mu$ L and increased to median value of 236.50 cells/ $\mu$ L (50.00–731.00 cells/ $\mu$ L) after six weeks intervention. Wilcoxon test on the above values showed no significant difference ( $p=0.22$ ). Mean value of CD4<sup>+</sup> lymphocyte count of untreated subjects with ARV before lactoferrin administration was  $302.33 \pm 132.79$  cells/ $\mu$ L and increased to  $345.33 \pm 202.33$  cells/ $\mu$ L at the end of study. The same response was also found in treated subjects with ARV where the mean value of CD4<sup>+</sup> lymphocyte count increased from  $178.00 \pm 84.77$  cells/ $\mu$ L before lactoferrin administration to  $204.38 \pm 122.66$  cells/ $\mu$ L, thereafter. Paired *t*-test on the increased CD4<sup>+</sup> lymphocyte count between treated and untreated subjects with ARV showed no significant difference ( $p=0.12$ ). The improvement of CD4<sup>+</sup> lymphocyte count after lactoferrin administration was seen in 7 out of 12 untreated subjects (58.33%) and in 9 out of 16 treated subjects with ARV (56.25%). Chi-Square's test showed that the improvement on both groups was not significant ( $p=0.91$ ). It can be concluded that after six weeks intervention with bovine lactoferrin, mean value of CD4<sup>+</sup> lymphocyte count of the subjects increased above baseline but statistically the changes were not significantly different. However, although statistically the difference was not significant, the increasing number of CD4<sup>+</sup> lymphocyte count has a clinical benefit. This argument is supported by existing data that the improvement of CD4<sup>+</sup> lymphocyte count found in 7 out of 12 untreated subjects and also in 9 out of 16 subjects treated with ARV but almost two years treated, their CD4<sup>+</sup> lymphocyte count failed to increase.

**Key words:** HIV-positive, bovine lactoferrin, CD4<sup>+</sup> lymphocyte count



## DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL .....	i
LEMBAR PERNYATAAN ORISINALITAS.....	ii
LEMBAR PENGESAHAN.....	iii
KATA PENGANTAR.....	iv
LEMBAR PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH.....	vi
ABSTRAK.....	vii
ABSTRACT.....	viii
DAFTAR ISI .....	ix
DAFTAR TABEL .....	xi
DAFTAR GAMBAR .....	xii
DAFTAR LAMPIRAN .....	xiii
DAFTAR SINGKATAN .....	xiv
BAB 1. PENDAHULUAN .....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Permasalahan.....	3
1.3 Hipotesis.....	3
1.4 Tujuan Penelitian.....	3
1.5 Manfaat Penelitian.....	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Laktoferin.....	5
2.2 HIV/AIDS.....	9
2.3 Peran Laktoferin Sapi terhadap Infeksi HIV/AIDS.....	18
2.4 Kerangka Teori.....	23
2.5 Kerangka Konsep.....	24
BAB 3. METODE PENELITIAN.....	25
3.1 Rancangan Penelitian.....	25
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian.....	25
3.3 Bahan Penelitian.....	25
3.4 Instrumen Pengumpulan Data.....	27
3.5 Cara Kerja.....	28
3.6 Identifikasi Variabel.....	31
3.7 Pengolahan, Analisis, Penyajian dan Pelaporan Data.....	31
3.8 Batasan Operasional.....	32
3.9 Organisasi Penelitian.....	34
3.10 Alur Penelitian.....	35
BAB 4. HASIL PENELITIAN.....	36
4.1 Seleksi Subyek Penelitian.....	36
4.2 Sebaran Subyek Penelitian.....	36
4.3 Asupan Energi dan Protein.....	37

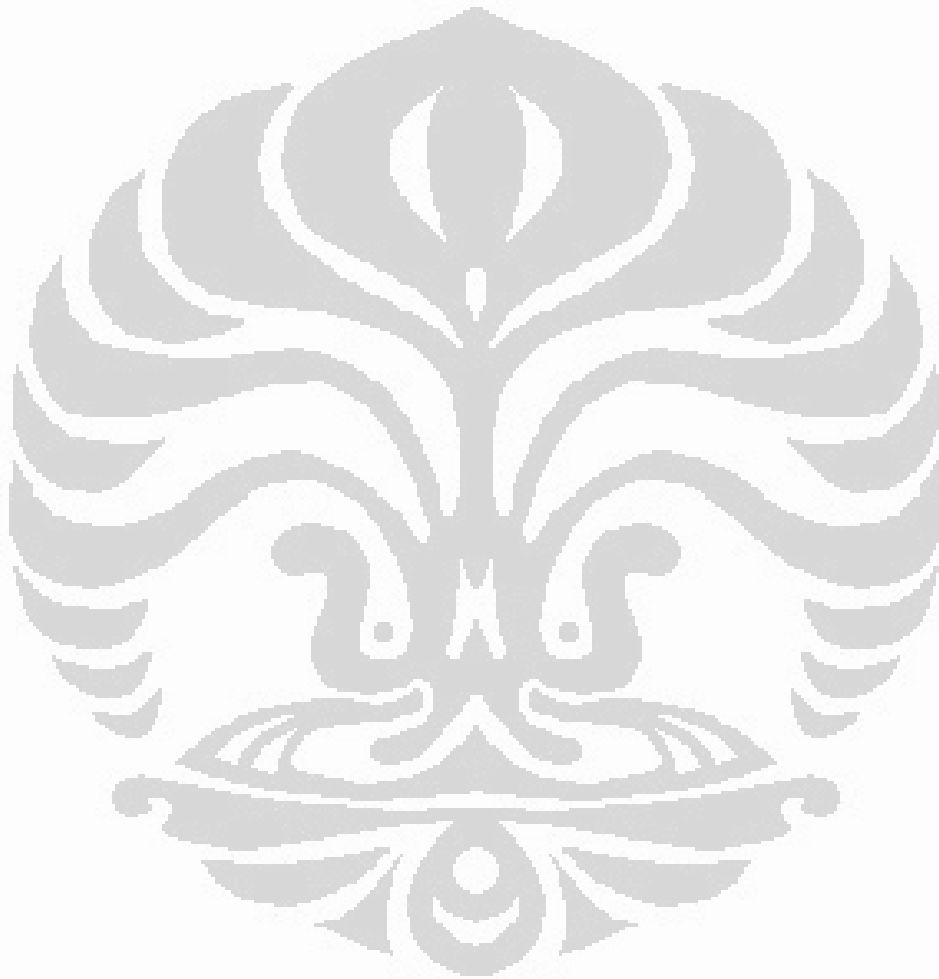
4.4 Perbandingan Asupan Energi dan Protein.....	39
4.5 Antropometrik.....	40
4.6 Jumlah Limfosit CD4 <sup>+</sup> .....	41
4.7 Jumlah Limfosit CD4 <sup>+</sup> Subyek yang Belum dan Sudah Mendapat ARV.....	41
<b>BAB 5. PEMBAHASAN.....</b>	<b>43</b>
5.1 Keterbatasan Penelitian.....	43
5.2 Jenis Kelamin dan Faktor Risiko Penularan.....	44
5.3 Status Gizi, Asupan Energi dan Protein.....	45
5.4 Jumlah Limfosit CD4 <sup>+</sup> .....	47
<b>BAB 6. RINGKASAN, KESIMPULAN, DAN SARAN.....</b>	<b>50</b>
6.1 Ringkasan.....	50
6.2 Kesimpulan.....	52
6.3 Saran.....	53
<b>SUMMARY, CONCLUSION, AND RECOMMENDATION.....</b>	<b>54</b>
<b>DAFTAR REFERENSI.....</b>	<b>58</b>
<b>MANUSCRIPT.....</b>	<b>62</b>
<b>LAMPIRAN-LAMPIRAN.....</b>	<b>72</b>

## DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1. Klasifikasi HIV menurut jumlah limfosit CD4 <sup>+</sup> .....	15
Tabel 2.2. Kategori klinis infeksi HIV .....	16
Tabel 3.1. Matriks variabel indikator.....	31
Tabel 3.2. Klasifikasi status gizi.....	33
Tabel 4.1. Sebaran subyek penelitian berdasarkan usia, jenis kelamin, status gizi, dan faktor risiko penularan .....	37
Tabel 4.2. Sebaran subyek berdasarkan kategori asupan energi dan protein dengan metode <i>food recall</i> dan <i>food record</i> di awal dan akhir penelitian.....	38
Tabel 4.3. Perbandingan asupan energi dan protein subyek berdasarkan metode <i>food recall</i> dan <i>food record</i> di awal dan akhir penelitian .....	39
Tabel 4.4. Asupan energi, protein, dan persentase terhadap kebutuhan berdasarkan data <i>food record</i> di awal dan akhir penelitian.....	40
Tabel 4.5. Perbandingan berat badan dan indeks massa tubuh subyek di awal dan akhir penelitian.....	41
Tabel 4.6. Perbandingan jumlah limfosit CD4 <sup>+</sup> subyek di awal dan akhir penelitian.....	41
Tabel 4.7. Perbandingan jumlah limfosit CD4 <sup>+</sup> subyek yang belum dan sudah mendapat ARV di awal dan akhir penelitian.....	42
Tabel 4.8. Hubungan jumlah limfosit CD4 <sup>+</sup> pada kelompok subyek yang belum dan sudah mendapat ARV setelah pemberian laktoferin sapi .....	42

## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Struktur laktoferin.....	6
Gambar 2.2 Struktur HIV.....	10
Gambar 2.3 Siklus replikasi HIV.....	12
Gambar 2.4 Perjalanan penyakit HIV/AIDS.....	14



## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Keterangan Lolos Kaji Etik.....	59
Lampiran 2. Lembar Informasi Penelitian.....	60
Lampiran 3. Formulir Persetujuan.....	61
Lampiran 4. Formulir Seleksi.....	62
Lampiran 5. Karakteristik Demografi Subyek.....	63
Lampiran 6. Formulir Penilaian Asupan Makanan.....	64
Lampiran 7. Formulir Catatan Asupan Makanan.....	65
Lampiran 8. Formulir Evaluasi Konsumsi Kapsul Laktoferin.....	66
Lampiran 9. Formulir Pemeriksaan Antropometri dan Jumlah Limfosit CD4 <sup>+</sup> .....	67
Lampiran 10. Pemeriksaan Laboratorium Jumlah Limfosit CD4 <sup>+</sup> .....	68



## DAFTAR SINGKATAN

AIDS	: <i>Acquired Immune Deficiency Syndrome</i>
ASI	: Air Susu Ibu
ARV	: <i>Antiretroviral</i>
HIV	: <i>Human Immunodeficiency Virus</i>
BB	: Berat Badan
BEE	: <i>Basal Energy Expenditure</i>
CCR5	: <i>CC-Chemokine Receptor 5</i>
CD4 <sup>+</sup>	: <i>Cluster of Differentiation 4<sup>+</sup></i>
CDC	: <i>U.S Centers for Disease Control and Prevention</i>
CMV	: <i>Cytomegalovirus</i>
CXCR4	: <i>CXC-Chemokine Receptor 4</i>
DC-SIGN	: <i>Dendritic Cell Sign</i>
Depkes RI	: Departemen Kesehatan Republik Indonesia
DNA	: <i>Deoxyribonucleic acid</i>
EDTA	: <i>Ethylenediamine-tetraacetic Acid</i>
ELISA	: <i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i>
EPEC	: <i>Enteropathogenic E. coli</i>
FACS	: <i>Flurescence Activated Cell Sorting</i>
gp	: Glikoprotein
HAART	: <i>Highly Active Antiretroviral Therapy</i>
HCV	: <i>Hepatitis C Virus</i>
HSV	: <i>Herpes Simplex Virus</i>
IDU	: <i>Injecting Drug User</i>
IFN	: Interferon
IL	: Interleukin
IMT	: Indeks Massa Tubuh
KET	: Kebutuhan Energi Total
KTP	: Kartu Tanda Penduduk
LfR	: Reseptor Laktoferin

mRNA	: messenger RNA
NNRTI	: Non-Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitors
NsRTI	: Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitors
PI	: Protease Inhibitors
POKDISUS	: Kelompok Studi Khusus
RNA	: Ribonucleic Acid
RSUPNCM	: Rumah Sakit Umum Pusat Nasional Cipto Mangunkusumo
SPSS	: Statistical Package for Social Science
TB	: Tinggi Badan
Th	: T helper
TNF	: Tumor Necrotizing Factor
UNAIDS/WHO	: United Nations Programme on HIV/AIDS and World Health Organization
URT	: Ukuran Rumah Tangga
WB	: Western Blot

# BAB 1

## PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang

*Acquired immune deficiency syndrome (AIDS)* adalah kumpulan gejala penyakit infeksi yang disebabkan oleh *Human Immunodeficiency Virus (HIV)*. Penyakit infeksi oleh virus tersebut hingga kini masih merupakan masalah kesehatan dunia dengan angka morbiditas dan mortalitas yang tinggi.<sup>1</sup> Berdasarkan laporan *Joint United Nations Programme on HIV/AIDS and World Health Organization (UNAIDS/WHO)*, jumlah kumulatif penduduk dunia yang tercatat menderita infeksi HIV hingga Desember 2007 adalah 33,2 juta orang dan 2,1 juta orang meninggal akibat AIDS.<sup>2</sup> Di Indonesia, berdasarkan laporan Depkes RI sejak 1 Oktober 1987 sampai dengan 31 Maret 2009, tercatat 6.668 orang terinfeksi HIV dan jumlah kasus AIDS telah mencapai 16.964 orang. Sekitar 74,5% penderita HIV di Indonesia adalah laki-laki, dengan 52% penularan terjadi melalui hubungan seksual dan 42% melalui jarum suntik (*Injecting Drug User, IDU*) akibat penyalahgunaan narkotika. Sebagian besar penderita HIV/AIDS tersebut berusia 20–49 tahun.<sup>3</sup> Saat ini Indonesia menghadapi ancaman epidemi HIV & AIDS yang semakin besar. Sejak tahun 2000, berdasarkan hasil survei terungkap bahwa prevalensi HIV di beberapa provinsi telah melebihi 5%.<sup>1</sup>

*Human Immunodeficiency Virus* merupakan virus RNA yang diklasifikasikan dalam famili *Retroviridae*, subfamili *Lentivirinae*, genus *Lentivirus*.<sup>4</sup> Berbagai sel dapat menjadi target dari HIV tetapi virus ini cenderung menyerang sel yang memiliki reseptor *cluster of differentiation 4 (CD4<sup>+</sup>)* pada permukaannya seperti limfosit CD4<sup>+</sup> atau *T helper (Th)* dan makrofag. Adanya koreseptor kemokin berupa CCR5 dan CXCR4 turut berperan dalam masuknya HIV ke dalam limfosit CD4<sup>+</sup> dan makrofag.<sup>5</sup> Pada awal infeksi HIV, sistem imun umumnya masih mampu mengendalikan infeksi virus tersebut namun pada tahap selanjutnya, respon imun terutama seluler yang diperankan oleh limfosit CD4<sup>+</sup> makin menurun.<sup>6</sup> Berkurangnya jumlah limfosit CD4<sup>+</sup> menandakan penurunan sistem imun sehingga pertahanan individu terhadap mikroorganisme patogen menjadi lemah dan mudah terjadi infeksi sekunder. Infeksi HIV dengan kumpulan



gejala yang timbul akibat defisiensi imun yang demikian berat dinamakan AIDS.<sup>1</sup> Umumnya kematian penderita AIDS disebabkan oleh infeksi oportunistik karena pada kondisi imunitas tubuh yang demikian rendah, infeksi oportunistik mudah sekali berkembang.<sup>6</sup> Oleh karena itu, berbagai upaya untuk meningkatkan imunitas tubuh perlu dilakukan. Dukungan nutrisi agaknya tidak boleh diabaikan karena selain mampu mencegah kehilangan berbagai nutrisi akibat *viral-induced immunodeficiency*, nutrisi juga mampu menginduksi sistem imun yang masih ada (*the remaining immune system*) sehingga diharapkan daya tahan tubuh penderita bertambah baik.<sup>7</sup>

Kolostrum adalah susu pertama (*the first milk*) yang diproduksi semua spesies mamalia segera setelah bayi dilahirkan.<sup>8</sup> Kolostrum sapi (*bovine colostrum*) mengandung berbagai substansi seperti imunoglobulin, lisozim, laktoferin, laktoperoksidase dan molekul bioaktif lainnya termasuk *growth factors*.<sup>9</sup> Mekanisme anti virus terhadap HIV dari berbagai senyawa tersebut belum banyak diketahui, kecuali mekanisme dari laktoferin sapi karena substansi ini paling banyak diteliti baik secara *in vitro* maupun *in vivo*.

Penelitian mengenai peran laktoferin sapi secara *in vivo* pada penderita HIV dilakukan oleh Zuccotti dkk.<sup>10</sup> Dalam penelitian ini, laktoferin sapi diberikan sebanyak 3 g/hari selama enam bulan pada 22 anak yang terinfeksi HIV melalui transmisi vertikal. Hasilnya, terjadi penurunan *viral load* plasma dan peningkatan persentase jumlah limfosit CD4<sup>+</sup> secara bermakna. Mulder dkk.,<sup>11</sup> melakukan penelitian *in vivo* pemberian laktoferin sapi 200 mg/hari terhadap imunitas delapan pria sehat selama tujuh hari. Ternyata sesudah suplementasi terjadi aktivasi seluruh sel T secara bermakna yang diukur dari CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup> dan CD8<sup>+</sup>.

Di Indonesia belum pernah dilakukan penelitian pengaruh laktoferin terhadap jumlah limfosit CD4<sup>+</sup> pasien HIV positif. Hal inilah yang menjadi latar belakang dilakukannya penelitian awal Pengaruh Pemberian Laktoferin Sapi Terhadap Jumlah Limfosit CD4<sup>+</sup> Pasien HIV Positif di Rumah Sakit Umum Pusat Nasional Cipto Mangunkusumo (RSUPNKM) Jakarta. Digunakannya laktoferin 200 mg/hari didasarkan pada penelitian Mulder dkk., di mana dosis tersebut mampu mengaktivasi limfosit T. Lama penelitian ditentukan enam minggu karena perubahan status imun biasanya baru dapat dinilai sesudah enam minggu.

## 1.2. Permasalahan

### 1.2.1. Identifikasi Masalah

- a. Prevalensi pasien HIV/AIDS di Indonesia cukup tinggi dan terus meningkat.
- b. Jumlah limfosit CD4<sup>+</sup> menurun seiring dengan progresivitas penyakit HIV.
- c. Turunnya daya tahan tubuh penderita HIV positif memudahkan terjadinya infeksi oportunistik yang berakibat pada kematian.

### 1.2.2. Perumusan Masalah

Apakah terdapat peningkatan jumlah limfosit CD4<sup>+</sup> pasien HIV positif setelah pemberian kapsul laktoferin sapi per oral sebanyak 200 mg per hari selama enam minggu?

## 1.3. Hipotesis

Terdapat peningkatan jumlah limfosit CD4<sup>+</sup> pada pasien HIV positif setelah diberikan kapsul laktoferin sapi per oral sebanyak 200 mg per hari selama enam minggu.

## 1.4. Tujuan penelitian

### 1.4.1. Tujuan Umum

Diketuainya pengaruh pemberian laktoferin sapi terhadap imunitas tubuh penderita HIV positif.

### 1.4.2. Tujuan Khusus

1. Diketuainya karakteristik subyek penelitian berdasarkan usia, jenis kelamin, status gizi, faktor risiko penularan, dan pengobatan.
2. Diketuainya sebaran subyek penelitian berdasarkan asupan energi dan protein berdasarkan metode *food recall* dan *food record*.
3. Diketuainya asupan energi dan protein subyek penelitian dengan *food recall* 1 x 24 jam dan *food record* 3 x 24 jam pada awal dan akhir penelitian.
4. Diketuainya status gizi subyek penelitian sebelum dan setelah perlakuan.
5. Diketuainya jumlah limfosit CD4<sup>+</sup> subyek penelitian sebelum dan setelah perlakuan.

## **1.5. Manfaat Penelitian**

### **1.5.1. Manfaat bagi Peneliti**

Melalui penelitian ini, peneliti dapat menerapkan dan memanfaatkan ilmu yang diperoleh selama pendidikan. Peneliti dapat melatih cara berpikir menggunakan metodologi ilmiah dalam rangka menambah wawasan serta pengalaman melakukan penelitian.

### **1.5.2. Manfaat bagi Institusi**

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan gambaran tentang pengaruh laktoferin sapi terhadap jumlah limfosit CD4<sup>+</sup> penderita HIV positif. Hasil penelitian ini dapat digunakan sebagai informasi dan referensi ilmiah untuk penelitian selanjutnya.

### **1.5.3. Manfaat bagi Subyek Penelitian**

Dengan pemberian laktoferin sapi, diharapkan imunitas tubuh subyek penelitian bertambah baik sehingga mampu mencegah kemungkinan menderita infeksi oportunistik yang berakibat fatal.

## BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1. Laktoferin

Laktoferin (laktotransferin) adalah suatu glikoprotein yang memiliki kemampuan mengikat dan memindahkan ion feri ( $Fe^{3+}$ ). Substansi ini untuk pertama kalinya pada tahun 1939 berhasil diisolasi dari susu sapi oleh Sorensen dan Sorensen.<sup>12</sup> Selain ditemukan dalam susu sapi, laktoferin juga ditemukan dalam susu mamalia lainnya termasuk manusia. Kadar laktoferin dalam susu mamalia berbeda-beda, paling tinggi ditemukan pada manusia, sedangkan dalam susu sapi hanya 10% dari ASI.<sup>13</sup> Pada manusia, laktoferin terdapat pada sekresi kelenjar eksokrin dan granula khusus dalam netrofil. Degranulasi netrofil selanjutnya diketahui merupakan sumber utama laktoferin dalam darah.<sup>12,14,15</sup> Ternyata laktoferin juga dapat dideteksi pada tahap awal perkembangan sel embrio yaitu ketika sel berjumlah antara 2-4. Pada orang dewasa, laktoferin disintesis oleh sel epitel kelenjar dan sel mukosa. Kadar laktoferin pada kolostrum dibandingkan dengan susu biasa ternyata lebih tinggi.<sup>9</sup> Demikian pula bila dibandingkan dengan kadarnya dalam air mata, cairan hidung, air liur, sekresi pankreas, saluran cerna dan jaringan reproduksi.<sup>12</sup>

#### 2.1.1. Struktur

Laktoferin termasuk kelompok transferin dengan ukuran 80 kDa, memiliki struktur 3 dimensi yang dapat diidentifikasi dengan analisis kristalografik sinar X.<sup>14</sup> Substansi tersebut merupakan polipeptida rantai tunggal, terdiri dari 703 asam amino dan terbagi dalam 2 lobus globular. Lobus tersebut yang juga dikenal sebagai ujung karboksi (C) dan ujung amino (N) dihubungkan dengan  $\alpha$ -heliks.<sup>12,16</sup> Tiap lobus terdiri dari 2 bagian yaitu C1, C2, N1, dan N2. Masing-masing bagian pada lobus tersebut bersama dengan anion bikarbonat membentuk satu sisi pengikat besi.<sup>16</sup> Tergantung spesies dan protein yang membentuknya, molekul laktoferin terutama di daerah permukaannya memiliki sejumlah sisi untuk glikosilasi. Sakarida yang paling sering terlibat dalam reaksi glikosilasi adalah manosa; kira-kira 3% heksosa, dan 1% heksosamin. Perbedaan derajat

glikosilasi menentukan tingkat resistensi terhadap protease dan pH yang sangat rendah.<sup>12</sup>

Laktoferin ditemukan dalam beberapa variasi, yaitu laktoferin- $\alpha$ ,  $\beta$  dan  $\gamma$ . Ketiga macam laktoferin ini, bentuk fisik dan kimianya sama namun fungsinya berbeda. Laktoferin- $\alpha$  mampu mengikat zat besi tetapi tidak mempunyai aktivitas ribonuklease, sedangkan laktoferin- $\beta$  dan  $\gamma$  mempunyai aktivitas ribonuklease namun tidak mampu mengikat zat besi.<sup>12,16</sup> Berdasarkan tingkat saturasinya terhadap besi, laktoferin dibedakan menjadi apolaktoferin yang tidak mengikat besi, monolaktoferin yang mengikat satu ion feri dan hololaktoferin yang mampu mengikat dua ion feri.<sup>12</sup>



**Gambar 2.1 Struktur laktoferin**

Sumber: Ward<sup>14</sup>

### 2.1.2. Absorpsi dan metabolisme

Troost dkk.,<sup>17</sup> melakukan penelitian ketahanan apolaktoferin dan hololaktoferin terhadap pencernaan di dalam lambung. Hasilnya menunjukkan bahwa baik apolaktoferin maupun hololaktoferin yang diberikan dengan pipa nasogastrik ternyata tahan terhadap keasaman lambung dan ditemukan di usus dalam keadaan utuh. Di usus, laktoferin terutama dalam bentuk tersaturasi dengan besi ternyata lebih tahan terhadap tripsin dan *trypsin-like enzymes* dibandingkan bentuk yang tidak terikat besi.<sup>18</sup> Sejak tahun 1991 telah diidentifikasi adanya

protein spesifik untuk laktoferin, yaitu reseptor laktoferin (LFR) pada *brush-border* sel usus bayi. Untuk mengetahui lebih jelas bagaimana mekanisme masuknya laktoferin ke dalam sel usus, Ashidakk.,<sup>19</sup> melakukan penelitian dengan menggunakan *intestinal epithelial cell line*, yaitu sel Caco-2, yang memiliki reseptor laktoferin. Dari penelitian tersebut terungkap bahwa laktoferin masuk ke dalam sel usus melalui bagian apikal sel Caco-2 kemudian menuju ke nukleus, sementara transferin masuk melalui bagian basolateral dan selanjutnya berada di sitoplasma. Dari perbedaan masuknya laktoferin dan transferin ke dalam sel, disimpulkan bahwa keduanya mempunyai peran yang berbeda di dalam sel usus. Laktoferin yang diberikan per oral selain mampu masuk ke dalam sel usus juga dapat memberikan efek sistemik.

Eliminasi laktoferin dari dalam tubuh berlangsung melalui dua cara baik melalui ambilan langsung oleh sel hati maupun melalui fagositosis oleh makrofag, monosit, dan sel sistem retikuloendotelial. Besi dari laktoferin yang dilepaskan, selanjutnya diikat oleh feritin atau oleh sel *Kupffer* melalui endositosis. Eliminasi dengan cara endositosis dapat pula dilakukan oleh sel endotelial hati dan hepatosit. Ginjal dalam hal ini berperan mengeliminasi laktoferin yang berada di dalam darah.<sup>12,16</sup>

### 2.1.3. Fungsi fisiologik

Laktoferin dapat mengikat besi dalam bentuk  $Fe^{3+}$  dengan kuat namun reversibel.<sup>14</sup> Ada empat residu asam amino yang penting untuk mengikat besi yaitu histidin, dua asam amino tirosin, dan asam aspartat sedangkan arginin penting untuk mengikat ion karbonat.<sup>12</sup> Kemampuan laktoferin mengikat besi ternyata 2 kali lebih kuat dibandingkan dengan transferin yang pada beberapa kasus justru bertindak sebagai donor besi untuk laktoferin. Ikatan antara laktoferin dengan besi sangat erat dan mampu bertahan pada pH 4, sedangkan pada transferin, ikatan tersebut lepas pada pH di bawah 6.<sup>18</sup> Selain besi, laktoferin ternyata mampu mengikat sejumlah besar senyawa atau substansi lain seperti lipopolisakarida, heparin, glikosaminoglikan, DNA atau ion logam lainnya seperti  $Al^{3+}$ ,  $Mn^{3+}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$  dan lain-lain walaupun dengan afinitas rendah.<sup>12,13</sup>

#### 2.1.4. Aktivitas biologik

Kemampuan laktoferin mempertahankan besi yang diikatnya pada pH yang sangat rendah merupakan hal penting, terutama di daerah infeksi dan inflamasi di mana aktivitas bakteri menyebabkan pH turun hingga <4,5. Dalam kondisi seperti itu laktoferin justru mampu mengikat besi yang dilepas oleh transferin sehingga tidak dapat digunakan untuk proliferasi bakteri (*bacteriostatic activity*).<sup>12,13</sup> Aktivitas bakteriostatik laktoferin tidak selalu terjadi dengan cara mengikat zat besi melainkan dengan membentuk *lactoferricin* yaitu senyawa peptida yang terbentuk dalam saluran cerna. Dari studi lain terungkap bahwa *lactoferricin* dengan perantaraan aktivitas serin protease dapat menghambat melekatnya *enteropathogenic E. coli* (EPEC) pada sel usus.<sup>12</sup> Selain itu, laktoferin juga mempunyai efek terhadap berbagai jamur termasuk *Candida albicans* walaupun mekanismenya belum terungkap jelas.<sup>12,15</sup> Studi lain menunjukkan bahwa laktoferin memiliki efek prebiotik karena peptida yang terbentuk dalam saluran cerna bersifat merangsang pertumbuhan bifidobakteri dalam usus halus. Bertambahnya kolonisasi bifidobakteri sangat menguntungkan karena menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Selanjutnya dilaporkan bahwa pemberian peptida bioaktif bersama dengan protease usus (pepsin, tripsin, kimotripsin) tidak mengurangi efek stimulasi terhadap pertumbuhan bifidobakteri. Dengan kata lain, peptida tersebut secara *in vivo* bersifat stabil dan tetap dapat berfungsi.<sup>20,21</sup>

Selain aktivitas biologik tersebut di atas, laktoferin juga memiliki aktivitas antivirus terhadap beberapa virus seperti *cytomegalovirus* (CMV), *hepatitis C virus* (HCV), *herpes simplex virus* (HSV), *rotavirus*, *adenovirus*, dan HIV.<sup>16</sup> Diduga laktoferin berperan sebagai antivirus melalui beberapa cara, di antaranya dengan mengikat partikel virus, menghambat perlekatan virus pada reseptor sel pejamu baik melalui ikatan dengan reseptor sel pejamu maupun melalui ikatan dengan antigen virus yang digunakan untuk masuk ke dalam sel pejamu.<sup>13,22</sup>

Laktoferin memainkan peran penting terhadap sistem imun bawaan maupun didapat dengan cara memodulasi sistem tersebut. Modulasi sistem imun oleh laktoferin sapi pada percobaan menggunakan sel tikus ternyata mampu menimbulkan ekspresi 20 *immune-related genes*. Selain itu, laktoferin juga dapat

berikatan dengan berbagai sel imun. Ikatan antara laktoferin dengan sel imun akan memicu respon imun seluler berupa aktivasi, diferensiasi dan proliferasi sel.<sup>22</sup>

## 2.2 HIV/AIDS

### 2.2.1 Etiologi

*Acquired Immune Deficiency Syndrome* adalah sindroma penyakit yang disebabkan oleh infeksi HIV. Sindroma tersebut memiliki karakteristik berupa defisiensi imun berat disertai adanya infeksi oportunistik, keganasan, *wasting*, dan degenerasi sistem saraf pusat. *Human Immunodeficiency Virus* merupakan virus RNA yang menyerang sistem kekebalan tubuh sehingga pertahanan tubuh menjadi lemah.<sup>23</sup> Virus tersebut diklasifikasikan dalam famili *Retroviridae*, subfamili *Lentivirinae*, genus *Lentivirus*.<sup>4</sup> Terdapat dua jenis virus HIV, yaitu HIV-1 yang menimbulkan epidemi hampir di seluruh dunia, sedangkan HIV-2 umumnya ditemukan di Afrika Barat dan di beberapa negara lain yang mempunyai hubungan dengan Afrika Barat.<sup>6,24</sup>

### 2.2.2 Penularan

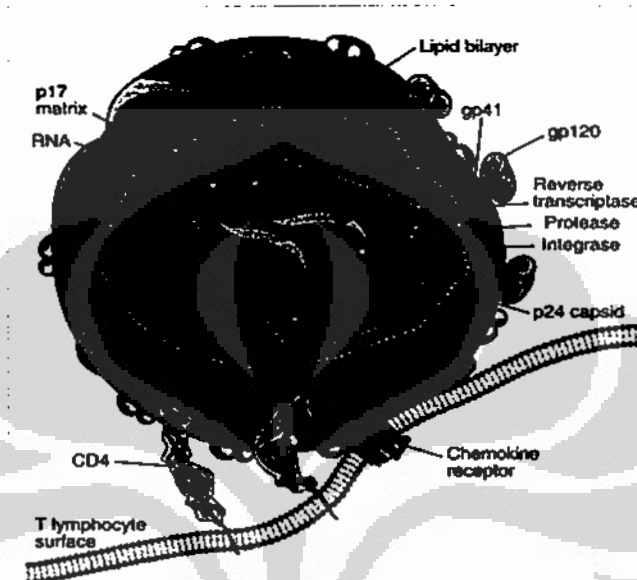
Infeksi HIV terjadi akibat masuknya cairan tubuh yang mengandung virus melalui hubungan seksual baik hetero maupun homoseksual, melalui jarum suntik pada penyalahgunaan obat-obatan, transfusi darah dan atau komponennya, serta transmisi vertikal dari ibu ke janin baik melalui plasenta maupun melalui air susu ibu (ASI).<sup>6,25</sup> Virus ini dapat diisolasi dari darah, semen, cairan serviks, cairan vagina, ASI, air liur, serum, air mata, urine, cairan alveolar, dan cairan serebrospinal. Sampai saat ini, penularan HIV paling sering terjadi melalui darah, cairan semen, cairan vagina dan serviks, serta melalui ASI.<sup>1</sup>

### 2.2.3 Struktur HIV

*Human Immunodeficiency Virus* berbentuk sferis dengan diameter 80-100 nm, dan inti berbentuk silindris. Di dalam inti terdapat genom virus berupa dua untai tunggal *ribonucleic acid* (RNA) yang identik, serta enzim *reverse transcriptase*, integrase dan protease. Inti tersebut diselubungi oleh protein kapsid p24 yang dikelilingi protein matriks p17. Di bagian luar protein matriks p17 terdapat



membran fosfolipid sebagai envelop virus. Pada bagian envelop terdapat 100 *spike* berupa glikoprotein (gp) 160 yang terdiri dari gp120 dan gp41.<sup>26</sup> Glikoprotein 120 merupakan glikoprotein permukaan, sedangkan gp41 merupakan glikoprotein transmembran.<sup>27</sup>



**Gambar 2.2 Struktur HIV**

Sumber: Abbas<sup>21</sup>

#### 2.2.4. Patogenesis infeksi

*Human Immunodeficiency Virus* yang masuk ke dalam tubuh manusia umumnya menyerang sel yang pada permukaannya terdapat reseptor CD4<sup>+</sup>. Berbagai sel dalam tubuh memiliki reseptor CD4<sup>+</sup> tetapi sel yang permukaannya paling banyak mengandung reseptor tersebut adalah limfosit T, makrofag dan astrosit otak.<sup>27</sup> Glikoprotein 120 pada envelop virus akan berikatan dengan reseptor CD4<sup>+</sup>, namun untuk dapat masuk ke dalam sel, diperlukan adanya koreseptor kemokin.<sup>28</sup>

Terdapat berbagai reseptor kemokin yang dapat berfungsi sebagai koreseptor dalam proses masuknya HIV ke dalam sel, dua di antaranya adalah CCR5 pada makrofag dan CXCR4 pada limfosit T.<sup>23</sup> Virus yang hanya dapat berikatan dengan CCR5 dinamakan virus R5 (*macrophage-tropic viruses*), dan yang hanya berikatan dengan CXCR4 dinamakan virus X4 (*T-cell-tropic viruses*), sedangkan virus yang dapat berikatan dengan kedua reseptor kemokin disebut

sebagai virus R5X4. Infeksi HIV berkaitan erat dengan adanya reseptor CCR5, karena pada individu yang memiliki mutasi gen CCR5 ternyata relatif resisten terhadap infeksi HIV.<sup>23,28</sup> Umumnya virus R5 ditemukan lebih banyak pada awal infeksi, dan pada perjalanan penyakit selanjutnya lebih banyak ditemukan virus X4.<sup>29</sup>

Selain melalui makrofag dan limfosit T, infeksi HIV juga terjadi melalui sel dendritik, yaitu suatu *antigen presenting cell*. Sel dendritik imatur akan menjadi matur setelah diaktivasi oleh mikroorganisme dan sel tersebut selanjutnya bermigrasi ke kelenjar limfe untuk menstimulasi limfosit T (*naive T lymphocytes*).<sup>23</sup> Adanya reseptor *c-type lectin* atau protein DC-SIGN pada permukaan sel dendritik menyebabkan HIV dapat berikatan atau masuk ke dalam sel tersebut.<sup>29</sup> Kemudian sel dendritik yang teraktivasi oleh HIV akan menuju kelenjar limfe yang paling dekat dengan fokus infeksi. Di kelenjar limfe tersebut, virus yang menempel pada permukaan sel dendritik akan berikatan dengan limfosit T dan selanjutnya mengalami replikasi sehingga kelenjar limfe menjadi tempat utama produksi virus. Dari kelenjar limfe, virus kemudian menyebar ke dalam darah dan ke organ limfoid lainnya. Kurang lebih dua hari setelah infeksi, virus dapat ditemukan di kelenjar limfe terdekat dari tempat masuknya virus dan dalam 4–11 hari berikutnya, virus dapat dideteksi dalam darah.<sup>28</sup>

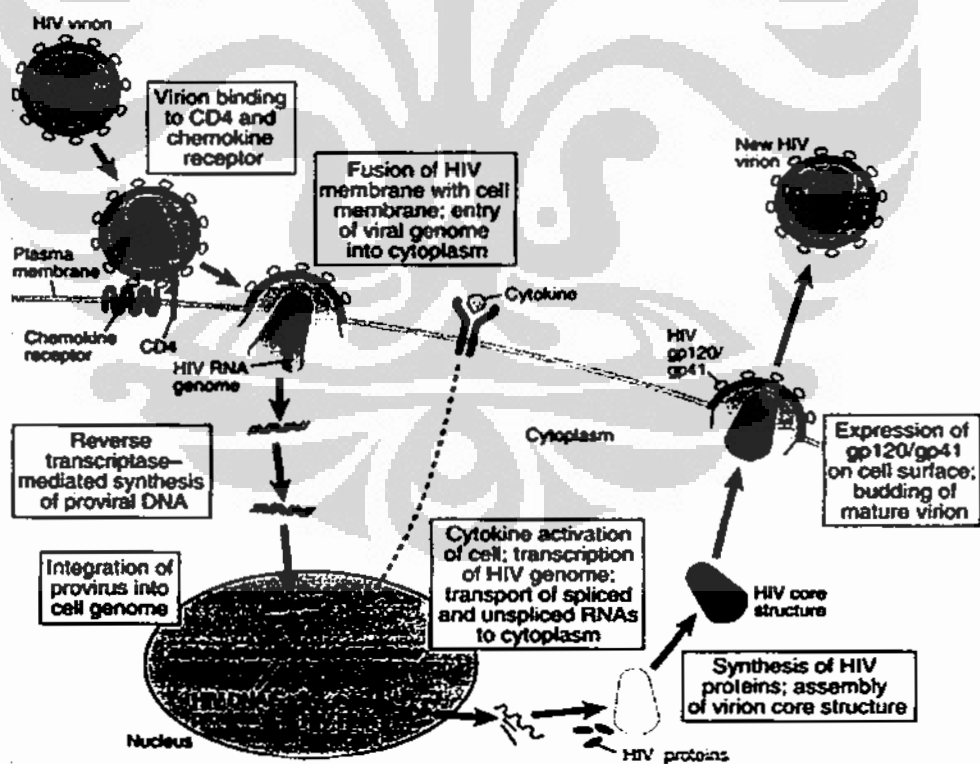
### 2.2.5 Siklus replikasi HIV

Siklus replikasi HIV dimulai dengan ikatan antara gp120 virus dengan reseptor CD4<sup>+</sup> pada permukaan sel pejamu. Setelah gp120 berikatan dengan reseptor CD4<sup>+</sup>, terjadi perubahan konformasi gp120, sehingga gp120 dapat berikatan dengan koreseptor kemokin (CCR5 atau CXCR4). Interaksi dengan koreseptor kemokin tersebut menginduksi glikoprotein transmembran gp41 yang kemudian berubah bentuk sehingga terjadi insersi peptida hidrofobik gp41 ke dalam membran sel pejamu. Hal ini menyebabkan terjadinya fusi antara membran virus dengan sel pejamu.<sup>29</sup>

Selanjutnya nukleokapsid virus masuk ke dalam sitoplasma sel pejamu dan mengalami *uncoating* sehingga dua untai RNA yang identik berada bebas di dalam sitoplasma. Oleh enzim *reverse transcriptase*, kedua untai RNA tersebut

diubah menjadi *deoxyribonucleic acid* (DNA) yang selanjutnya, oleh enzim integrase akan digabungkan dengan DNA pejamu menjadi provirus.<sup>23</sup>

Proses transkripsi provirus ini diatur oleh gen LTR virus, sitokin, dan stimulasi fisiologis pada limfosit dan makrofag. Apabila tidak terjadi aktivasi, maka provirus dapat tetap laten di dalam sel yang terinfeksi dan terhindar dari sistem imun bahkan dari obat antivirus yang diberikan. Provirus HIV yang aktif akan mengalami transkripsi menghasilkan *messenger RNA* (mRNA) yang akan keluar dari inti sel dan mengalami translasi menjadi materi-materi untuk membentuk virus baru.<sup>23</sup> Kompleks protein dan genom RNA yang baru terbentuk akan bersatu dan bermigrasi ke membran sel pejamu untuk memperoleh envelop lipid dari membran sel pejamu. Setelah itu virus yang baru terbentuk akan keluar dari sel pejamu dengan cara membelah diri (*budding*) dan siap menginfeksi sel lainnya.<sup>5</sup>



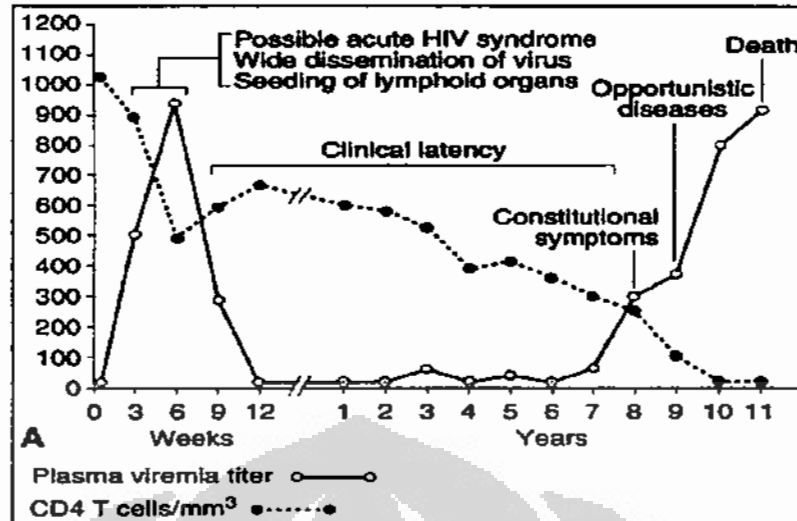
Gambar 2.3 Siklus replikasi HIV

Sumber: Abbas<sup>23</sup>

### 2.2.6 Perjalanan penyakit

Infeksi akut oleh HIV pada 50% kasus dapat terjadi secara asimtomatik, namun dapat pula disertai gejala seperti influenza (*flu-like symptoms*) yang terjadi dalam tiga sampai enam minggu pertama setelah infeksi.<sup>30</sup> Gejala yang dapat timbul pada periode ini umumnya berupa demam, limfadenopati, artralgia, mialgia, malaise, anoreksia, mual, muntah, diare, dan penurunan berat badan.<sup>1</sup> Periode ini ditandai oleh adanya peningkatan jumlah virus yang sangat tinggi di dalam darah dan penurunan jumlah limfosit CD4<sup>+</sup> dalam sirkulasi.<sup>30</sup> Umumnya jumlah CD4<sup>+</sup> dalam sirkulasi masih di atas 500 sel/mm<sup>3</sup> dan menurun setelah enam minggu terinfeksi.<sup>1</sup> Pada tahap ini, respon imun terhadap HIV diinduksi sehingga terjadi penurunan jumlah virus dalam darah, namun respon imun tersebut tidak mampu menekan seluruh proses replikasi virus sehingga virus dapat tetap bereplikasi.<sup>31</sup> Turunnya jumlah virus dalam darah menandakan awal periode laten infeksi HIV (*clinical latency*).<sup>30</sup>

Tahap infeksi dapat berlangsung selama beberapa tahun tanpa disertai adanya gejala klinis. Pada tahap ini, jumlah limfosit CD4<sup>+</sup> umumnya berkisar antara 200–500 sel/mm<sup>3</sup> dan cenderung terus menurun walaupun jumlah virus yang ditemukan di dalam darah sangat rendah. Hal ini disebabkan replikasi virus dan destruksi limfosit CD4<sup>+</sup> di organ limfoid terus berlangsung.<sup>1</sup> Penurunan jumlah limfosit CD4<sup>+</sup> dalam darah digunakan untuk mengetahui progresivitas infeksi HIV.<sup>31</sup> Kemudian tahap ini akan diikuti tahap simtomatis dengan gejala konstitusional akibat infeksi virus berupa penurunan berat badan, sariawan berulang di rongga mulut, serta infeksi saluran nafas. Selanjutnya, ketika jumlah limfosit CD4<sup>+</sup> sangat rendah (<200 sel/mm<sup>3</sup>), defisiensi imun menjadi sangat berat dan kondisi demikian dinamakan AIDS.<sup>1</sup> Pada keadaan ini mudah sekali terjadi infeksi oportunistik maupun keganasan yang dapat mengakibatkan kematian.<sup>31</sup>



Gambar 2.4 Perjalanan penyakit HIV/AIDS

Sumber: Abbas<sup>23</sup>

### 2.2.7. Mekanisme deplesi limfosit CD4<sup>+</sup>

Jumlah limfosit CD4<sup>+</sup> yang berkurang secara drastis akibat infeksi HIV menyebabkan terganggunya fungsi sistem imun sehingga terjadi keadaan defisiensi imun.<sup>26</sup> Kematian limfosit CD4<sup>+</sup> berkaitan erat dengan produksi virus di dalam sel tersebut dan merupakan penyebab turunnya jumlah limfosit CD4<sup>+</sup>. Permeabilitas membran yang meningkat akibat keluarnya virus dari limfosit yang terinfeksi (*viral budding*) pada proses replikasi virus mengakibatkan peningkatan influks kalsium serta cairan ke dalam sel yang menginduksi apoptosis dan lisis osmotik sel tersebut. Selain itu produksi protein virus di dalam sel menyebabkan sintesis protein selular terganggu sehingga terjadi kematian sel. Pada penelitian *in vitro* didapatkan bahwa proses terbentuknya sinsitium pada limfosit akibat infeksi HIV dapat menyebabkan kematian sel. Sinsitium terbentuk apabila gp120 pada permukaan limfosit yang terinfeksi berfusi dengan molekul CD4<sup>+</sup> limfosit yang tidak terinfeksi.<sup>23</sup> Mekanisme kematian limfosit CD4<sup>+</sup> dapat juga terjadi akibat reaksi autoimun untuk mengeliminasi limfosit terinfeksi yang mengekspresikan gp120 di permukaannya.<sup>26</sup>

### 2.2.8. Diagnosis

Diagnosis infeksi HIV ditegakkan bukan melalui gejala klinisnya melainkan melalui pemeriksaan laboratorium, karena gejala klinis HIV baru timbul setelah

bertahun-tahun kemudian.<sup>25</sup> Pemeriksaan laboratorium tersebut dibagi menjadi pemeriksaan untuk mendeteksi adanya antibodi terhadap HIV, dan keberadaan virus dalam darah pasien. Pemeriksaan terhadap antibodi HIV lebih mudah dilakukan daripada pemeriksaan untuk mendeteksi virus. Namun demikian pada pemeriksaan antibodi perlu diperhatikan adanya *window period*, yaitu periode antara terjadinya infeksi HIV sampai timbulnya antibodi.<sup>25,32</sup>

Pemeriksaan antibodi HIV dilakukan dengan menggunakan pemeriksaan penyaring dan konfirmasi. Pemeriksaan penyaring yang biasa digunakan adalah *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA), dan aglutinasi atau *dot-blot immunobinding assay*. Di Indonesia, metode ELISA adalah metode yang lazim digunakan untuk keperluan tersebut.<sup>25</sup> Namun, pemeriksaan yang saat ini paling sering dilakukan adalah pemeriksaan konfirmasi dengan metode *Western Blot* (WB). Hasil tes dinyatakan positif HIV bila dengan dua kali pemeriksaan penyaring didapatkan hasil reaktif serta hasil pemeriksaan konfirmasi menunjukkan WB positif.<sup>32</sup> Hasil tes juga dapat dinyatakan positif HIV apabila pada tiga kali pemeriksaan penyaring dengan reagen berbeda didapatkan hasil reaktif.<sup>25</sup>

### 2.2.9 Klasifikasi

Sistem klasifikasi infeksi HIV yang banyak digunakan adalah dari *U.S Centers for Disease Control and Prevention* (CDC). Sistem ini mengkategorikan penderita HIV remaja dan dewasa berdasarkan jumlah limfosit CD4<sup>+</sup> dan kondisi klinis.<sup>32,33</sup>

Tabel 2.1 Klasifikasi HIV menurut jumlah limfosit CD4<sup>+</sup>

Kategori jumlah limfosit CD4 <sup>+</sup>	Kategori klinis		
	A Asimtomatik, HIV akut (primer) atau PGL*	B Simtomatik, bukan kondisi A atau C	C Kondisi indikator AIDS
> 500 sel/ $\mu$ L	A1	B1	C1
200-499 sel/ $\mu$ L	A2	B2	C2
< 200 sel/ $\mu$ L	A3	B3	C3

\* PGL: *progressive generalized lymphadenopathy*

Sumber: Fauci<sup>32</sup>

Tabel 2.2 Kategori Klinis Infeksi HIV

Kategori A	Kategori C
Terdiri dari $\geq 1$ kondisi di bawah ini dan tidak ditemukan kondisi pada kategori B dan C.	– Kandidiasis esophagus, bronkus, trakea atau paru
– Asintomatik	– Kanker serviks yang invasive
– Limfadenopati generalisata persisten	– <i>Coccidioidomycosis</i>
– Infeksi HIV primer (akut)	– Kriptokokosis ekstrapulmoner
<b>Kategori B</b>	– Cryptosporidiosis (>1 bulan)
Terdapat gejala (simtomatik) yang bukan merupakan kondisi pada kategori C, dan memenuhi $\geq 1$ kriteria berikut: (1) kondisi disebabkan infeksi HIV atau terdapat defek imunitas seluler; atau (2) kondisi yang membutuhkan penanganan. Misalnya:	– Penyakit virus sitomegalo (selain pada hati, limpa dan kelenjar limfe)
– Angiomatosis basiler	– Retinitis virus sitomegalo
– Kandidiasis orofaring	– Ensefalopati HIV
– Kandidiasis vulvovaginal, persisten, sering, dan kurang responsive terhadap terapi	– Herpes simpleks
– Displasia servikal (sedang dan berat), kanker serviks in situ	– Histoplasmosis sistemik atau pulmoner
– Gejala khas berupa demam ( $38,5^{\circ}\text{C}$ ) atau diare >1 bulan	– Sarkoma Kaposi
– <i>Hairy leukoplakia</i> di rongga mulut	– Limfoma Burkitt
– Herpes zoster	– Limfoma imunoblastik
– Idiopatik trombositopeni purpura	– Limfoma primer pada otak
– Listeriosis	– Mikobakterium tuberculosis (pulmoner atau ekstrapulmoner)
– <i>Pelvic inflammatory disease</i>	– <i>M. avium</i> kompleks atau <i>M. kansasii</i> (diseminata atau ekstrapulmoner)
– Neuropati perifer	– Mikobakterium lain (diseminata atau ekstrapulmoner)
	– <i>Pneumocystis pneumonia</i>
	– Pneumonia rekuren
	– Leukoensefalopati progresif multifokal
	– Septikemia Salmonela rekuren
	– Toksoplasmosis otak
	– Sindroma <i>wasting</i>

Sumber: Kamps<sup>33</sup>

### 2.2.10 Malnutrisi pada HIV/AIDS

Malnutrisi pada HIV/AIDS selain disebabkan oleh anoreksia, dapat juga disebabkan oleh adanya malabsorpsi, meningkatnya katabolisme dan kehilangan zat gizi akibat diare kronis. Berbagai infeksi baik yang disebabkan cryptosporidium, microspora, protozoa, maupun bakteri patogen dapat menyebabkan diare. Selain itu, infeksi HIV juga dapat menyebabkan terjadinya atrofi vili usus, hiperplasia kript. infiltrasi virus dan limfosit pada sel epitel usus serta neuropati enterik.<sup>34</sup> Kondisi seperti ini dianggap sebagai *vicious cycle* karena anoreksia dapat menyebabkan malnutrisi dan meningkatnya katabolisme sedangkan diare dapat menyebabkan malabsorpsi dan kehilangan zat gizi. Dampaknya ialah imunitas tubuh makin menurun. Menurunnya imunitas tubuh

menyebabkan replikasi virus dan infeksi oleh mikroorganisme lain makin berkembang. Selanjutnya, berkembangnya infeksi selain dapat menyebabkan meningkatnya metabolisme, juga dapat menyebabkan bertambah parahnya anoreksia, diare, malabsorpsi, kehilangan zat gizi, dan pada gilirannya menyebabkan meningkatnya morbiditas dan mortalitas.<sup>35,36</sup>

Pada penderita infeksi HIV/AIDS, manifestasi klinis yang sering ditemukan akibat anoreksia dan meningkatnya metabolisme adalah berkurangnya berat badan dan massa otot (*HIV-mediated wasting syndrome*). Mekanisme terjadinya anoreksia belum diketahui dengan pasti namun beberapa sitokin seperti interleukin (IL)-1, IL-2, interferon (IFN)  $\gamma$ , dan *tumor necrosis factor* (TNF)  $\alpha$  yang dilepaskan akibat infeksi HIV, memiliki potensi dalam patogenesis terjadinya anoreksia.<sup>34,37</sup> Selain itu, anoreksia juga dapat disebabkan oleh meningkatnya suhu tubuh, depresi dan pengaruh efek samping obat yang diberikan. Demikian pula perubahan sensasi rasa (*taste sensation*) akibat obat anti retroviral atau infeksi mulut dapat menimbulkan anoreksia.<sup>34</sup>

Metode pengukuran yang dianjurkan untuk menentukan berkurangnya berat badan dan massa otot pada HIV positif adalah dengan memantau berat badan setiap 6 bulan. Pada penderita yang berat badannya sudah berkurang dianjurkan untuk melakukan pemantauan berat badan lebih sering yaitu setiap 3 bulan. Massa otot dapat dinyatakan berkurang apabila berat badan <90% berat badan ideal atau IMT <18,5 kg/m<sup>2</sup>; berat badan berkurang >10% dibandingkan berat badan sebelum sakit; atau berat badan berkurang >5% dari berat badan 6 bulan sebelumnya.<sup>38</sup>

### 2.2.11 Penatalaksanaan

Prinsip dasar penatalaksanaan HIV/AIDS adalah menurunkan angka kesakitan akibat infeksi HIV dan angka kematian akibat AIDS, memperbaiki kualitas hidup, mempertahankan serta memulihkan status imun penderita dan menekan serta menghambat replikasi virus. Terapi yang diberikan pada penderita HIV/AIDS biasanya berupa terapi suportif, terapi medikamentosa untuk infeksi oportunistik dan terapi antiretroviral (ARV) sesuai indikasi. Terapi suportif dilakukan dengan



tujuan meningkatkan keadaan umum pasien melalui dukungan nutrisi yang tepat disertai pemberian vitamin dan mineral sesuai kebutuhan.<sup>25</sup>

Pemberian terapi antiretroviral ternyata memberikan hasil yang cukup baik karena dapat mengurangi progresivitas infeksi HIV dan meningkatkan kondisi kesehatan penderita.<sup>25</sup> Namun demikian, pemberian ARV juga memiliki efek samping berupa gangguan gastrointestinal seperti mual, kembung, dan diare yang terjadi di awal terapi maupun selama proses terapi. Efek samping lain yang dapat ditemukan yaitu sakit kepala, lemas bahkan pada kasus yang berat dapat terjadi anemia, neuropati, dan reaksi hipersensitivitas.<sup>39</sup>

Terdapat beberapa golongan obat ARV, yaitu *nucleoside reverse transcriptase inhibitors* (NsRTI), *non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors* (NNRTI), dan *protease inhibitors* (PI).<sup>25</sup> Analog nukleotida mencegah aktivitas *reverse transcriptase* sehingga mengurangi kadar RNA HIV dalam plasma, sedangkan *protease inhibitor* mencegah proses protein virus menjadi protein *core* dan kapsid virus matang.<sup>5</sup>

Obat ARV diberikan kepada pasien yang telah menunjukkan gejala yang termasuk dalam kriteria diagnosis AIDS, atau menunjukkan gejala yang sangat berat, tanpa melihat jumlah limfosit CD4<sup>+</sup>. Obat ini juga diberikan pada pasien asimtomatik dengan limfosit CD4<sup>+</sup> kurang dari 200 sel/mm<sup>3</sup>. Pemberian obat dapat dimulai pada pasien asimtomatik dengan jumlah limfosit CD4<sup>+</sup> antara 200–350 sel/mm<sup>3</sup>. Terapi tidak dianjurkan pada pasien dengan jumlah limfosit CD4<sup>+</sup> lebih dari 350 sel/mm<sup>3</sup> dan *viral load* kurang dari 100.000 kopi/ml.<sup>25</sup>

## 2.3 Peran Laktoferin Sapi pada Penderita HIV/AIDS

### 2.3.1 Kadar laktoferin pada pasien HIV/AIDS

Selama terjadi infeksi mikroba dan penyakit autoimun, terjadi peningkatan kadar laktoferin dalam darah, namun pada penderita HIV positif ditemukan keadaan sebaliknya yaitu penurunan kadar laktoferin. Kadar laktoferin pada pasien HIV positif yang asimptomatik umumnya menurun terutama pada air mata, sedangkan pada pasien HIV positif yang simptomatik ditemukan penurunan kadar laktoferin dalam darah.<sup>40</sup> Pada pasien AIDS, rendahnya kadar laktoferin dalam cairan

sekresi maupun dalam darah berkaitan erat dengan mudah terjadinya infeksi oportunistik.<sup>13</sup>

### 2.3.2. Penelitian laktoferin terhadap HIV

#### 2.3.2.1. Penelitian laktoferin *in vitro*

Puddu dkk.,<sup>40</sup> tahun 1998 melakukan penelitian efek antivirus laktoferin sapi terhadap HIV-1. Ternyata laktoferin sapi baik dalam bentuk apolaktoferin maupun laktoferin jenuh dengan ion  $Fe^{3+}$ ,  $Mn^{2+}$ , atau  $Zn^{2+}$  mampu menghambat replikasi HIV-1, pembentukan sinsitium, dan DNA provirus. Hal ini menunjukkan bahwa laktoferin berperan pada tahap awal infeksi virus ke dalam sel target.

Penelitian lainnya yang dilakukan oleh Moriuchi dkk.,<sup>41</sup> tahun 2001 menyatakan bahwa laktoferin dapat menghambat replikasi HIV-1 pada tempat melekat/masuknya virus. Hambatan tersebut bersifat *dose-dependent*. Artinya, makin tinggi dosis laktoferin, makin nyata kemampuannya menghambat replikasi HIV-1.

Pada tahun yang sama Ng dkk.,<sup>42</sup> melakukan penelitian efek berbagai protein susu sapi terhadap HIV-1. Hasilnya menunjukkan bahwa laktoferin memiliki kemampuan paling kuat menghambat HIV-1 *reverse transcriptase* sedangkan terhadap HIV-1 protease dan integrase efeknya tidak begitu kuat. Sebaliknya  $\alpha$ -laktalbumin,  $\beta$ -laktoglobulin dan kasein ternyata lebih mampu menghambat HIV-1 protease dan integrase. Glikolaktin dan angiogenin-1 tidak begitu kuat menekan aktivitas HIV-1 *reverse transcriptase* namun kemampuannya menghambat HIV-1 protease dan integrase sangat luar biasa. Glikolaktin merupakan inhibitor paling kuat terhadap HIV-1 protease dan integrase sedangkan terhadap HIV-1 *reverse transcriptase* efeknya tidak terlalu kuat. Lain halnya dengan laktogenin yang justru memiliki kemampuan paling kuat menghambat HIV-1 integrase tetapi terhadap HIV-1 *reverse transcriptase* hambatannya kurang kuat dan terhadap HIV-1 protease hambatannya paling lemah.

Berkhout dkk.,<sup>43</sup> tahun 2002 mengungkapkan bahwa laktoferin dapat menghambat interaksi virus HIV-1 dengan koreseptor kemokin CXCR4 dan CCR5. Interaksi antara HIV-1 dengan reseptor di sel target bersifat elektrostatis.

*V3 loop domain* dari gp120 memiliki muatan positif dan akan berikatan dengan koreseptor kemokin CCR5 maupun CXCR4 yang keduanya bermuatan negatif. Laktoferin juga bermuatan negatif, oleh karena itu laktoferin akan berikatan dengan *V3 loop domain* dari gp120 sehingga secara kompetitif laktoferin akan menghambat perlekatan antara gp120 dengan koreseptor kemokin pada sel target. Selain itu, pada penelitian ini juga ditemukan bahwa laktoferin sapi memiliki kemampuan menghambat HIV-1 lebih kuat dibandingkan laktoferin manusia.

Pada tahun 2005, Groot dkk.,<sup>44</sup> melaporkan bahwa laktoferin dapat menghambat transmisi HIV-1 ke sel dendritik dengan cara mencegah interaksi antara DC-SIGN dengan gp120. Melalui DC-SIGN, virus masuk ke dalam sel dan menetap selama beberapa hari untuk selanjutnya memasuki limfosit T. Dari penelitian tersebut terungkap bahwa laktoferin kolostrum sapi dapat menghambat masuknya virus dengan cara berikatan dengan DC-SIGN. Dilaporkan pula bahwa laktoferin kolostrum sapi selain non toksik, juga mampu menghambat replikasi HIV-1 di dalam limfosit T.

Telah diketahui bahwa kadar laktoferin dalam kolostrum ditemukan jauh lebih tinggi dibandingkan dengan kadar laktoferin selama fase menyusui berikutnya. Di negara maju, ibu menyusui yang terinfeksi HIV tidak dianjurkan memberikan ASI kepada bayinya karena risiko transmisi virus kepada bayi dapat terjadi lewat ASI. Sebaliknya, di negara berkembang di mana tidak ada pilihan lain (*no safe alternative*), maka penderita HIV tetap menyusui bayinya. Pencegahan dilakukan dengan memberikan zidovudine yakni obat ARV yang merupakan golongan *Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitors* (NsRTI). Intervensi zidovudine pada kehamilan dan pada bayi selama enam minggu pertama, mampu menurunkan transmisi perinatal HIV-1 sebesar 68%.<sup>45</sup>

Ternyata pada awal fase menyusui di mana kadar laktoferinnya masih cukup tinggi, risiko transmisi HIV-1 pada bayi menjadi rendah. Sebaliknya, berkurangnya kadar laktoferin pada fase menyusui berikutnya, berkaitan erat dengan meningkatnya risiko transmisi HIV-1. Berkenaan dengan itu Viani<sup>45</sup> dkk., tahun 1999 melakukan penelitian *in vitro* pengaruh pemberian laktoferin manusia dan sapi terhadap HIV-1 yang diberikan bersama dengan zidovudine. Hasilnya menunjukkan bahwa laktoferin memiliki efek sinergis dengan zidovudine.

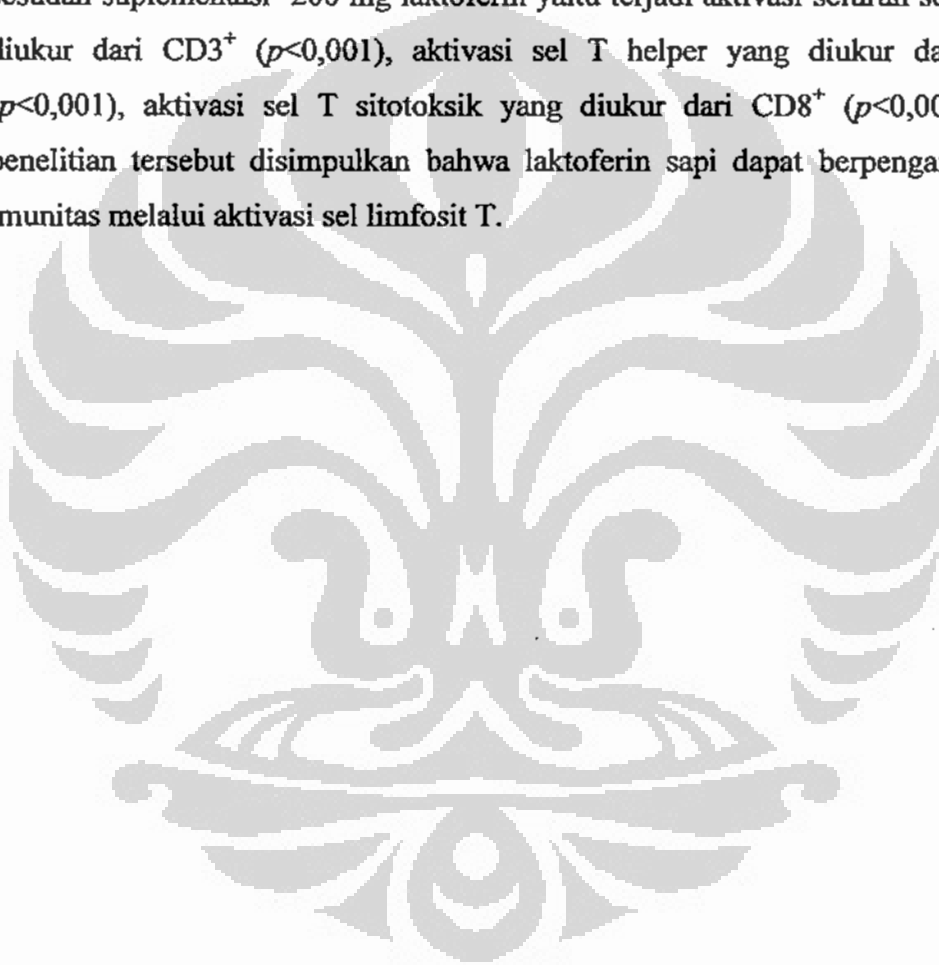
### 2.3.2.2. Penelitian laktoferin *in vivo*

Penelitian awal (*preliminary study*) mengenai peran laktoferin secara *in vivo* pada penderita HIV dilakukan tahun 2006 oleh Zuccotti dkk.<sup>10</sup> Dalam penelitian ini, laktoferin sapi sebanyak 3 g/hari diberikan selama enam bulan pada 22 anak yang terinfeksi HIV melalui transmisi vertikal. Pemeriksaan *viral load* serta jumlah limfosit CD4<sup>+</sup> dilakukan setiap tiga bulan; sebelum (T0), selama (T3) dan pada akhir pemberian laktoferin sapi (T6), serta dua bulan sesudahnya (T8). Pada akhir bulan ke enam secara bermakna didapatkan penurunan *viral load* plasma ( $p < 0,0001$ ) dan peningkatan persentase jumlah limfosit CD4<sup>+</sup> ( $p = 0,005$ ). Dua bulan sesudahnya yaitu pada T8 tidak didapatkan adanya perubahan bermakna nilai rerata *viral load* plasma dibandingkan dengan T0 dan T6, sedangkan persentase jumlah CD4<sup>+</sup> pada T8 secara bermakna ditemukan lebih tinggi dibandingkan dengan T0.<sup>10</sup>

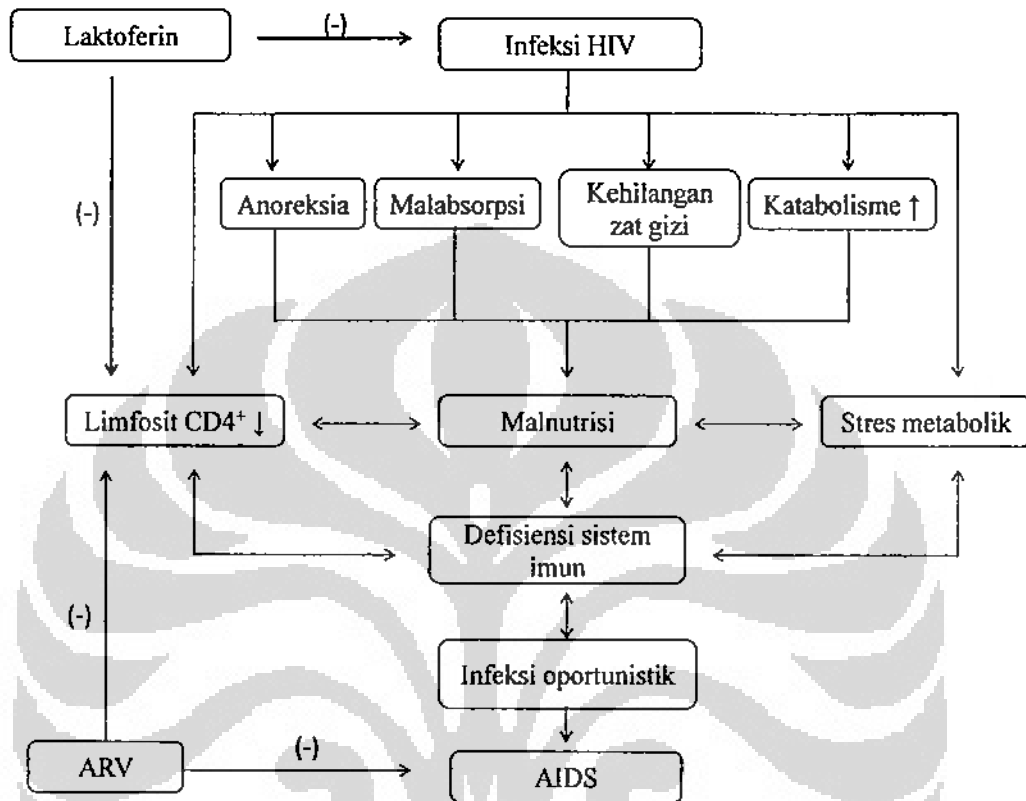
Pada penelitian tersebut, subyek penelitian dikelompokkan menjadi tiga yaitu kelompok 1 terdiri dari delapan anak yang tidak menerima obat ARV, kelompok 2 terdiri dari 11 anak yang menerima obat ARV, sedangkan kelompok 3 hanya tiga anak yang menerima *highly active antiretroviral therapy* (HAART). Kemudian dibandingkan perbedaan *viral load* plasma dan jumlah CD4<sup>+</sup> antara kelompok 1 dan 2. Kelompok 3 tidak dibandingkan karena jumlah subyeknya terlalu kecil. Nilai tengah (*median*) persentase penurunan *viral load* plasma antara kelompok 1 dan 2 setelah pemberian laktoferin ternyata tidak berbeda bermakna yaitu 42% pada kelompok 1 dan 49% pada kelompok 2. Hal ini sejalan dengan penelitian *in vitro* yang dilakukan Viani dkk., yaitu adanya efek sinergis antara laktoferin dengan ARV. Sebaliknya pada pemberian laktoferin selama enam bulan, nilai tengah persentase CD4<sup>+</sup> antara kelompok 1 dan 2 berbeda bermakna. Pada kelompok 1 terdapat peningkatan CD4<sup>+</sup> sebesar 13% sedangkan pada kelompok 2 sebesar 27%.<sup>10</sup>

Dari penelitian ini tidak ditemukan gejala baru yang berkaitan dengan infeksi HIV-1 selama dan setelah pemberian laktoferin, serta tidak ditemukan efek samping akibat pemberian laktoferin per oral. Disimpulkan bahwa laktoferin merupakan senyawa alami yang diproduksi tubuh dan dapat diberikan sebagai molekul yang aman tanpa adanya risiko efek samping.<sup>10</sup>

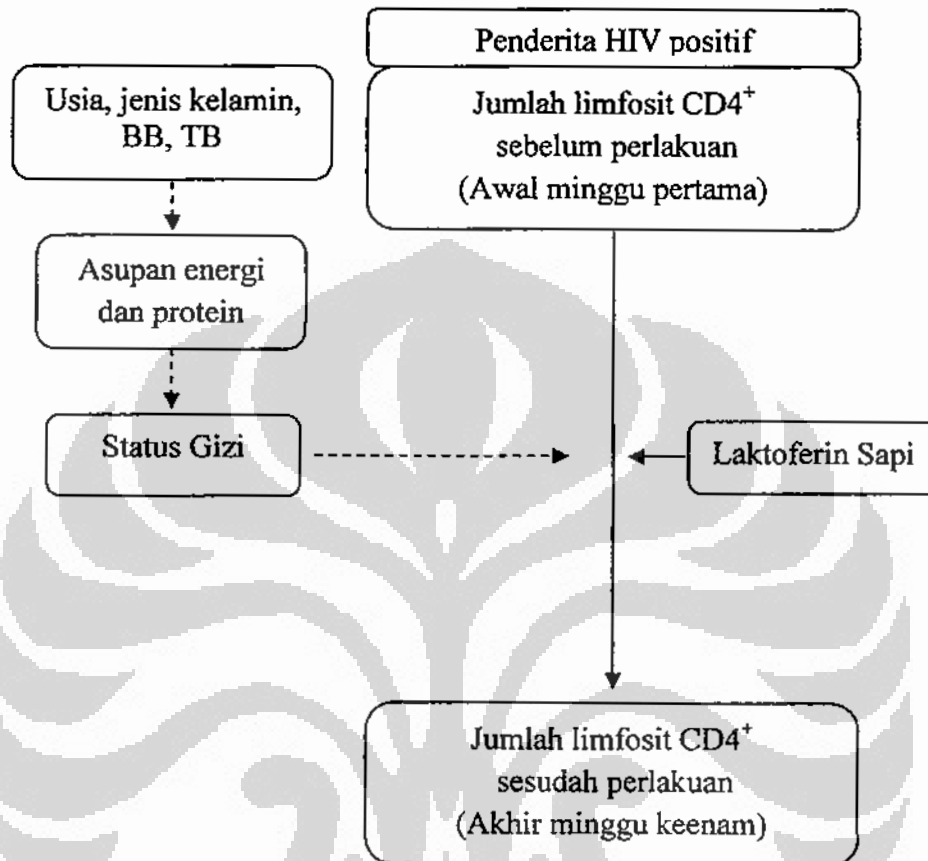
Pada tahun 2008 Mulder dkk.,<sup>11</sup> juga melakukan penelitian *in vivo* mengenai efek suplementasi laktoferin terhadap imunitas delapan pria sehat usia 30–55 tahun dengan disain penelitian *intraindividual repeated measure* selama 21 hari. Tujuh hari pertama subyek diberikan kapsul plasebo (kalsium fosfat), tujuh hari kedua diberikan kapsul berisi 100 mg laktoferin sapi dan 100 mg kalsium fosfat, dan tujuh hari terakhir diberikan hanya 200 mg laktoferin sapi. Hasilnya menunjukkan adanya perbedaan bermakna antara kadar sebelum dengan kadar sesudah suplementasi 200 mg laktoferin yaitu terjadi aktivasi seluruh sel T yang diukur dari CD3<sup>+</sup> ( $p < 0,001$ ), aktivasi sel T helper yang diukur dari CD4<sup>+</sup> ( $p < 0,001$ ), aktivasi sel T sitotoksik yang diukur dari CD8<sup>+</sup> ( $p < 0,001$ ). Dari penelitian tersebut disimpulkan bahwa laktoferin sapi dapat berpengaruh pada imunitas melalui aktivasi sel limfosit T.



## 2.4. Kerangka Teori



## 2.5. Kerangka Konsep



Keterangan :

- : hubungan yang diteliti
- - - → : hubungan yang tidak diteliti
- : variabel yang diamati

## **BAB 3**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1. Rancangan penelitian**

Penelitian ini merupakan *pre-post study design* untuk mengetahui pengaruh pemberian laktoferin sapi sebesar 200 mg per hari selama enam minggu terhadap jumlah limfosit CD4<sup>+</sup> pasien HIV positif.

#### **3.2. Tempat dan waktu penelitian**

Penelitian dilaksanakan di Kelompok Studi Khusus (POKDISUS) AIDS Departemen Ilmu Penyakit Dalam Rumah Sakit Umum Pusat Nasional Cipto Mangunkusumo (RSUPNKM) Jakarta. Pengumpulan data dilakukan pada bulan Februari 2010 sampai dengan bulan April 2010.

#### **3.3. Bahan penelitian**

##### **3.3.1. Populasi dan sampel**

###### **Populasi Target**

Seluruh penderita HIV positif berusia 20–49 tahun.

###### **Populasi Terjangkau**

Seluruh penderita HIV positif berusia 20–49 tahun yang datang berobat ke POKDISUS AIDS Departemen Ilmu Penyakit Dalam RSUPNKM Jakarta sejak awal bulan Februari 2010 sampai pertengahan Maret 2010.

###### **Subyek Penelitian**

Subyek penelitian adalah bagian dari populasi terjangkau yang memenuhi kriteria penelitian, dan secara tertulis menyatakan bersedia ikut serta dalam penelitian.

##### **3.3.2. Kriteria penelitian**

###### **Kriteria penerimaan**

- Pasien rawat jalan yang menderita HIV positif berdasarkan diagnosis dokter di POKDISUS.



- Indeks massa tubuh  $\geq 18,5 \text{ kg/m}^2$
- Belum mendapat obat ARV.
- Sudah mendapat obat ARV selama dua tahun namun jumlah  $\text{CD4}^+$  tidak mengalami peningkatan ( $\text{CD4}^+ < 400 \text{ sel}/\mu\text{L}$ ).
- Secara tertulis bersedia mengikuti penelitian dan menandatangani formulir persetujuan.

#### **Kriteria penolakan**

- Subyek penelitian dalam keadaan hamil atau menyusui, diketahui dari anamnesis.
- Subyek penelitian mendapatkan terapi obat anti tuberkulosis (OAT)
- Subyek penelitian menderita diare kronis (diare yang berlangsung terus menerus selama lebih dari 15 hari) yang diketahui dari anamnesis.
- Subyek memiliki riwayat alergi terhadap susu sapi yang diketahui dari anamnesis.

#### **Kriteria pengeluaran**

- Subyek penelitian yang belum mendapat obat ARV, mengalami perburukan sehingga harus diberikan obat ARV dalam periode penelitian.
- Subyek penelitian menolak/ berhalangan melanjutkan penelitian.
- Subyek penelitian mengonsumsi kapsul laktoferin sapi kurang dari 80% jumlah kapsul yang diberikan selama enam minggu.

### **3.3.3 Besar sampel**

Penelitian ini merupakan penelitian awal (*preliminary study*) pengaruh pemberian laktoferin sapi 200 mg per hari selama enam minggu pada pasien HIV positif dewasa. Besar sampel yang lazim digunakan untuk penelitian awal adalah 30 orang. Perkiraan kemungkinan drop out 10% sehingga besar sampel keseluruhan menjadi 33 orang. Cara lain yang dapat digunakan untuk menentukan besar sampel penelitian awal adalah dengan membatasi waktu pengumpulan subyek.

Pada penelitian ini pengumpulan subyek dibatasi mulai awal bulan Februari 2010 sampai dengan pertengahan Maret 2010. Alasannya ialah, untuk melihat perubahan status imun, dibutuhkan waktu minimal enam minggu. Jumlah sampel yang terkumpul adalah 32 orang, namun yang mengikuti penelitian dengan lengkap hanya 28 orang.

### 3.4. Instrumen pengumpulan data

#### 3.4.1. Formulir

- Formulir A: lembar informasi penelitian dan persetujuan sebagai subyek penelitian.
- Formulir B: formulir seleksi.
- Formulir C: formulir yang berisi data usia, jenis kelamin, dan faktor risiko penularan.
- Formulir D: *food recall* 1 x 24 jam dan *food record* 3 x 24 jam, dan evaluasi kepatuhan meminum kapsul laktoferin sapi.
- Formulir E: pemeriksaan antropometri dan jumlah limfosit CD4<sup>+</sup> subyek sebelum perlakuan, yaitu di awal minggu pertama dan akhir minggu keenam penelitian.

#### 3.4.2. Peralatan

- Ukuran tinggi badan, *Microtoise Stature* 2 m dengan ketelitian 0,1 cm.
- Timbangan berat badan, digital Seca 804 dengan ketelitian 0,1 kg.
- *Disposable syringe needle* 3 ml.
- *Tourniquet* dan kapas alkohol 70%.
- Sarung tangan.
- Tabung EDTA *vacutainer*.

#### 3.4.3. Spesimen

Darah vena kubiti 3 ml, diambil sebelum perlakuan dan akhir minggu keenam penelitian.

### 3.5. Cara Kerja

#### 3.5.1. Cara memperoleh subyek penelitian

Penelitian dimulai setelah mendapat persetujuan dari Komite Etik FKUI. Seleksi tahap awal terhadap semua pasien yang datang dilakukan berdasarkan data rekam medik. Rekam medik pasien yang datanya sesuai dengan kriteria penelitian dipilah untuk selanjutnya dilakukan pemilihan subyek penelitian dengan metode *consecutive sampling*. Pasien yang dipilih sebagai subyek penelitian adalah pasien HIV positif yang tidak dalam pengobatan OAT, meliputi pasien baru atau lama yang belum mendapat ARV, serta pasien yang telah mendapat ARV selama dua tahun namun tidak mengalami kenaikan jumlah limfosit CD4<sup>+</sup> (<400 sel/ $\mu$ L).

Selanjutnya, pasien diberikan lembar informasi penelitian dan dijelaskan mengenai tujuan, manfaat, risiko serta pemeriksaan yang akan dilakukan (formulir A1). Pasien yang menyatakan bersedia ikut serta dalam penelitian diminta untuk mengisi dan menandatangani lembar persetujuan (*informed consent*) sebagai bukti bersedia turut serta dalam penelitian (formulir A2). Selanjutnya, untuk mendapatkan subyek penelitian, pasien HIV positif diseleksi berdasarkan kriteria penelitian dengan menggunakan formulir seleksi (formulir B).

#### 3.5.2. Pelaksanaan penelitian

Sebelum perlakuan, dilakukan wawancara untuk memperoleh data karakteristik subyek. Setelah itu, dengan metode *food recall* 1 x 24 jam, masing-masing subyek diminta mengingat semua makanan yang dikonsumsi sehari sebelumnya. Selanjutnya, dilakukan pengambilan darah untuk penentuan jumlah limfosit CD4<sup>+</sup>. Subyek juga diberi formulir *food record* pertama untuk mencatat makanan yang dikonsumsi selama 3 x 24 jam. Setelah itu subyek penelitian diberi kapsul berisi 200 mg laktoferin sapi untuk jangka waktu dua minggu pertama dan dijelaskan bahwa kapsul tersebut harus diminum satu butir setiap hari. Subyek penelitian diingatkan melalui telepon/*short message service* (sms) untuk teratur minum kapsul. Keluhan subyek selama meminum kapsul dicatat dan juga kepatuhan selama mengonsumsi kapsul laktoferin sapi, dievaluasi.

Dua minggu berikutnya, subyek penelitian diminta datang kembali untuk mengambil kapsul lanjutan dan mengembalikan formulir *food record* pertama

yang telah diisi. Pada minggu keempat penelitian, ketika subyek datang kembali mengambil kapsul, diberikan formulir *food record* kedua untuk diisi dan dikembalikan pada akhir minggu keenam. Ketika formulir *food record* kedua yang telah diisi dikembalikan, dilakukan pula pengambilan data asupan makanan dengan metode *food recall* 1 x 24 jam, pemeriksaan antropometri, dan pengambilan darah untuk penentuan jumlah limfosit CD4<sup>+</sup>.

### 3.5.3. Prosedur Pengumpulan Data

#### Wawancara

Wawancara data karakteristik subyek penelitian meliputi usia, jenis kelamin, dan faktor risiko penularan dilakukan dengan menggunakan kuesioner yang telah disiapkan (formulir C). Selain itu, wawancara juga dilakukan untuk memperoleh data asupan makanan dengan metode *food recall* 1 x 24 jam yang dicatat pada formulir D1.

#### Pemeriksaan asupan makanan

- Data asupan makanan

Diperoleh melalui wawancara dengan metode *food recall* 1 x 24 jam yang dicatat pada formulir D1. Dalam metode ini subyek diminta mengingat makanan yang telah dikonsumsi selama 1 x 24 jam dengan menanyakan jenis dan perkiraan jumlah makanan yang dikonsumsi. Untuk membantu subyek memperkirakan jumlah makanan, digunakan alat peraga porsi makanan (*food models*). Data semua makanan yang dikonsumsi termasuk cara memasaknya dicatat dengan teliti.<sup>46</sup> Hasilnya dicatat dalam satuan ukuran rumah tangga, kemudian dikonversi menjadi satuan gram dengan menggunakan daftar analisis bahan makanan dan dianalisis dengan menggunakan program *nutrisurvey* 2007 untuk menilai asupan energi dan protein.

Selain itu, data asupan makanan juga diperoleh melalui metode *food record*. Dalam metode ini, subyek diminta mencatat makanan yang dikonsumsi selama 3 x 24 jam (sebelum dan akhir penelitian). Hasilnya dicatat dalam formulir catatan asupan makanan (formulir D2) meliputi jenis dan

jumlah makanan. Jumlah makanan diukur menggunakan ukuran rumah tangga seperti sendok, gelas, dan lain-lain.<sup>46</sup>

- Evaluasi konsumsi kapsul laktoferin sapi  
Setiap minggu dilakukan evaluasi untuk mengetahui berapa jumlah kapsul laktoferin yang telah dikonsumsi dan berapa yang tersisa. Hasilnya dicatat pada formulir D3.

### Pengukuran antropometri

Pengukuran antropometri yaitu TB dan BB dilakukan sebelum dan setelah perlakuan. Setiap pengukuran dilakukan sebanyak dua kali dan data yang diambil adalah rata-rata dari hasil pengukuran tersebut. Hasil pengukuran digunakan untuk menentukan indeks massa tubuh (IMT).

- Pengukuran TB

Menggunakan *Microtoise Stature 2 m* yang digantung pada dinding setinggi dua meter dari lantai. Pada waktu pengukuran, subyek berdiri tegak tanpa alas kaki pada permukaan datar, kedua kaki lurus, lutut dan tumit merapat. Pandangan lurus ke depan dengan bagian belakang kepala, bokong dan tumit menempel pada dinding. Bahu relaks, kedua lengan tergantung bebas di sisi tubuh. Kemudian pita *microtoise* ditarik perlahan ke bawah sampai menyentuh puncak kepala dan rambut tertekan. Skala dibaca saat subyek inspirasi maksimum.<sup>46</sup> Hasil rerata pengukuran TB dicatat dalam formulir E.

- Penimbangan BB

Menggunakan timbangan digital *Seca 804* dengan ketelitian 0,1 kg yang diletakkan pada permukaan datar dan keras. Alat timbangan terlebih dahulu dikalibrasi. Sebelum melakukan penimbangan, subyek diminta melepas alas kaki, perhiasan, ataupun benda yang dapat menambah berat. Pada saat akan ditimbang, pastikan skala pada timbangan menunjukkan nilai nol, dan subyek diminta untuk berdiri di tengah-tengah timbangan tanpa bantuan.<sup>46</sup> Hasil rerata penimbangan BB sebelum dan sesudah perlakuan dicatat dalam formulir E.

### Pemeriksaan laboratorium

Pemeriksaan jumlah limfosit CD4<sup>+</sup> dilakukan dengan metode *flowcytometry* yang dilakukan sebelum dan setelah perlakuan. Alat yang digunakan adalah BD FACS Calibur (Becton, Dickinson, and Company, USA). Prosedur pemeriksaan terdapat di lampiran 10. Hasil pemeriksaan jumlah limfosit CD4<sup>+</sup> sebelum dan sesudah perlakuan dicatat dalam formulir E.

### 3.6. Identifikasi variabel

- Variabel bebas pada penelitian ini adalah usia, jenis kelamin, BB, TB, status gizi, serta asupan energi dan protein.
- Variabel terikat pada penelitian ini adalah jumlah limfosit CD4<sup>+</sup>.
- Intervensi pada penelitian ini adalah laktoferin sapi.

Tabel 3.1 Matriks variabel indikator

Variabel	Indikator	Skala	Metode	Kepustakaan
Faktor demografi	1. Usia	Rasio	Wawancara	
	2. Jenis kelamin	Nominal	Wawancara	
Asupan makanan	Energi dan protein	Rasio	<i>food recall</i> dan <i>food record</i>	Gibson <sup>46</sup>
Status gizi	IMT	Rasio	Antropometri	WPRO-WHO <sup>47</sup>
Jumlah limfosit CD4 <sup>+</sup>	Limfosit CD4 <sup>+</sup>	Rasio	<i>Flowcytometry</i>	Bartlett dan Garland <sup>48</sup>

### 3.7. Pengolahan, analisis dan interpretasi, serta penyajian data

#### 3.7.1. Pengolahan data

Data yang diperoleh dari seluruh pemeriksaan (wawancara, antropometri, pemeriksaan jumlah limfosit CD4<sup>+</sup>) dikumpulkan, kemudian dilakukan pengolahan data meliputi *editing*, *coding*, *entry* dan *cleaning* data menggunakan kalkulator dan komputer.

#### 3.7.2. Analisis dan interpretasi data

Data dianalisis dengan menggunakan program *Statistical Package for Social Science* (SPSS versi 11.5). Analisis data asupan energi dan protein dilakukan dengan menggunakan program *nutrisurvey* 2007.

- Data mengenai karakteristik demografi disajikan dalam bentuk deskriptif.
- Untuk mengetahui apakah data berdistribusi normal atau tidak normal, secara analitik digunakan uji Saphiro-Wilk. Bila didapat nilai  $p > 0,05$  maka data berdistribusi normal dan sebaliknya.
- Bila data berdistribusi normal digunakan nilai rerata dan simpang baku; sedangkan bila data berdistribusi tidak normal digunakan nilai median dan minimum-maksimum.
- Untuk mengetahui perbedaan antara dua variabel numerik, dilakukan analisis statistik dengan uji t berpasangan apabila kedua data berdistribusi normal; atau uji Wilcoxon apabila data berdistribusi tidak normal.
- Batas kemaknaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebesar 5% dengan ketentuan :

Bermakna : bila  $p < 0,05$

Tidak bermakna : bila  $p \geq 0,05$

### 3.7.3. Penyajian data

Data disajikan dalam bentuk tekstular, tabular dan diagram.

### 3.8. Batasan operasional

#### 1. Subyek

Subyek penelitian adalah laki-laki dan perempuan penderita HIV positif yang berkunjung ke POKDISUS AIDS Departemen Ilmu Penyakit Dalam RSUPNCM Jakarta dan memenuhi kriteria penelitian. Diagnosis HIV positif dilakukan oleh dokter yang merawat berdasarkan pemeriksaan laboratorium, menggunakan metode ELISA sebanyak tiga kali dengan reagen berbeda, atau ELISA sebanyak dua kali dan *Western Blot* satu kali. Dalam penelitian ini ada subyek yang belum dan ada yang sudah mendapat ARV. Hal tersebut tergantung dari jumlah limfosit  $CD4^+$ , ada tidaknya infeksi oportunistik, dan komitmen pasien untuk patuh minum ARV seumur hidup.

## 2. Usia

Usia adalah usia kronologis yang ditentukan dari tanggal lahir yang tertera di Kartu Tanda Penduduk (KTP) berdasarkan ulang tahun terakhir.

## 3. Status gizi

Status gizi adalah tingkat keadaan gizi yang ditentukan berdasarkan IMT, dihitung dengan cara membagi BB dalam kilogram dengan TB dalam meter kuadrat. Klasifikasi status gizi dilakukan berdasarkan IMT menurut kriteria WHO untuk wilayah Asia Pasifik sebagai berikut:

Tabel 3.2 Klasifikasi status gizi

IMT ( $\text{kg}/\text{m}^2$ )	Klasifikasi
< 18,5	Berat badan kurang
18,5 – 22,9	Berat badan normal
$\geq 23$	Berat badan lebih
23 – 24,9	Berisiko
25 – 29,9	Obes I
$\geq 30$	Obes II

Sumber: WPRO-WHO<sup>47</sup>

## 4. Asupan energi dan protein

Asupan energi dan protein adalah jumlah kalori dan protein yang dikonsumsi dari makanan sehari-hari yang dinilai dengan metode *food recall* 1 x 24 jam dan *food record* 3 x 24 jam.

### • Kecukupan energi

Kecukupan energi dihitung terhadap kebutuhan energi total individu yang ditentukan dari kebutuhan energi basal (*Basal Energy Expenditure*, BEE) dalam satuan kkal. BEE dihitung dengan menggunakan rumus Harris-Benedict:

$$\text{Pria} \quad : \text{BEE} = 66,47 + 13,75 \text{ BB} + 5 \text{ TB} - 6,76 \text{ Umur}$$

$$\text{Wanita} \quad : \text{BEE} = 655 + 9,56 \text{ BB} + 1,85 \text{ TB} - 4,68 \text{ Umur}$$

Kebutuhan energi total (KET) = BEE x 1,3 (faktor stres untuk penderita HIV/AIDS).



Kecukupan energi diklasifikasikan menjadi<sup>49</sup>:

Kurang	: < 80% KET
Cukup	: 80 – 120% KET
Lebih	: > 120% KET

- **Kecukupan protein**

Kecukupan protein untuk penderita HIV/AIDS adalah sebesar 1–1,5 g/kg BB/hari. Kecukupan asupan protein dikasifikasikan menjadi<sup>49</sup>:

Kurang	: < 1 g/kg BB/hari
Cukup	: 1–1,5 g/kg BB/hari
Lebih	: > 1,5 g/kg BB/hari

5. Kapsul laktoferin sapi

Kapsul laktoferin sapi adalah suplemen dalam bentuk kapsul berisi 200 mg laktoferin sapi yang dibuat oleh PT. Mahakam Beta Farma.

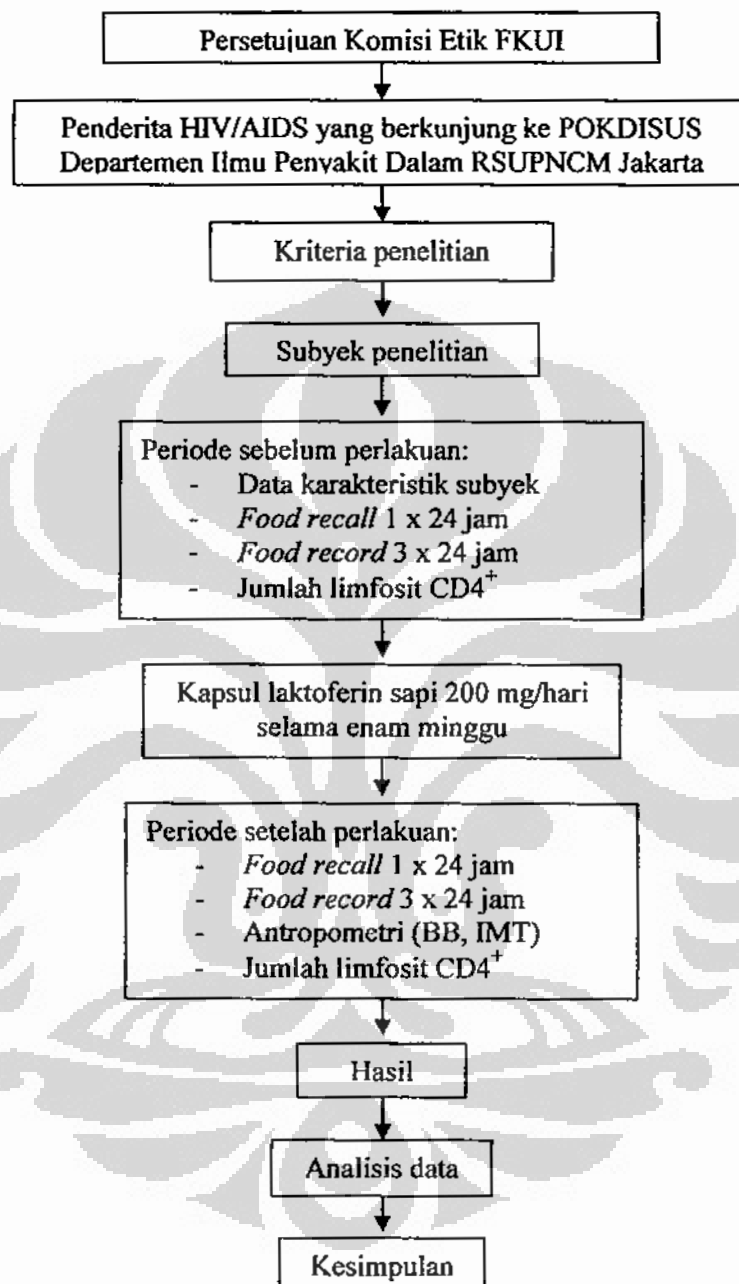
6. Jumlah Limfosit CD4<sup>+</sup>

Jumlah limfosit CD4<sup>+</sup> adalah banyaknya limfosit CD4<sup>+</sup> dalam tiap mikroliter sampel darah penderita HIV/AIDS.

### 3.9. Organisasi Penelitian

Peneliti utama	: dr. Florentina Mariane Rahardja
Pembimbing I	: dr. Lanny Lestiani, MSc, SpGK
Pembimbing II	: dr. Nanang Sukmana, SpPD-KAI

### 3.10. Alur penelitian



## BAB 4

### HASIL PENELITIAN

#### 4.1. Seleksi subyek penelitian

Pengumpulan data penelitian dilakukan mulai tanggal 1 Februari 2010 sampai dengan 26 April 2010 di POKDISUS AIDS FKUI/RSUPNCM Jakarta yang merupakan sentra pelayanan penderita HIV/AIDS. Setiap hari, jumlah pasien yang datang berobat ke POKDISUS berkisar antara 70–80 orang dan pasien baru yang dinyatakan HIV positif jumlahnya sekitar 2–5 orang. Cara memperoleh subyek dilakukan sesuai dengan prosedur yang telah ditetapkan dalam bab 3, butir 3.5.1

Selanjutnya, terhadap setiap pasien terpilih diberikan penjelasan mengenai penelitian yang akan dilakukan. Hasilnya ialah, 34 dari 36 pasien tersebut bersedia menandatangani lembar persetujuan (*informed consent*) untuk ikutserta dalam penelitian. Ternyata, setelah dilakukan pemeriksaan sesuai kriteria penelitian yang telah ditetapkan, dua dari 34 pasien tersebut tidak memenuhi kriteria penelitian, sehingga jumlah subyek penelitian sebelum perlakuan adalah 32 orang. Selama periode perlakuan, empat orang subyek dinyatakan *drop out* karena dua orang menolak melanjutkan, satu orang tidak teratur minum kapsul dan yang satu orang lagi pindah ke lain kota sehingga jumlah subyek yang mengikuti penelitian secara lengkap hanya 28 orang. Hingga akhir penelitian, ternyata kepatuhan (*compliance*) masing-masing subyek penelitian yang dipantau secara berkala, sangat baik.

#### 4.2. Sebaran subyek penelitian

Dari 28 subyek penelitian, sebagian besar di antaranya (18 subyek) berjenis kelamin laki-laki (64,29%), dengan rerata usia  $30,3 \pm 4,46$  tahun. Berdasarkan klasifikasi IMT, sebagian besar subyek penelitian yaitu 82,14% status gizinya tergolong normal. Sesuai kriteria penerimaan, tidak ada subyek yang status gizinya kurang ( $IMT < 18,5 \text{ kg/m}^2$ ). Berdasarkan faktor risiko penularan, ditemukan 53,57% subyek terinfeksi HIV melalui penggunaan jarum suntik akibat penyalahgunaan obat (IDU) dan sisanya yaitu 46,43% terinfeksi melalui

hubungan seksual. Dalam penelitian ini 57,14% subyek telah mendapat pengobatan dengan ARV dan selebihnya belum mendapat ARV. Karakteristik subyek selengkapnya dapat dilihat pada tabel 4.1.

Tabel 4.1. Sebaran subyek penelitian berdasarkan usia, jenis kelamin, status gizi, dan faktor risiko penularan

Variabel	Belum ARV n (%)	Sudah ARV n (%)	Jumlah n (%)
Usia (tahun)			
20-29	7 (58,33)	7 (43,75)	14 (50,00)
30-39	5 (41,67)	8 (50,00)	13 (46,43)
40-49	0 (0)	1 (6,25)	1 (3,57)
Jenis kelamin			
Laki-laki	4 (33,33)	14 (87,50)	18 (64,29)
Perempuan	8 (66,67)	2 (12,50)	10 (35,71)
Status gizi			
Normal	10 (83,33)	13 (81,25)	23 (82,14)
Berisiko	0 (0)	2 (12,50)	2 (7,13)
Obes I	1 (8,33)	1 (6,25)	2 (7,13)
Obes II	1 (8,33)	0 (0)	1 (3,60)
Faktor risiko penularan			
IDU	2 (16,67)	13 (81,25)	15 (53,57)
Hubungan seksual	10 (83,33)	3 (18,75)	13 (46,43)
Jumlah	12 (42,86)	16 (57,14)	28 (100)

#### 4.3. Asupan energi dan protein

Data tentang asupan energi dan protein pada awal dan akhir penelitian dikumpulkan dengan metode *food recall* 1 x 24 jam dan *food record* 3 x 24 jam. Untuk memperoleh persepsi yang sama tentang kuantitas makanan yang dikonsumsi subyek, dilakukan verifikasi menggunakan *food model*. Semua makanan yang dikonsumsi subyek kemudian dianalisis dengan menggunakan perangkat lunak *nutrisurvey*. Hasilnya dikelompokkan dalam kategori kurang, cukup, dan lebih menurut masing-masing metode.

Sebaran subyek berdasarkan asupan energi dan protein pada awal penelitian, baik dengan metode *food recall* maupun *food record* dapat dilihat pada tabel 4.2. Pada awal penelitian, tampak bahwa dengan metode *food recall*, sebagian besar subyek (78,57%) asupan energinya termasuk dalam kategori

kurang dan pada akhir penelitian jumlahnya meningkat menjadi 82,14%. Sebaliknya di awal penelitian, dengan metode yang sama, sebagian besar subyek (82,14%) asupan proteinnya termasuk dalam kategori kurang namun di akhir penelitian jumlahnya menurun menjadi 75%. Dengan metode *food record*, terlihat bahwa di awal penelitian 67,86% subyek asupan energinya termasuk dalam kategori kurang namun di akhir penelitian jumlahnya bertambah menjadi 71,43%. Sebaliknya, dengan metode yang sama jumlah subyek yang asupan proteinnya termasuk kategori kurang adalah 71,43% dan jumlahnya menurun di akhir penelitian menjadi 67,86%.

Tabel 4.2. Sebaran subyek berdasarkan kategori asupan energi dan protein dengan metode *food recall* dan *food record* di awal dan akhir penelitian

Kategori asupan	Metode <i>food recall</i>		Metode <i>food record</i>	
	Awal n (%)	Akhir n (%)	Awal n (%)	Akhir n (%)
<b>Energi</b>				
Kurang	22 (78,57)	23 (82,14)	19(67,86)	20 (71,43)
Cukup	5 (17,86)	4 (14,29)	8 (28,57)	7 (25,00)
Lebih	1 (3,57)	1 (3,57)	1 (3,57)	1 (3,57)
<b>Protein</b>				
Kurang	23 (82,14)	21 (75,00)	20 (71,43)	19 (67,86)
Cukup	5 (17,86)	7 (25,00)	8 (28,57)	9 (32,14)
Lebih	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
<b>Jumlah</b>	<b>28 (100)</b>	<b>28 (100)</b>	<b>28 (100)</b>	<b>28 (100)</b>

Pada akhir penelitian, baik dengan metode *food recall* maupun *food record* terlihat subyek yang asupan energinya termasuk dalam kategori kurang, jumlahnya bertambah yaitu menjadi berturut-turut 82,14% dan 71,43%. Sebaliknya, pada akhir penelitian, subyek yang asupan proteinnya termasuk dalam kategori kurang, jumlahnya justru menurun menjadi 75% dengan *food recall* dan 67,86% dengan *food record*.

#### 4.4. Perbandingan asupan energi dan protein

Pada tabel 4.3 disajikan nilai median, minimum, dan maksimum asupan energi serta nilai rerata asupan protein subyek di awal dan akhir penelitian berdasarkan metode *food recall* 1 x 24 jam. Hasil uji Wilcoxon terhadap nilai asupan energi di awal dan akhir penelitian tersebut ternyata tidak berbeda bermakna ( $p=0,07$ ). Demikian pula hasil uji t berpasangan terhadap nilai rerata asupan protein subyek di awal dan akhir penelitian ternyata tidak berbeda bermakna ( $p=0,013$ ).

Tabel 4.3. Perbandingan asupan energi dan protein subyek berdasarkan metode *food recall* dan *food record* di awal dan akhir penelitian (n=28)

Asupan	Awal	Akhir	p
<b>Metode <i>food recall</i></b>			
Energi (kkal/hari)	1430,65 (1215,30–2572,50)	1407,55 (1205,40–2548,90)	0,07 <sup>w</sup>
Protein (g/hari)	53,15 ± 8,49	52,50 ± 7,68	0,13 <sup>t</sup>
<b>Metode <i>food record</i></b>			
Energi (kkal/hari)	1432,20 (1218,40–2563,70)	1426,70 (1227,30–2581,50)	0,09 <sup>w</sup>
Protein (g/hari)	54,54 ± 8,26	53,87 ± 8,03	0,14 <sup>t</sup>

t: uji t berpasangan, w: uji Wilcoxon

Pada tabel 4.3 dapat dilihat nilai median, minimum, dan maksimum asupan energi serta nilai rerata asupan protein subyek di awal dan akhir penelitian berdasarkan metode *food record* 3 x 24 jam. Hasil uji Wilcoxon terhadap nilai asupan energi di awal dan akhir penelitian ternyata tidak berbeda bermakna ( $p=0,09$ ). Demikian pula hasil uji t berpasangan terhadap nilai rerata asupan protein subyek di awal dan akhir penelitian ternyata tidak berbeda bermakna ( $p=0,14$ ).

Selanjutnya, asupan energi dan protein terhadap kebutuhan total masing-masing dianalisis menggunakan data *food record*. Dalam tabel 4.4 di bawah ini dapat dilihat persentase asupan energi, dan protein terhadap kebutuhan total masing-masing berdasarkan metode *food record* di awal dan akhir penelitian. Hasil uji Wilcoxon terhadap asupan energi tersebut di awal dan akhir penelitian ternyata tidak berbeda bermakna ( $p=0,62$ ). Demikian pula hasil uji t berpasangan

antara nilai rerata asupan protein subyek di awal dan akhir penelitian ternyata tidak berbeda bermakna ( $p \geq 0,14$ ). Persentase asupan energi subyek terhadap kebutuhan energi total di awal penelitian adalah 75,36 % dan di akhir penelitian 75,07%. Sementara itu, persentase asupan protein subyek terhadap kebutuhan protein total di awal penelitian adalah 94,72 % dan di akhir penelitian 93,56%. Rasio energi yang berasal dari protein terhadap kebutuhan energi total di awal penelitian adalah 11,54% dan di akhir penelitian 11,43%.

Tabel 4.4. Asupan energi, protein, dan persentase terhadap kebutuhan total berdasarkan data *food record* di awal dan akhir penelitian (n=28)

Variabel	Awal	Akhir	<i>p</i>
<b>ENERGI</b>			
Asupan energi (kcal/hari)	1432,20 (1218,40–2563,70)	1426,70 (1227,30–2581,50)	0,62 <sup>w</sup>
% terhadap kebutuhan energi total	75,36	75,07	
<b>PROTEIN</b>			
Asupan protein (g/hari)	54,54 ± 8,26	53,87 ± 8,03	0,14 <sup>t</sup>
% terhadap kebutuhan protein total	94,72	93,56	
Rasio energi dari protein terhadap total energi (%)	11,54	11,43	

t: uji t berpasangan, w: uji Wilcoxon

Kebutuhan energi total (kcal/hari): 1889,52 ± 22,3

Kebutuhan protein total (g/hari) : 57,58 ± 9,19

#### 4.5. Antropometrik

Hasil uji Saphiro-Wilk terhadap data antropometrik menunjukkan bahwa data tinggi dan berat badan subyek penelitian berdistribusi normal, sedangkan data indeks massa tubuh subyek tidak berdistribusi normal. Nilai rerata tinggi badan subyek adalah 163,54 ± 8,73 cm. Perbandingan nilai rerata berat badan dan nilai median, minimum, dan maksimum indeks massa tubuh subyek di awal dan akhir penelitian dapat dilihat pada tabel 4.5. Hasil uji t berpasangan terhadap nilai rerata berat badan subyek di awal dan akhir penelitian ternyata tidak berbeda bermakna ( $p=0,15$ ). Demikian pula hasil uji Wilcoxon terhadap nilai median,

minimum, dan maksimum indeks massa tubuh subyek di awal dan akhir penelitian ternyata tidak berbeda bermakna ( $p=0,12$ ).

Tabel 4.5. Perbandingan berat badan dan indeks massa tubuh subyek di awal dan akhir penelitian (n=28)

Variabel	Awal	Akhir	<i>p</i>
Berat badan (kg)	57,66 ± 9,15	57,43 ± 9,38	0,15 <sup>t</sup>
IMT (kg/m <sup>2</sup> )	20,91 (18,52–30,29)	20,97 (17,43–30,75)	0,12 <sup>w</sup>

t: uji t berpasangan, w: uji Wilcoxon

#### 4.6. Jumlah limfosit CD4<sup>+</sup>

Pada tabel 4.6 disajikan nilai rerata jumlah limfosit CD4<sup>+</sup> seluruh subyek di awal penelitian dan nilai median, minimum, dan maksimum jumlah limfosit CD4<sup>+</sup> seluruh subyek di akhir penelitian. Hasil uji Wilcoxon terhadap kedua kelompok nilai tersebut ternyata tidak berbeda bermakna ( $p=0,22$ ).

Tabel 4.6. Perbandingan jumlah limfosit CD4<sup>+</sup> subyek di awal dan akhir penelitian (n=28)

Variabel	Awal	Akhir	<i>p</i>
Jumlah limfosit CD4 <sup>+</sup> (sel/μL)	231, 85 ± 122,89	236,50 (50,00–731,00)	0,22 <sup>w</sup>

w: uji Wilcoxon

#### 4.7. Jumlah limfosit CD4<sup>+</sup> subyek yang belum dan sudah mendapat ARV

Pada tabel 4.7 dapat dilihat nilai rerata jumlah limfosit CD4<sup>+</sup> subyek penelitian pada kelompok yang belum mendapat ARV di awal dan akhir penelitian serta nilai rerata jumlah limfosit CD4<sup>+</sup> subyek penelitian pada kelompok yang sudah mendapat ARV di awal dan akhir penelitian. Hasil uji t berpasangan terhadap nilai rerata jumlah limfosit CD4<sup>+</sup> subyek penelitian yang belum mendapat ARV di awal dan akhir penelitian ternyata tidak berbeda bermakna ( $p=0,35$ ). Demikian pula hasil uji t berpasangan terhadap nilai rerata jumlah limfosit CD4<sup>+</sup> subyek



penelitian yang sudah mendapat ARV di awal dan akhir penelitian ternyata tidak berbeda bermakna ( $p=0,12$ ).

Tabel 4.7. Perbandingan jumlah limfosit CD4<sup>+</sup> subyek yang belum dan sudah mendapat ARV di awal dan akhir penelitian

Kelompok	n (%)	Jumlah limfosit CD4 <sup>+</sup>		p
		Awal	Akhir	
Belum ARV	12 (42,86)	302,33 ± 132,79	345,33 ± 202,23	0,35 <sup>t</sup>
Sudah ARV	16 (57,14)	178,00 ± 84,77	204,38 ± 122,66	0,12 <sup>t</sup>

t: uji t berpasangan

Pada tabel 4.8 disajikan hubungan jumlah limfosit CD4<sup>+</sup> dalam kategori naik atau tidak naik pada kelompok subyek yang belum dan sudah mendapat ARV setelah pemberian laktoferin sapi. Ternyata pemberian laktoferin meningkatkan jumlah limfosit CD4<sup>+</sup> pada 7 dari 12 subyek yang belum mendapat ARV. Pada subyek yang sudah mendapat ARV, pemberian laktoferin meningkatkan jumlah limfosit CD4<sup>+</sup> pada 9 dari 16 subyek penelitian. Hasil uji Chi-Square terhadap kedua kelompok subyek menunjukkan bahwa kenaikan tersebut tidak berbeda bermakna ( $p=0,91$ ).

Tabel 4.8. Hubungan jumlah limfosit CD4<sup>+</sup> antara kelompok subyek yang belum dan sudah mendapat ARV setelah pemberian laktoferin sapi

Kelompok	Kategori perubahan jumlah limfosit CD4 <sup>+</sup>		Jumlah n (%)
	Naik n (%)	Tidak naik n (%)	
Belum ARV	7 (58,33)	5 (41,67)	12 (100)
Sudah ARV	9 (56,25)	7 (43,75)	16 (100)
Jumlah	16 (57,14)	12 (42,86)	28 (100)

Uji Chi-Square,  $p=0,91$ .

## BAB 5 PEMBAHASAN

### 5.1. Keterbatasan penelitian

#### 5.1.1. Metode penelitian

Keterbatasan penelitian dalam hal ini berkaitan dengan penentuan jumlah subyek penelitian. Pada penelitian awal, jumlah subyek penelitian tidak ditentukan dengan rumus yang umum digunakan untuk menghitung besar sampel, melainkan hanya berdasarkan pada jumlah sampel minimal yang lazim digunakan yaitu paling banyak 30 orang. Cara lain yang juga lazim diterapkan dalam penentuan subyek untuk penelitian awal ialah, dengan membatasi waktu pengumpulan subyek penelitian. Dengan cara ini, maka ada kemungkinan jumlah subyek penelitian tidak mencapai 30 orang. Pada penelitian ini, penentuan jumlah subyek dilakukan dengan membatasi waktu yaitu hanya enam minggu. Alasannya ialah, tenggang waktu enam minggu dianggap cukup untuk melihat perubahan status imun. Pertimbangan dipilihnya tenggang waktu pengumpulan subyek terkait pula dengan lama intervensi yang akan dilakukan, waktu untuk mengolah data dan menyusun laporan, serta keterbatasan biaya penelitian.

Dalam kriteria penelitian ini telah ditentukan bahwa pasien yang sedang menderita diare kronis dan pasien yang sedang dalam pengobatan OAT tidak diikutsertakan. Alasannya ialah, kemampuan tubuh pasien yang sedang menderita diare kronis untuk mengabsorpsi laktoferin yang diberikan umumnya berkurang. Sementara itu, pasien yang sedang dalam pengobatan OAT juga tidak diikutsertakan karena pengobatan OAT ternyata dapat berpengaruh terhadap peningkatan jumlah limfosit CD4<sup>+</sup> sehingga OAT merupakan salah satu faktor perancu. Namun demikian, diakui bahwa kriteria penelitian ini memiliki keterbatasan karena tidak menapis hal-hal lain yang dapat mempengaruhi jumlah limfosit CD4<sup>+</sup>, seperti adanya infeksi oportunistik, hepatitis dan lain sebagainya.

#### 5.1.2. Penilaian asupan energi dan protein

Pengumpulan data asupan energi dan protein dilakukan dengan metode *food recall* 1 x 24 jam dan *food record* 3 x 24 jam. Kombinasi tersebut dilakukan untuk

memperkecil keterbatasan/kelemahan masing-masing metode. Seperti diketahui, metode *food recall* hanya mengandalkan kemampuan subyek untuk mengingat apa yang telah dikonsumsi. Selain itu, sulit dihindari adanya bias dari pewawancara (*interviewer bias*) maupun dari responden (*recall bias*), sehingga tanpa sengaja, data yang dilaporkan subyek mungkin saja bertambah atau sebaliknya, berkurang. Pada penelitian ini, *food recall* hanya dilakukan satu hari saja (1 x 24 jam) sehingga ada kemungkinan variasi asupan makanan subyek tidak sepenuhnya terungkap.

Metode *food record* relatif lebih mendekati kebenaran, karena subyek diminta untuk mencatat langsung setiap makanan dan minuman yang dikonsumsi. Pada penelitian ini *food record* dilakukan selama berturut-turut tiga hari, mencakup konsumsi makanan dalam dua hari kerja/biasa dan satu hari libur/akhir pekan. Hal ini dilakukan untuk mengantisipasi kemungkinan subyek mengubah total pola asupan makanannya pada hari libur/akhir pekan, jika dibandingkan dengan hari-hari lainnya. Namun demikian, metode ini ternyata masih memiliki keterbatasan karena subyek sulit memperkirakan jumlah makanan atau minumannya dengan tepat. Oleh karena itu, sebelum subyek diminta mencatat asupan makanannya, terlebih dahulu dijelaskan secara singkat tentang berbagai ukuran rumah tangga (URT) agar makanan yang dikonsumsi dapat dicatat dengan tepat. Selanjutnya, ketika subyek mengumpulkan lembar hasil isian *food record*, dilakukan verifikasi URT dengan panduan *food model*.

Kedua metode tersebut di atas digunakan dalam penelitian ini untuk memperoleh data asupan makanan. Namun demikian, untuk analisis asupan energi dan protein terhadap kebutuhan, digunakan data *food record* karena data tersebut lebih menggambarkan kebenaran asupan makanan subyek.

## **5.2. Jenis kelamin dan faktor risiko penularan**

Pada tabel 4.1 penelitian ini tampak bahwa sebagian besar subyek penelitian yaitu 64,29% berjenis kelamin laki-laki. Ternyata laporan Depkes RI juga menyebutkan hal serupa yakni penderita HIV terbanyak di Indonesia adalah laki-laki (74.5%).<sup>3</sup> Demikian pula Wijono<sup>50</sup> tahun 2007 dan Chandra<sup>51</sup> tahun 2008 dalam penelitiannya masing-masing melaporkan bahwa subyek penelitian terbanyak

adalah laki-laki yaitu berturut-turut 84,6% dan 78,57%. Hal ini mudah dimengerti karena pada awalnya, riwayat transmisi HIV lebih banyak terjadi pada pasangan pria homoseksual. Data dari Badan Narkotika Nasional tahun 2006 juga sejalan dengan hal ini di mana laki-laki lebih banyak terinfeksi HIV (92%) karena sebagai pengguna narkotika, laki-laki justru lebih banyak.<sup>1</sup>

Sebaliknya, data tentang faktor risiko penularan pada penelitian ini berbeda dengan data yang dilaporkan Depkes. Penularan terbanyak versi Depkes justru terjadi melalui hubungan seksual (52%)<sup>3</sup>, sementara pada penelitian ini, penularan terbanyak yaitu 53,57% terjadi melalui penggunaan jarum suntik (IDU). Hal ini mungkin ada kaitannya dengan kondisi saat ini di mana transmisi infeksi HIV telah bergeser dari kontak seksual ke transmisi melalui darah karena bertambah banyaknya pengguna narkotika intravena. Unit Perawatan Intermediet Penyakit Infeksi (UPIPI) RSUD Dr. Soetomo (2005), melaporkan 63% transmisi infeksi HIV terjadi melalui suntikan intravena pada pengguna narkotika (IDU).<sup>1</sup> Wijono tahun 2007 dan Chandra tahun 2008 juga melaporkan bahwa transmisi di kalangan IDU lebih banyak yaitu berturut-turut 80,77% dan 64,29%.<sup>50,51</sup> Meski berbeda dengan laporan Depkes, kedua cara penularan tersebut pada kenyataannya masih menduduki peringkat teratas.

### 5.3. Status gizi, asupan energi, dan protein

Sesuai dengan kriteria penerimaan pada penelitian ini, status gizi subyek penelitian ditentukan berdasarkan IMT. Pasien dengan IMT <18,5 kg/m<sup>2</sup> tidak diikutsertakan/dipilih sebagai subyek penelitian. Alasan ditetapkannya kriteria penerimaan seperti itu ialah karena dengan status gizi kurang, kemampuan tubuh membentuk limfosit CD4<sup>+</sup> juga berkurang. Pada tabel 4.1 dapat dilihat bahwa sebagian besar subyek penelitian (82,14%), status gizinya tergolong normal. Artinya, IMT subyek berkisar antara 18,5–22,9 kg/m<sup>2</sup>. Padahal, di awal penelitian seperti terlihat pada tabel 4.2, sebagian besar subyek asupan energinya termasuk dalam kategori kurang, baik dengan metode *food recall* (78,57%) maupun dengan metode *food record* (67,86%). Hal ini mungkin saja terjadi karena selama penelitian, subyek tidak diberi konseling gizi tentang perlunya meningkatkan asupan makanan karena dalam penelitian ini tidak ada subyek yang status gizinya

kurang. Alasan lain ialah, konseling gizi secara tidak langsung dapat menjadi faktor perancu (*confounding factor*) dalam penelitian ini. Akibatnya, peningkatan jumlah limfosit CD4<sup>+</sup> menjadi tidak jelas apakah disebabkan oleh karena pemberian laktoferin atau konseling gizinya.

Untuk membandingkan persentase asupan makanan terhadap kebutuhan subyek, data yang diperoleh dengan metode *food record* lebih tepat untuk digunakan. Alasannya ialah, metode *food recall* hanya dilakukan satu hari dan hanya mengandalkan kemampuan mengingat. Sebaliknya, metode *food record* dilakukan berturut-turut tiga hari dan subyek mencatat langsung setiap makanan yang dikonsumsinya. Dengan perkataan lain, hasil perhitungan metode *food record* lebih mendekati kebenaran sehingga untuk menilai persentase asupan terhadap kebutuhan, metode ini agaknya lebih dapat dipercaya.

Ternyata di awal penelitian (tabel 4.2), dengan metode *food record*, terlihat bahwa sebagian besar subyek yaitu 67.86%, asupan energinya termasuk dalam kategori kurang sedangkan asupan protein yang termasuk dalam kategori kurang, terdapat pada 71.43% subyek. Sebaliknya di akhir penelitian, dengan metode *food record*, subyek yang asupan energinya termasuk dalam kategori kurang, jumlahnya bertambah menjadi 71,43% sedangkan subyek yang asupan proteinnya termasuk dalam kategori kurang, jumlahnya justru berkurang yaitu menjadi 67,86%. Temuan tersebut mengisyaratkan bahwa asupan energi penderita HIV umumnya kurang, walaupun IMT nya masih termasuk dalam kategori normal. Pada tabel 4.5 tampak bahwa nilai median IMT subyek di awal penelitian adalah 20,91 kg/m<sup>2</sup> (18,52–30,29 kg/m<sup>2</sup>) dan pada akhir penelitian 20,97 kg/m<sup>2</sup> (17,43–30,75 kg/m<sup>2</sup>). Hasil uji Wilcoxon terhadap kedua nilai IMT tersebut ternyata tidak berbeda bermakna ( $p=0,12$ ). Artinya selama penelitian, status gizi sebagian besar subyek tetap berada dalam batas normal walaupun sebagian besar subyek, asupan energinya termasuk dalam kategori kurang. Hal ini mudah dimengerti karena proses terjadinya gizi kurang (IMT<18.5 kg/m<sup>2</sup>) memerlukan waktu lama. Tenggang waktu penelitian yang hanya berlangsung enam minggu ini agaknya tidak berpengaruh nyata terhadap perubahan IMT. Selain memerlukan waktu lama, kecepatan terjadinya gizi kurang juga ditentukan oleh tingkat intensitas kurangnya asupan energi. Pada tabel 4.4 terlihat bahwa asupan energi

subyek selama penelitian ternyata berkisar antara 75,36–75,07% dari kebutuhan energi total. Wijono tahun 2007 juga mendapatkan asupan energi penderita HIV positif hanya 74,43% dari kebutuhan energi total<sup>50</sup> dan Chandra dalam penelitiannya tahun 2008 mendapatkan asupan energi penderita HIV positif 78,41% dari kebutuhan energi total.<sup>51</sup> Intensitas kekurangan asupan energi pada penelitian ini tergolong ringan sehingga tidak begitu nyata berpengaruh terhadap perubahan IMT apalagi waktunya relatif singkat yaitu hanya enam minggu.

### 5.3. Jumlah limfosit CD4<sup>+</sup>

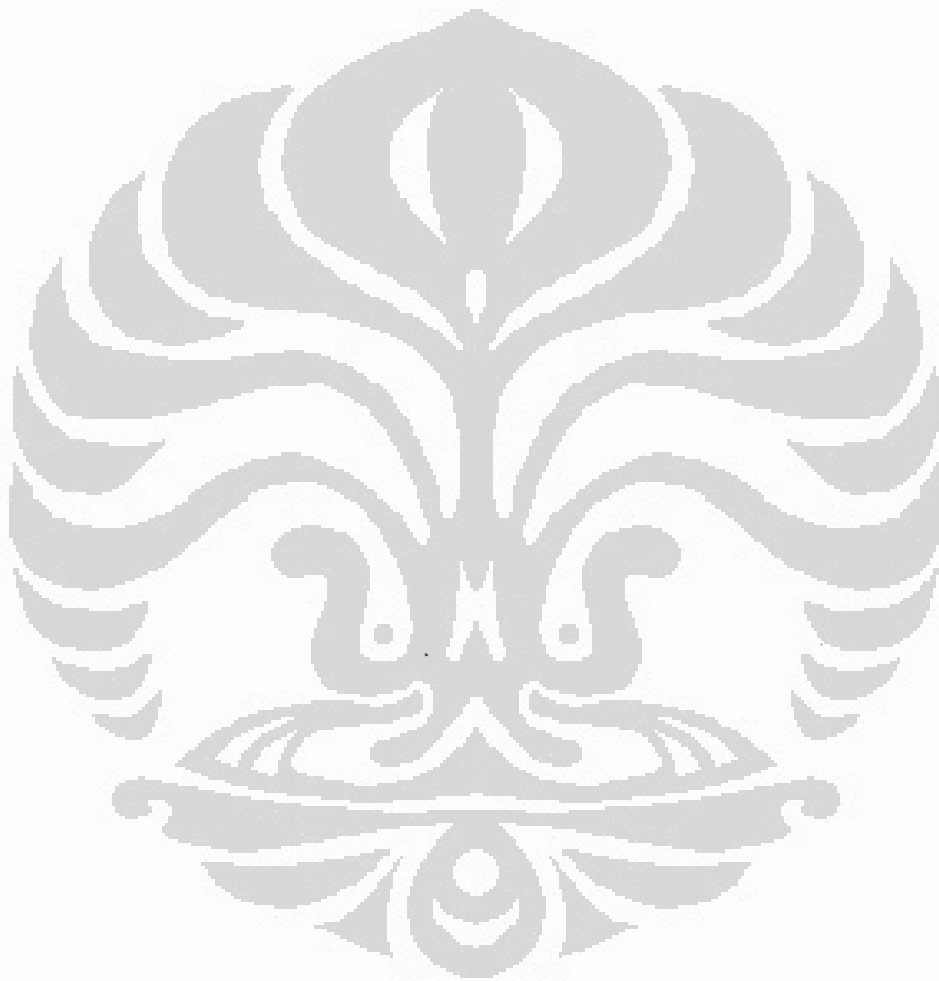
Telah diketahui bahwa berbagai sel dapat menjadi target dari HIV namun HIV *virion* cenderung menyerang limfosit T karena terdapat reseptor CD4<sup>+</sup> pada permukaannya. Mekanisme penurunan jumlah limfosit CD4<sup>+</sup> belum sepenuhnya diketahui namun jumlah limfosit CD4<sup>+</sup> pada penderita HIV positif penting untuk menentukan progresivitas penyakit. Tanpa diimbangi oleh upaya intervensi, maka dari waktu ke waktu jumlah limfosit CD4<sup>+</sup> akan semakin rendah sehingga membuka peluang munculnya infeksi oportunistik yang mengarah ke manifestasi klinis AIDS hingga sepsis. Pada penelitian ini upaya meningkatkan jumlah limfosit CD4<sup>+</sup> dilakukan dengan memberi laktoferin sapi 200 mg/hari kepada subyek penelitian selama enam minggu. Nilai rerata jumlah limfosit CD4<sup>+</sup> seluruh subyek di awal penelitian adalah 231,85 ± 122,89 sel/ $\mu$ L (tabel 4.6). Ternyata pemberian laktoferin 200 mg/hari selama enam minggu berhasil meningkatkan jumlah limfosit CD4<sup>+</sup> hingga nilai mediannya 236,50 sel/ $\mu$ L (50,00–731,00 sel/ $\mu$ L). Hasil uji Wilcoxon terhadap perbedaan jumlah limfosit CD4<sup>+</sup> di awal dan akhir penelitian tidak berbeda bermakna ( $p=0,22$ ). Artinya, pemberian laktoferin 200 mg/hari selama enam minggu pada penderita HIV positif walaupun secara klinis meningkatkan jumlah limfosit CD4<sup>+</sup>, namun secara statistik peningkatan tersebut tidak berbeda bermakna.

Peningkatan jumlah limfosit CD4<sup>+</sup> pada penderita HIV bukan hanya disebabkan oleh pemberian laktoferin, melainkan dapat juga disebabkan oleh variabel lain yaitu terapi ARV dan/atau perbaikan status gizi penderita. Oleh karena itu pada penelitian ini dilakukan pula analisis terhadap pengaruh kedua variabel tersebut. Seperti dapat dilihat pada tabel 4.7, jumlah subyek yang

mendapat ARV pada penelitian ini adalah 16 orang (57,14%) sedangkan yang tidak/belum mendapat ARV adalah 12 orang (42,86%). Nilai rerata jumlah limfosit CD4<sup>+</sup> subyek yang belum mendapat ARV pada awal penelitian adalah  $302,33 \pm 132,79$  sel/ $\mu$ L. Setelah enam minggu mendapat kapsul laktoferin 200 mg/hari, jumlah limfosit CD4<sup>+</sup> meningkat menjadi  $345,33 \pm 202,23$  sel/ $\mu$ L. Hasil uji t berpasangan terhadap kedua nilai rerata tersebut ternyata tidak berbeda bermakna ( $p=0,35$ ). Artinya, meski pemberian laktoferin pada subyek yang belum mendapat ARV berhasil secara klinis meningkatkan jumlah limfosit CD4<sup>+</sup> pada sebagian subyek, namun secara statistik peningkatan tersebut ternyata tidak berbeda bermakna. Apabila ditelaah lebih lanjut, ternyata pemberian laktoferin pada kelompok subyek yang belum mendapat ARV berhasil meningkatkan jumlah limfosit CD4<sup>+</sup> pada 7 dari 12 subyek penelitian (58,33%). Data tersebut di atas menunjukkan bahwa memang secara klinis laktoferin masih ada manfaatnya meski tidak didukung secara statistik.

Pada kelompok subyek yang sudah mendapat ARV, nilai rerata jumlah limfosit CD4<sup>+</sup> di awal penelitian adalah  $178,00 \pm 84,77$  sel/ $\mu$ L (tabel 4.7). Setelah enam minggu mendapat kapsul laktoferin 200 mg/hari maka nilai rerata jumlah limfosit CD4<sup>+</sup> meningkat menjadi  $204,38 \pm 122,66$  sel/ $\mu$ L. Hasil uji t berpasangan menunjukkan bahwa kenaikan tersebut tidak berbeda bermakna ( $p=0,12$ ). Dengan perkataan lain, secara statistik kenaikan limfosit CD4<sup>+</sup> pada pemberian laktoferin terhadap subyek yang sudah mendapat ARV, tidak bermakna. Seperti halnya pada kelompok subyek yang belum mendapat ARV, meski statistik tidak mendukungnya, secara klinis pemberian laktoferin pada kelompok subyek yang sudah mendapat ARV tetap bermanfaat karena berhasil meningkatkan jumlah limfosit CD4<sup>+</sup>. Hasil uji Chi-Square menunjukkan tidak terdapat hubungan jumlah limfosit CD4<sup>+</sup> pada kelompok yang belum dan sudah mendapat ARV setelah pemberian laktoferin sapi. Artinya, respon terhadap pemberian laktoferin tidak tergantung apakah subyek belum atau sudah mendapat pengobatan. Apabila data tersebut kembali dicermati, ternyata pemberian laktoferin berhasil meningkatkan jumlah limfosit CD4<sup>+</sup> pada 9 subyek yang jumlah limfosit CD4<sup>+</sup> nya tidak naik (<400 sel/ $\mu$ L) selama 2 tahun mendapat ARV. Selanjutnya, apabila dihubungkan variabel BB dan IMT dengan kenaikan

limfosit CD4<sup>+</sup>, maka perubahan limfosit CD4<sup>+</sup> tersebut agaknya tidak dipengaruhi oleh BB maupun IMT karena BB dan IMT di awal dan akhir penelitian tidak berbeda bermakna (tabel 4.5).





## BAB 6

### RINGKASAN, KESIMPULAN, DAN SARAN

#### 6.1. Ringkasan

Penyakit infeksi HIV/AIDS hingga saat ini masih merupakan salah satu masalah kesehatan dunia dengan angka morbiditas dan mortalitas yang tinggi. Pada penderita HIV/AIDS terjadi penurunan sistem imun yang ditandai dengan berkurangnya jumlah limfosit CD4<sup>+</sup> sehingga mudah terjadi infeksi sekunder. Kondisi ini jelas dapat memperburuk status nutrisi dan sistem kekebalan tubuh. Perubahan status nutrisi dan dampak negatif yang ditimbulkannya memerlukan dukungan nutrisi agar sistem imun yang masih ada dapat dipertahankan atau ditingkatkan.

Laktoferin sapi merupakan komponen susu sapi dengan kadar tertinggi ditemukan dalam kolostrum sapi. Pada berbagai penelitian baik *in vitro* maupun *in vivo* terungkap bahwa laktoferin sapi memiliki aktivitas anti virus, antara lain terhadap HIV. Dari penelitian *in vitro*, laktoferin sapi dapat menghambat infeksi HIV melalui ikatan antara *V3 loop domain* dari gp120 HIV dengan DC-SIGN. Sementara itu, dari penelitian *in vivo* terungkap bahwa pemberian laktoferin sapi pada anak-anak yang terinfeksi HIV dapat meningkatkan jumlah limfosit CD4<sup>+</sup> dan sekaligus menurunkan *viral load* secara bermakna. Penelitian lainnya yaitu pemberian laktoferin sapi pada orang dewasa sehat dilaporkan dapat mengaktifasi limfosit CD4<sup>+</sup>.

Penelitian awal (*preliminary study*) ini bertujuan menilai pengaruh pemberian laktoferin sapi terhadap jumlah limfosit CD4<sup>+</sup> penderita HIV positif. Pengamatan dilakukan sebelum dan sesudah pemberian kapsul laktoferin sapi 200 mg per hari selama enam minggu. Penelitian dilakukan di POKDISUS AIDS RSUPNKM Jakarta mulai tanggal 1 Februari 2010 sampai dengan 26 April 2010. Subyek penelitian adalah pasien HIV positif yang tidak dalam pengobatan OAT, baik pasien baru atau lama yang belum mendapat ARV, serta pasien yang telah mendapat ARV selama dua tahun namun jumlah limfosit CD4<sup>+</sup> nya tidak mengalami kenaikan (<400 sel/ $\mu$ L).

Setelah diberi penjelasan mengenai penelitian ini, 34 dari 36 pasien menyatakan bersedia mengikuti penelitian, namun dua dari 34 pasien tersebut tidak memenuhi kriteria penelitian sehingga jumlah subyek penelitian sebelum perlakuan adalah 32 orang. Selama periode perlakuan, empat orang subyek dinyatakan *drop out* dengan alasan menolak melanjutkan (2 orang), tidak teratur minum kapsul (1 orang) dan pindah ke lain kota (1 orang). Dengan demikian, jumlah subyek yang mengikuti penelitian secara lengkap hanya 28 orang.

Data penelitian diperoleh melalui wawancara, pengukuran antropometri, dan pemeriksaan jumlah limfosit CD4<sup>+</sup> sebelum dan setelah perlakuan. Evaluasi asupan makanan dilakukan dengan menggunakan metode *food recall* 1 x 24 jam, dan *food record* 3 x 24 jam.

Hasilnya sebagai berikut:

1. Nilai rerata usia subyek penelitian adalah  $30,3 \pm 4,46$  tahun. Persentase subyek laki-laki 64,29% dan perempuan 35,71%.
2. Subyek penelitian yang status gizinya termasuk kategori normal adalah 82,14% dan subyek yang status gizinya lebih, 17,86%. Pada penelitian ini pasien dengan status gizi kurang tidak diikutsertakan/dipilih sebagai subyek penelitian.
3. Faktor risiko penularan melalui IDU lebih banyak yaitu 53,57%, sedangkan melalui hubungan seksual 46,43%.
4. Persentase subyek yang belum mendapat pengobatan ARV adalah 42,86%, dan yang sudah mendapat pengobatan ARV 57,14%.
5. Indeks massa tubuh pada awal penelitian adalah  $20,91 \text{ kg/m}^2$  (18,52–30,29  $\text{kg/m}^2$ ) dan pada akhir penelitian  $20,97 \text{ kg/m}^2$  (17,43–30,75  $\text{kg/m}^2$ ) ( $p=0,12$ ).
6. Analisis asupan energi dan protein dilakukan berdasarkan data *food record*. Pada awal penelitian jumlah subyek yang asupan energinya kurang adalah 67,86% dan jumlah ini meningkat pada akhir penelitian menjadi 71,43%. Sementara itu, jumlah subyek yang asupan proteinnya kurang adalah 71,43% dan jumlah ini menurun pada akhir penelitian menjadi 67,86%.

7. Nilai median asupan energi di awal penelitian adalah 1432,20 kkal/hari (1218,40–2536,70 kkal/hari) dan di akhir penelitian menjadi 1426,70 kkal/hari (1227,30–2581,50 kkal/hari) ( $p=0,62$ ).
8. Nilai rerata asupan protein di awal penelitian adalah  $54,54 \pm 8,26$  g/hari dan di akhir penelitian menurun menjadi  $53,87 \pm 8,03$  g/hari ( $p=0,14$ ).
9. Jumlah limfosit CD4<sup>+</sup> seluruh subyek pada awal penelitian adalah  $231,85 \pm 122,89$  sel/ $\mu$ L dan setelah diberikan laktoferin sapi selama enam minggu jumlahnya meningkat menjadi  $236,50$  sel/ $\mu$ L ( $50,00 - 731,00$  sel/ $\mu$ L) ( $p=0,22$ ).
10. Pada kelompok yang belum mendapat ARV, nilai rerata jumlah limfosit CD4<sup>+</sup> di awal penelitian adalah  $302,33 \pm 132,79$  sel/ $\mu$ L dan di akhir penelitian meningkat menjadi  $345,33 \pm 202,23$  sel/ $\mu$ L ( $p=0,35$ ).
11. Pada kelompok yang sudah mendapat ARV, nilai rerata jumlah limfosit CD4<sup>+</sup> di awal penelitian adalah  $178,00 \pm 84,77$  sel/ $\mu$ L dan di akhir penelitian meningkat menjadi  $204,38 \pm 122,66$  sel/ $\mu$ L ( $p=0,12$ ).
12. Uji Chi-Square untuk melihat hubungan jumlah limfosit CD4<sup>+</sup> antara kelompok yang belum dan sudah mendapat ARV setelah pemberian laktoferin sapi, ternyata tidak berbeda bermakna ( $p=0,91$ ).

## 6.2 Kesimpulan

Dari hasil penelitian di atas, dapat disimpulkan bahwa setelah enam minggu pemberian laktoferin sapi 200 mg/hari baik pada kelompok yang belum maupun yang sudah mendapat ARV, perbaikan jumlah limfosit CD4<sup>+</sup> secara statistik tidak berbeda bermakna. Namun demikian, walaupun secara statistik tidak bermakna, apabila hal ini dilihat dari sudut pandang klinis maka dapat ditarik kesimpulan bahwa pemberian laktoferin mempunyai manfaat klinis. Hal ini dapat dilihat dari adanya peningkatan jumlah limfosit CD4<sup>+</sup> yang ditemukan tidak hanya pada 7 dari 12 subyek yang belum mendapat ARV, tetapi juga pada 9 dari 16 subyek yang selama dua tahun mendapat ARV, jumlah CD4<sup>+</sup>nya tidak meningkat.

### 6.3. Saran

Penelitian awal ini hanya menelaah apakah pemberian laktoferin pada penderita HIV positif dapat meningkatkan jumlah limfosit CD4<sup>+</sup>. Secara klinis pemberian laktoferin meningkatkan jumlah limfosit CD4<sup>+</sup> walaupun secara statistik hal tersebut tidak berbeda bermakna. Mungkin hasil tersebut berkaitan dengan ukuran sampel dan tenggang waktu penelitian yang terbatas serta dosis laktoferin yang diberikan yaitu hanya 200 mg. Untuk itu diajukan beberapa saran sebagai berikut:

1. Untuk mengetahui dengan pasti bahwa efek peningkatan limfosit CD4<sup>+</sup> yang terjadi bukan karena kebetulan, disarankan agar melakukan penelitian dua kelompok yaitu kelompok perlakuan dan kontrol.
2. Untuk memperbesar kemungkinan memperoleh hasil analisis statistik yang bermakna, disarankan melakukan penelitian dengan sampel yang lebih besar dan waktu yang lebih lama.
3. Untuk mengetahui dosis paling efektif dalam meningkatkan jumlah limfosit CD4<sup>+</sup>, sebaiknya dosis laktoferin ditingkatkan dan diberikan dalam beberapa dosis berbeda, mulai dari 400mg/hari.

## SUMMARY, CONCLUSION, AND RECOMMENDATION

### Summary

Infection of HIV/AIDS remains to be a major global health problem resulting to a high morbidity and mortality rate. As it can be observed from HIV-infected patients, the suppression of the immune system, characterized by declining CD4<sup>+</sup> lymphocyte count, will promote the development of secondary infection which in turn, leads to the manifestations of AIDS and sepsis. Therefore, this condition can obviously aggravate nutritional status and the whole immune system. The changes in nutritional status and the occurrence of its negative impact, however, require proper nutritional support so that the remaining immune system could be continuously maintained or further improved. Lactoferrin, a component of cow's milk, has been found at higher amount in bovine colostrum. *In vitro* and *in vivo* studies pointed out that lactoferrin exerts a strong activity against HIV. *In vitro* study showed that bovine lactoferrin can inhibit HIV infection through the attachment of V3 loop domain of HIV-gp120 to DC-SIGN. While in vertically infected children, *in vivo* study showed that lactoferrin administration was significantly effective at increasing CD4<sup>+</sup> lymphocyte count as well as decreasing viral load. Other study also reported that CD4<sup>+</sup> lymphocytes in healthy adult can be activated by administration of bovine lactoferrin.

The aim of this preliminary study is to find out the effect of bovine lactoferrin administration on CD4<sup>+</sup> lymphocyte count of adult HIV-positive patients. The study was conducted from February 1<sup>st</sup> to April 26<sup>th</sup> 2010, at POKDISUS AIDS Department of Internal Medicine Central District Cipto Mangunkusumo National General Hospital (RSUPNKM), Jakarta. The subjects were selected from HIV-positive patients untreated with ARV and oral anti tuberculosis (OAT), or treated with ARV up to two years without OAT but CD4<sup>+</sup> lymphocyte count failed to increase (<400cells/ $\mu$ L). After having information about risk and benefit of the study, 34 out of 36 patients were willing to participate in the study. Because of failure to fulfill the required criteria, two of them were excluded. From the rest 32 subjects, only 28 were fully participated in the study because two subjects rejected to involve further, one did not take the

capsule regularly, and another moved to other city. Observation and evaluation of the subjects were performed before and after administration of capsules containing 200 mg of bovine lactoferrin orally once a day for six weeks. Data were collected at the beginning and at the end of the study by interview, anthropometric measurement, and laboratory examination of blood for determining CD4<sup>+</sup> lymphocyte count. Determination of daily dietary intake was performed at the beginning and at the end of the study by using 1 x 24 hour food recall and 3 x 24 hour food record.

The results were as follows:

1. Mean value of age found among subjects of the study was  $30.3 \pm 4.46$  years and subjects were mainly male (64.29%).
2. Based on classification of BMI, nutritional status of 82.14% subjects were normal, and of 17.86% were overweight. None of the patient with BMI < 18.5 kg/m<sup>2</sup> was recruited as subject of the study.
3. Transmission of HIV infection predominantly occurred among IDU (53.57%) while transmission by sexual contact was only 46.43%.
4. The percentage of untreated subjects with ARV was 42.86% and of treated with ARV was 57.14%.
5. Median values of BMI determined at the beginning and at the end of the study were 20.91 kg/m<sup>2</sup> (18.52–30.29 kg/m<sup>2</sup>) and 20.97 kg/m<sup>2</sup> (17.43–30.75 kg/m<sup>2</sup>) respectively ( $p=0.12$ ).
6. Analysis of energy and protein intake was done based on food record data. The percentage of subjects with low energy intake before the study was 67.86% and increased at the end of the study to 71.43%. While the number of subjects with low protein intake before the study was 71.43% and decreased at the end of the study to 67.86%.
7. Median value of energy intake before the study was 1432.20 kcal/day (1218.40–2536.70 kcal/day) and decreased at the end of the study to 1426.70 kcal/day (1227.30–2581.50 kcal/day) ( $p=0.62$ ).

8. Mean value of protein intake before the study was  $54.54 \pm 8.26$  g/day and decreased at the end of the study to  $53.87 \pm 8.03$  g/day ( $p=0.14$ ).
9. Mean value of CD4<sup>+</sup> lymphocyte count of all subjects before the study was  $231.85 \pm 122.89$  cells/ $\mu$ L and after 6 weeks administration of bovine lactoferrin, the number of cells increased to median value of 236.50 cells/ $\mu$ L (50.00–731.00 cells/ $\mu$ L). There was no significant changes in CD4<sup>+</sup> lymphocyte count before and after six weeks administration of bovine lactoferrin ( $p=0.22$ ).
10. Mean value of CD4<sup>+</sup> lymphocyte count of untreated subjects with ARV before the study was  $302.33 \pm 132.79$  cells/ $\mu$ L and increased at the end of the study to  $345.33 \pm 202.23$  cells/ $\mu$ L ( $p=0.35$ ).
11. Mean value of CD4<sup>+</sup> lymphocyte count of treated subjects with ARV before the study was  $178.00 \pm 84.77$  cells/ $\mu$ L and increased at the end of the study to  $204.38 \pm 122.66$  cells/ $\mu$ L ( $p=0.12$ ).
12. The improvement of CD4<sup>+</sup> lymphocyte count after bovine lactoferrin administration was found in 7 out of 12 untreated subjects (58.33%) and in 9 out of 16 treated subjects with ARV (56.25%). Chi-Square's test showed that the improvement on both groups was not significantly different ( $p=0.91$ ).

### Conclusion

From the results obtained above, it seems that after six weeks administration of 200 mg/day of bovine lactoferrin on either treated or untreated subjects with ARV, the improvement of CD4<sup>+</sup> lymphocyte count was statistically not significant. However, although statistically unproven, from clinical point of view it can be concluded that lactoferrin has a clinical benefit because improvement of CD4<sup>+</sup> lymphocyte count can be found not only in 7 out of 12 untreated subjects but particularly in 9 out of 16 subjects treated with ARV as almost two years treated, their CD4<sup>+</sup> lymphocyte count failed to increase.

### **Recommendation**

This preliminary study was only performed to find out whether lactoferrin administration successfully increases CD4<sup>+</sup> lymphocyte count of adult HIV-positive patients. It seems that from clinical point of view, lactoferrin has the ability to improve CD4<sup>+</sup> lymphocyte count although statistically, the improvement was not significant. The result mentioned above was very probably related to the small sample size, the short duration or length of time of the study, and the dosage of lactoferrin used which was only 200 mg. Therefore, some suggestions are presented as follows:

1. To find out exactly that the improvement effect of lactoferrin on CD4<sup>+</sup> lymphocyte count is not occurred by chance, it is suggested that the study should be carried out in two groups (treatment and control study design).
2. To improve significance level of statistical analysis, sample size of the study focused on the effect of lactoferrin on CD4<sup>+</sup> lymphocyte count is suggested to be enlarged and the length of study should be longer.
3. To investigate which dosage is the most effective dose in relation to CD4<sup>+</sup> lymphocyte count, the dosage of lactoferrin given should be increased in different level, beginning at 400 mg/day.



## DAFTAR REFERENSI

1. Nasronudin. *HIV & AIDS pendekatan biologi molekuler, klinis dan sosial*. Surabaya: Airlangga University Press. 2007.
2. UNAIDS/WHO. AIDS epidemic update, December 2007. Global Summary Joint United Nations Programme on HIV/AIDS (UNAIDS) and World Health Organization (WHO). hal 1–15.
3. Ditjen PPM & PL Depkes RI. Statistik kasus HIV/AIDS di Indonesia. Dilapor s/d Maret 2009.
4. Brooks GF, Butel JS, Morse SA. *Jawetz, Melnick & Adelberg's Medical Microbiology*. Edisi ke-2. New York: McGraw-Hill. 2001. hal 516–29.
5. Baratawidjaja KG, Rengganis I. *Imunologi Dasar*. Edisi ke-8. Jakarta: Balai Penerbit FKUI, 2009. hal 477–513.
6. Merati TP, Djauzi S. Respon imun infeksi HIV. Dalam: Sudoyo AW, Setyohadi B, Alwi I, Simadibrata M, Setiati S, eds. *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam Jilid I*, edisi ke-4. Jakarta: Balai Penerbit FKUI, 2006. hal 274–8.
7. Watson RR. *Nutrients and foods in AIDS*. New York: CRC Press, 1998.
8. Solomons NW. Modulation of the immune system and the response against pathogens with bovine colostrums concentrates. *Eur J Clin Nutr* 2002;56:24–8S.
9. Playford RJ, Macdonald CE, Johnson WS. Colostrum and milk-derived peptide growth factors for the treatment of gastrointestinal disorders. *Am J Clin Nutr* 2000;72:5–14.
10. Zuccotti GV, Salvini F, Riva E, Agostoni C. Oral lactoferrin in HIV-1 vertically infected children: an observational follow-up of plasma viral load and immune parameters. *J Int Med Res* 2006;34:88–94.
11. Mulder AM, Connellan PA, Oliver CJ, Morris CA, Stevenson LM. Bovine lactoferrin supplementation supports immune and antioxidant status in healthy human males. *Nutr Res* 2008;228:583–9.
12. Adlerova L, Bartoskova A, Faldyna M. Lactoferrin: a review. *Veterinarni Medicina*, 2008; 53(9): 457–68.
13. Van der Strate BWA, Beljaars L, Molema G, Harmsen MC, Meijer DKF. Antiviral activities of lactoferrin. *Antiviral Res*, 2001; 52: 225–239.
14. Ward PP, Paz E, Conneely OM. Multifunctional roles of lactoferrin: a critical overview. *Cell Mol Life Sci* 2005;62: 2540–8.

15. Conneely OM. Antiinflammatory Activities of Lactoferrin. *J Am Coll Nutr* 2001; 20(5):389S–95S.
16. Levay PF, Viljoen M. Lactoferrin: a general review. *Haematologica* 1995;80:252–67.
17. Troost FJ, Steijns J, Saris WHM, Brummer RJM. Gastric digestion of bovine lactoferrin in vivo in adults. *J Nutr* 2001; 131:2101–4.
18. Brock JH. Lactoferrin in human milk: its role in iron absorption and protection against enteric infection in the new born infant. *Arch Dis Child* 1980;55:417–21.
19. Ashida K, Sasaki H, Suzuki YA, Lonnerdal B. Cellular internalization of lactoferrin in intestinal epithelial cells. *BioMetals* 2004; 17:311–5.
20. Lonnerdal B. Nutritional and physiologic significance of human milk protein. *Am J Clin Nutr* 2003;77S:1537–43S.
21. Lonnerdal B. Nutritional roles of lactoferrin. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 2009;12:293–7.
22. Abbas Ak, Litchman AH, Pillai S. *Cellular and molecular immunology*. Edisi ke 6. Philadelphia: Saunders Elsevier, 2007. hal 463–88.
23. Grant AD, Cock KM. HIV infection and AIDS in the developing world. *BMJ* 2001;322:1475–8.
24. Djoerban Z, Djauzi S. HIV/AIDS di Indonesia. Dalam: Sudoyo AW, Setyohadi B, Alwi I, Simadibrata M, Setiati S, eds. *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam Jilid III*, edisi ke-4. Jakarta: Balai Penerbit FKUI, 2006. hal 1825–30.
25. Singh R, Singh S, Kaur V. Human immunodeficiency virus. *Indian J Dermatol Venereol Leprol* 1992;58:233–42.
26. Costin JM. Cytopathic mechanism of HIV-1. *Virol J* 2007;4:100.
27. Kahn JO, Walker BD. Acute human immunodeficiency virus type 1 infection. *NEJM* 1998;39:33–8.
28. Kwon DS, Gregorio G, Bitton N, Hendrickson WA, Littman DR. DC\_SIGN-mediated internalization of HIV is required for trans-enhancement of T cell infection. *Immunity* 2002;16:135–44.
29. Sudharshan S, Biswas J. Introduction and immunopathogenesis of acquired immune deficiency syndrome. *Indian J Ophthalmol* 2008; 56: 357–62.
30. Pantaleo G, Graziosi C, Fauci AS. The immunopathogenesis of human immunodeficiency virus infection. *NEJM*, 1993;328:327–35.

31. Fauci AS, Lane HC. Human immunodeficiency virus (HIV) disease: AIDS and related disorder. Dalam: Braunwald E, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL, eds. *Harrison's Principles of Internal Medicine*. Edisi ke-15. New York: McGraw-Hill, 2001. hal 1852–1913.
32. Kamps BS, Hoffmann C. Introduction. Dalam: Hoffmann C, Rockstroh JK, Kamps BS, eds. *HIV Medicine 2007*. Edisi ke-15. Paris: Flying Publisher, 2007. hal 23–32.
33. Reiter GS. The HIV wasting syndrome. *AIDS Clinical Care*, 1996; 8(11):89–93.
34. Fanta Project. Nutrition and HIV/AIDS: Basic Facts. HIV/AIDS: A Guide for Nutritional Care and Support. Edisi ke-2. Washington DC: AED, 2004. hal 10–4.
35. Salomon J, Truchis PD, Melchior JC. Nutrition and HIV infection. *BMJ*, 2002; 87(suppl.1):S111–9.
36. Morley JE, Thomas DR, Wilson MMG. Cachexia: pathophysiology and clinical relevance. *Am J Nutr*, 2006;83:735–43
37. Nutritional Considerations. Dalam: Alpers D, Stenson WF, Taylor BE, Bier DM, eds. *Manual of Nutritional Therapeutics*. Edisi ke-5. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2008. hal 83–95.
38. Montessori V, Press N, Harris M, Akagi L, Montaner JSG. Adverse effects of antiretroviral therapy for HIV infection. *CMAJ*, 2004;170(2):229–38.
39. Puddu P, Borghi P, Gessani S, Valenti P, Belardelli F, Seganti L. Antiviral effect of bovine lactoferrin saturated with metal ions on early steps of human immunodeficiency virus type 1 infection. *Int J Biochem Cell Biol*, 1998; 30: 1055–63.
40. Moriuchi M, Moriuchi H. A milk protein lactoferrin enhances human T cell leukemia virus type 1 and suppresses HIV–1 infection. *J Immunol*, 2001; 166: 4231–6.
41. Ng TB, Lam TL, Au TK, Ye XY, Wan CC. Inhibition of human immunodeficiency virus type 1 reverse transcriptase, protease, and integrase by bovine milk proteins. *Life Sci*, 2001; 69: 2217–23.
42. Berkhout B, van Wamel JLB, Beljaars L, Meijer DKF, Visser S, Floris R. Characterization of the anti-HIV effects of native lactoferrin and other milk proteins and protein-derived peptides. *Antiviral Res* 2002;55:341–55.
43. Groot F, Geijtenbeek TBH, Sanders RW, Baldwin CE, Hernandez MS, Floris R, et al. Lactoferrin prevents dendritic cell-mediated human

- immunodeficiency virus type 1 transmission by blocking the DC-SIGN-gp120 interaction. *J Virol*, 2005; 79(5): 3009–15.
44. Viani RM, Gutteberg TJ, Lathey JL, Spector SA. Lactoferrin inhibits HIV-1 replication in vitro and exhibits synergy when combined with zidovudine. *AIDS* 1999;13(10):1273–4.
45. Gibson RS. *Principles of Nutritional Assessment*. Edisi ke-2. New York: Oxford University Press, 2005.
46. WPRO-WHO. The Asia-Pacific perspective: Redefining obesity and its treatment. Health Communications Australia Pty Limited.
47. Bartlett JB, Gallant JE. 2007 Medical management of HIV infection. John Hopkins University School of Medicine, 2007. hal 5–50.
48. Parenteau J, Edelman D, Glynn K, House A. *Nutrition Guidelines for Agencies Providing Food to People with HIV Disease*. Edisi ke-2. Association of Nutrition Services Agencies (ANSA), 2004. hal 8–9.
49. Wijono LD. Korelasi antara kadar vitamin C plasma dengan jumlah limfosit sel CD4 penderita HIV/AIDS di RSUPN Dr Cipto Mangunkusumo. Tesis Magister Sains Ilmu Gizi Klinik. Program Pascasarjana Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, 2007.
50. Chandra DN. Pengaruh suplementasi protein terhadap kadar albumin serum penderita HIV/AIDS di RSUPNCM Jakarta. Tesis Magister Sains Ilmu Gizi Klinik. Program Pascasarjana Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, 2008.

## MANUSCRIPT

**THE EFFECT OF BOVINE LACTOFERRIN ADMINISTRATION ON  
CD4<sup>+</sup> LYMPHOCYTE COUNT OF HIV-POSITIVE PATIENTS  
AT RSUPNCM JAKARTA**

Rahardja FM, Lestiani L, Sukmana N

**ABSTRACT**

The aim of this preliminary study is to find out the effect of bovine lactoferrin administration on immune response of adult HIV-positive patients. The study was conducted from February to April 2010, at POKDISUS AIDS Department of Internal Medicine, Central District Cipto Mangunkusumo National General Hospital (RSUPNCM), Jakarta. The inclusion criteria of the subjects were HIV-positive with BMI  $\geq 18.5$  kg/m<sup>2</sup>, untreated with ARV, or treated up to two years but CD4<sup>+</sup> lymphocyte count failed to increase, and subjects signed the informed consent after understanding risk and benefit of the study. The exclusion criteria were pregnant or lactating women, under oral anti tuberculosis (OAT) treatment, having chronic diarrhea, and subjects have a history of cow's milk allergy. From 36 HIV-positive patients selected by consecutive sampling method, only 34 were willing to participate in the study. Prior to the study, two of 34 participants were excluded due to underweight (BMI  $< 18.5$  kg/m<sup>2</sup>). From the rest 32 subjects, only 28 were fully participated in the study because two subjects rejected to involve further, one did not take the capsule regularly, and another moved to other city. Capsules containing 200 mg of bovine lactoferrin were given to and taken by the subjects orally once a day for six weeks. Data were collected before and after bovine lactoferrin administration by interview, anthropometric measurement, and laboratory examination of blood for determining CD4<sup>+</sup> lymphocyte count. Determination of daily dietary intake was performed at the beginning and at the end of the study by using 1 x 24 hour food recall and 3 x 24 hour food record.

Mean value of CD4<sup>+</sup> lymphocyte count before lactoferrin administration was  $231.85 \pm 122.89$  cells/ $\mu$ L and increased to median value of 236.50 cells/ $\mu$ L (50.00–731.00 cells/ $\mu$ L) after six weeks. Wilcoxon test on the above values showed no significant difference ( $p=0.22$ ). Mean value of CD4<sup>+</sup> lymphocyte count of untreated subjects with ARV before lactoferrin administration was  $302.33 \pm 132.79$  cells/ $\mu$ L and increased to  $345.33 \pm 202.33$  cells/ $\mu$ L at the end of study. The same response was also found in treated subjects with ARV where the mean value of CD4<sup>+</sup> lymphocyte count increased from  $178.00 \pm 84.77$  cells/ $\mu$ L before lactoferrin administration to  $204.38 \pm 122.66$  cells/ $\mu$ L, thereafter. Paired *t*-test on the increased CD4<sup>+</sup> lymphocyte count on either treated or untreated subjects with ARV showed no significant difference ( $p=0.12$ ). The improvement of CD4<sup>+</sup> lymphocyte count after lactoferrin administration was seen in 7 out of 12 untreated subjects (58.33%) and in 9 out of 16 treated subjects with ARV (56.25%). Chi-Square's test showed that the improvement on both groups was not significant ( $p=0.91$ ). However, although statistically unproven, lactoferrin has a clinical benefit because improvement can be found in 7 out of 12 untreated subjects and also in 9 out of 16 treated subjects with ARV but almost two years treated, their CD4<sup>+</sup> lymphocyte count failed to increase.

*Key words:* HIV-positive, bovine lactoferrin, CD4<sup>+</sup> lymphocyte count

## INTRODUCTION

Acquired Immune Deficiency Syndrome (AIDS) is a disease characterized by manifestation of symptoms caused by infection of Human Immunodeficiency Virus (HIV). Infection of HIV/AIDS remains to be a major global health problem resulting to a high morbidity and mortality rate.<sup>1</sup> In Indonesia, based on the report issued by the Ministry of Health Republic of Indonesia, since October 1<sup>st</sup> 1987 until March 31<sup>st</sup> 2009, 6,668 people were diagnosed as HIV-infected patients and total cases of AIDS has reached the number of 16,964.<sup>2</sup> As it can be observed from HIV-infected patients, the suppression of the immune system, characterized by declining CD4<sup>+</sup> lymphocyte count, will promote the development of secondary infection which in turn, leads to the manifestations of AIDS and sepsis.<sup>3</sup> Therefore, this condition can obviously aggravate the nutritional status and the whole immune system. The changes in nutritional status and the occurrence of its negative impact, however, require proper nutritional support so that the remaining immune system could be continuously maintained or further improved.<sup>4</sup> Lactoferrin, a mammalian iron-binding glycoprotein with antiviral effects, has been found at higher amount in bovine colostrum.<sup>5</sup> Puddu et al.,<sup>6</sup> in their study conducted in 1998 reported the antiviral effect of bovine lactoferrin against HIV-1. Another study performed by Moriuchi et al.,<sup>7</sup> in 2001 also reported the inhibitory effect of lactoferrin against HIV-1 replication at the entry point for the virus. This inhibition was dependent to the dosage and thus it is identified as dose-dependent. Ng et al., Berkhout et al., and Groot et al., in their separated study reported the same results that lactoferrin inhibited on either the attachment or transmission of HIV to the cells host.<sup>8,9,10</sup>

*In vitro* and *in vivo* studies pointed out that lactoferrin exerts a strong activity against HIV. *In vitro* study showed that bovine lactoferrin can inhibit HIV infection through the attachment of V3 loop domain of HIV-gp120 to DC-SIGN.<sup>9,10</sup> While *in vivo* study in vertically infected children, showed that lactoferrin administration was significantly effective at increasing CD4<sup>+</sup> lymphocyte count as well as decreasing viral load.<sup>11</sup> In other study, activated CD4<sup>+</sup> lymphocyte in healthy adult was also reported following the administration of bovine lactoferrin.<sup>12</sup> The aim of this preliminary study is to find out the effect

of bovine lactoferrin administration on CD4<sup>+</sup> lymphocyte count of adult HIV-positive patients.

## **METHOD OF STUDY**

### **Subjects**

The study was conducted from February 1<sup>st</sup> to April 26<sup>th</sup> 2010, at POKDISUS AIDS Department of Internal Medicine, Central District Ciptomangunkusumo National General Hospital (RSUPNCM), Jakarta. The inclusion criteria of the subjects were HIV-positive with BMI  $\geq 18.5$  kg/m<sup>2</sup>, untreated with ARV, or treated up to two years but CD4<sup>+</sup> lymphocyte count failed to increase, and subjects signed the informed consent after understanding risk and benefit of the study. The exclusion criteria were pregnant or lactating women, under oral anti tuberculosis (OAT) treatment, having chronic diarrhea, and subjects have a history of cow's milk allergy. From 36 HIV-positive patients selected by consecutive sampling method, only 34 were willing to participate in the study. Prior to the study, two of 34 participants were excluded due to underweight (BMI  $< 18.5$  kg/m<sup>2</sup>). From the rest 32 subjects, only 28 were fully participated in the study because two subjects rejected to involve further, one did not take the capsule regularly, and another moved to other city.

### **Study Measurement**

Data were collected at the beginning and at the end of the study by interview, anthropometric measurement, and laboratory examination of blood for determining CD4<sup>+</sup> lymphocyte count. Determinations of daily dietary intake were performed at the beginning and at the end of the study by using 1 x 24 hour food recall and 3 x 24 hour food record. Observation and evaluation of the subjects were performed before and after administration of capsules containing 200 mg of bovine lactoferrin (prepared by PT Mahakam Beta Farma, Jakarta, Indonesia) once a day for six weeks.

### Statistical Analysis

The SPSS package version 11.5 software was utilized for statistical analysis and Saphiro-Wilk's test was used to analyze normality of the data distribution. Normal distribution data were presented as mean  $\pm$  standard deviation. On the contrary, abnormal distribution data were presented as median value, including the minimum and maximum values. Within-group comparisons were performed using parametric (Paired *t*-test) and non-parametric (Wilcoxon's rank sum test and Chi-Square's test) analysis. A *p*-value  $<0.05$  was considered statistically significant.

### RESULTS

Twenty-eight adult HIV-infected patients entered the study consecutively from February to March 2010. The subjects of the study consisted of 18 men (64.29%) and 10 women (35.71%), with a mean value of age was  $30.3 \pm 4.46$  years old. At enrollment, 12 subjects were not treated with ARV therapy, and 16 subjects were treated with ARV but up to two years CD4<sup>+</sup> lymphocyte count failed to increase. Based on classification of BMI, nutritional status of 82.14% subjects were normal, and of 17.86% were overweight. None of the patients with BMI  $< 18.5 \text{ kg/m}^2$  was recruited as a subject of the study. Transmission of HIV infections were predominantly occurred among IDU (53.57%) while transmissions by sexual contact were only found in 46.43% subjects. Median values of BMI determined at the beginning and at the end of the study were  $20.91 \text{ kg/m}^2$  (18.52–30.29  $\text{kg/m}^2$ ) and  $20.97 \text{ kg/m}^2$  (17.43–30.75  $\text{kg/m}^2$ ), respectively. Wilcoxon test on both values was not significant ( $p=0.12$ ).

Analysis of energy and protein intake was performed based on food record data. The percentage of subjects with low energy intake before the study was 67.86% and increased at the end of the study to 71.43%. This number was inversely on the subjects with low protein intake as 71.43% before the study and 67.86% at the end of the study. Median value of energy intake before the study was 1432.20 kcal/day (1218.40–2536.70 kcal/day) and decreased at the end of the study to 1426.70 kcal/day (1227.30–2581.50 kcal/day). Wilcoxon test on both values was not significant ( $p=0.62$ ). Mean value of protein intake before the



study was  $54.54 \pm 8.26$  g/day and decreased at the end of the study to  $53.87 \pm 8.03$  g/day. Paired *t*-test on both values was not significant ( $p=0.14$ ).

As presented in table 1, mean value of CD4<sup>+</sup> lymphocyte count of all subjects before the study was  $231.85 \pm 122.89$  cells/ $\mu$ L and after six weeks administration of bovine lactoferrin, the number of cells increased to median value of 236.50 cells/ $\mu$ L (50.00–731.00 cells/ $\mu$ L). Wilcoxon test on both values showed no significant difference in CD4<sup>+</sup> lymphocyte count before and after six weeks administration of bovine lactoferrin ( $p=0.22$ ).

Table 1. Comparison between CD4<sup>+</sup> lymphocyte count of subjects at the beginning and at the end of the study (n=28)

Variable	Before	After	<i>p</i>
CD4 <sup>+</sup> lymphocyte count (cells/ $\mu$ L)	$231.85 \pm 122.89$	236.50 (50.00–731.00)	0.22 <sup>w</sup>

w: Wilcoxon test

This study also investigated the changes of CD4<sup>+</sup> lymphocyte count in two groups, comprise adult HIV-infected patients who were untreated with ARV and those who were treated with ARV, respectively. As described in table 2, mean value of CD4<sup>+</sup> lymphocyte count of untreated subjects with ARV before the study was  $302.33 \pm 132.79$  cells/ $\mu$ L and increased at the end of the study to  $345.33 \pm 202.23$  cells/ $\mu$ L. Paired *t*-test showed no significant difference on both values ( $p=0.35$ ). While, mean value of CD4<sup>+</sup> lymphocyte count of treated subjects with ARV before the study was  $178.00 \pm 84.77$  cells/ $\mu$ L and increased at the end of the study to  $204.38 \pm 122.66$  cells/ $\mu$ L. However, statistical analysis using paired *t*-test showed no significant difference ( $p=0.12$ ).

Table 2. Comparison between CD4<sup>+</sup> lymphocyte count of untreated and treated subject groups with ARV before and after the study

Subject group	n (%)	CD4 <sup>+</sup> lymphocyte count		<i>p</i>
		Before	After	
Untreated with ARV	12 (43.86)	302.33 ± 132.79	345.33 ± 202.23	0.35 <sup>t</sup>
Treated with ARV	16 (57.14)	178.00 ± 84.77	204.38 ± 122.66	0.12 <sup>t</sup>

<sup>t</sup>: paired *t*-test

The improvement of CD4<sup>+</sup> lymphocyte count after bovine lactoferrin administration was found in 7 out of 12 untreated subjects (58.33%) and in 9 out of 16 treated subjects with ARV (56.25%) as can be seen in figure 1. Chi-Square's test showed that the improvement of CD4<sup>+</sup> on both groups of subject was not significantly different ( $p=0.91$ ).

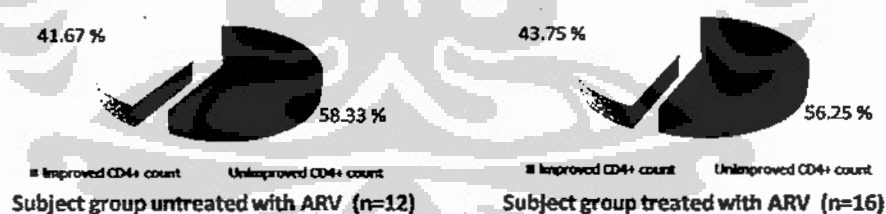


Figure 1. The improvement of CD4<sup>+</sup> lymphocyte count in different subject groups

None of the patients showed any side-effect during oral lactoferrin administration. Up to the end of the study, the compliance assessment of all subjects during scheduled follow-up period was excellent.

## DISCUSSION AND CONCLUSION

Various cells especially cells with CD4<sup>+</sup> receptor on their surface can be the target of HIV. Possessing CD4<sup>+</sup> receptor, the T lymphocytes in HIV-infected patients, tend to be destroyed by HIV *virion*.<sup>13</sup> Consequently, the numbers of CD4<sup>+</sup> lymphocyte of HIV-infected patients decline. The declining mechanism of CD4<sup>+</sup> cells is not fully understood but the number of CD4<sup>+</sup> cells of HIV-infected patients is quite necessary in determining the progress of the disease. Without intervention, the number of CD4<sup>+</sup> lymphocyte will dramatically decrease to a certain low level.<sup>14</sup> This condition makes opportunistic infection to develop easily and, in turn, it leads to the manifestation of AIDS and sepsis.<sup>15</sup> Recently, lactoferrin, an iron binding glycoprotein, has been studied *in vitro* and *in vivo* to investigate its role on the immune system of HIV infection. *In vitro* studies showed that lactoferrin exerts a strong activity against HIV.<sup>6</sup> This effect is due to inhibition of viral replication in the host cells.<sup>6,7</sup> Lactoferrin could block the internalization of HIV into the host cells.<sup>9,10</sup> *In vivo* studies showed that lactoferrin plus ARV therapy were more effective at increasing CD4<sup>+</sup> cell count in vertically infected children.<sup>11</sup>

This preliminary *in vivo* study is aimed to find out the effect of bovine lactoferrin administration on CD4<sup>+</sup> lymphocyte count of adult HIV-infected patients. The study was carried out along six weeks with pre-post study design. After six weeks intervention with bovine lactoferrin, mean value of CD4<sup>+</sup> lymphocyte count of the subjects increased above baseline but statistically the changes were not significantly different. However, although statistically of the difference was not significant, the increasing number of CD4<sup>+</sup> lymphocyte count during the six week intervention of lactoferrin has a clinical benefit. This argument is supported by existing data as can be seen in figure 1. The improvement of CD4<sup>+</sup> lymphocyte count found in 7 out of 12 untreated subjects and also in 9 out of 16 subjects treated with ARV. The later is the most attractive result as almost two years treated, their CD4<sup>+</sup> lymphocyte count failed to increase. This finding is not the same with *in vitro* observations of Viani et al.,<sup>16</sup> who demonstrated a synergistic effect of lactoferrin with ARV in vertically infected children.

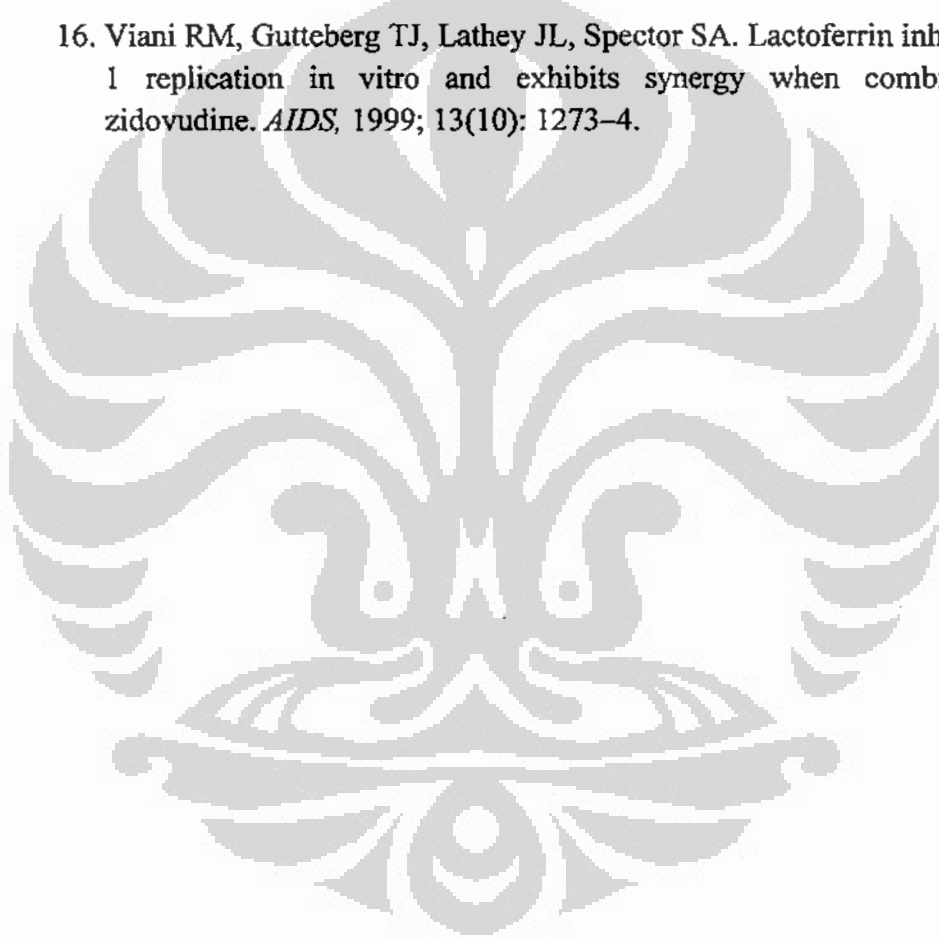
Within the limits of the present study design, it seems that after administrations of 200 mg/day of bovine lactoferrin for six weeks on either treated or untreated subjects with ARV, the improvement of CD4<sup>+</sup> lymphocyte count was statistically not significant. To improve significance level of statistical analysis, sample size of the study focused on the effect of lactoferrin on CD4<sup>+</sup> lymphocyte count is suggested to be enlarged and the length of study should be longer. However, although statistically unproven, from clinical point of view it can be concluded that lactoferrin has a clinical benefit because improvement of CD4<sup>+</sup> lymphocyte count can be found not only in 7 out of 12 untreated subjects but particularly in 9 out of 16 subjects treated with ARV as almost two years treated, their CD4<sup>+</sup> lymphocyte count failed to increase.

Further studies are required to learn exactly that the improvement effect of lactoferrin on CD4<sup>+</sup> lymphocyte count is not occurred by chances. It is suggested that the study should be carried out in two groups with treatment and control study design. This preliminary result is encouraging, particularly as lactoferrin is a natural compound produced by the human body and might be considered a 'safe' molecule without the risk of side effects. In the experiment, the dosage applied was 200 mg/day. To investigate the most effective dose in relation to CD4<sup>+</sup> lymphocyte count, the dosage should be increased gradually beginning at 400 mg/day.

## REFERENCES

1. Nasronudin. *HIV & AIDS pendekatan biologi molekuler, klinis dan sosial*. Surabaya: Airlangga University Press. 2007.
2. Ditjen PPM & PL Depkes RI. Statistik kasus HIV/AIDS di Indonesia sampai dengan Maret 2009.
3. Merati TP, Djauzi S. Respon imun infeksi HIV. In: Sudoyo AW, Setyohadi B, Alwi I, Simadibrata M, Setiati S, eds. *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam Jilid I*, edisi ke-4. Jakarta: Balai Penerbit FKUI, 2006. p.274–8.
4. Watson RR. *Nutrients and foods in AIDS*. New York: CRC Press, 1998.
5. Solomons NW. Modulation of the immune system and the response against pathogens with bovine colostrums concentrates. *Eur J Clin Nutr*, 2002; 56:24–8S.
6. Puddu P, Borghi P, Gessani S, Valenti P, Belardelli F, Seganti L. Antiviral effect of bovine lactoferrin saturated with metal ions on early steps of human immunodeficiency virus type 1 infection. *Int J Biochem Cell Biol*, 1998; 30: 1055–63.
7. Moriuchi M, Moriuchi H. A milk protein lactoferrin enhances human T cell leukemia virus type 1 and suppresses HIV-1 infection. *J Immunol*, 2001; 166: 4231–6.
8. Ng TB, Lam TL, Au TK, Ye XY, Wan CC. Inhibition of human immunodeficiency virus type 1 reverse transcriptase, protease, and integrase by bovine milk proteins. *Life Sci*, 2001; 69: 2217–23.
9. Berkhout B, van Wamel JLB, Beljaars L, Meijer DKF, Visser S, Floris R. Characterization of the anti-HIV effects of native lactoferrin and other milk proteins and protein-derived peptides. *Antiviral Res*, 2002; 55: 341–55.
10. Groot F, Geijtenbeek TBH, Sanders RW, Baldwin CE, Hernandez MS, Floris R, et al. Lactoferrin prevents dendritic cell-mediated human immunodeficiency virus type 1 transmission by blocking the DC-SIGN-gp120 interaction. *J Virol*, 2005; 79(5): 3009–15.
11. Zuccotti GV, Salvini F, Riva E, Agostoni C. Oral lactoferrin in HIV-1 vertically infected children: an observational follow-up of plasma viral load and immune parameters. *J Int Med Res*, 2006; 34: 88–94.

12. Mulder AM, Connellan PA, Oliver CJ, Morris CA, Stevenson LM. Bovine lactoferrin supplementation supports immune and antioxidant status in healthy human males. *Nutr Res*, 2008; 228: 583–9.
13. Baratawidjaja KG, Rengganis I. *Imunologi Dasar*. Edisi ke-8. Jakarta: Balai Penerbit FKUI, 2009. p.477–513.
14. Singh R, Singh S, Kaur V. Human immunodeficiency virus. *Indian J Dermatol Venereol Leprol*, 1992; 58: 233–42.
15. Pantaleo G, Graziosi C, Fauci AS. The immunopathogenesis of human immunodeficiency virus infection. *NEJM*, 1993; 328: 327–35.
16. Viani RM, Gutteberg TJ, Lathey JL, Spector SA. Lactoferrin inhibits HIV-1 replication in vitro and exhibits synergy when combined with zidovudine. *AIDS*, 1999; 13(10): 1273–4.





## UNIVERSITAS INDONESIA FAKULTAS KEDOKTERAN

Jalan Salemba Raya No. 6 Jakarta Pusat

Pos Box 1258 Jakarta 10430

Kampus Salemba Telp. 31918971, 31938373, 3922977, 3927360, 3912477, 3153236, Fax : 31930372, 3157288, e-mail : office@fk.ui.ac

NOMOR : 894 /PT02.FK/ETIK/2009

### KETERANGAN LOLOS KAJI ETIK

#### ETHICAL — CLEARANCE

Panitia Tetap Penilai Etik Penelitian, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia dalam upaya melindungi hak asasi dan kesejahteraan subyek penelitian kedokteran, telah mengkaji dengan teliti protokol berjudul:

*The Committee of The Medical research Ethics of the Faculty of Medicine,*

*University of Indonesia, with regards of the Protection of human rights and welfare in medical research, has carefully reviewed the proposal entitled:*

"Pengaruh Pemberian Laktoferrin Sapi Terhadap Jumlah Limfosit CD4 Pasien HIV Positif di RSUPNCGM Jakarta".

Peneliti Utama : dr. Florentina Mariane Rahardja  
Name of the principal investigator

Nama Institusi : Ilmu Gizi FKUI/RSCM

dan telah menyetujui protocol tersebut di atas.  
and approved the above mentioned proposal

Jakarta, 9 Nopember 2009



Chairman  
Ketua

Prof. Dr. Agus Firmansyah, SpA(K)

-Peneliti wajib menjaga kerahasiaan identitas subyek penelitian.

Universitas Indonesia

## Lampiran 2

Formulir A1

### Lembar Informasi Penelitian

Yth. Bapak/Ibu/Saudara/i

Dengan ini kami jelaskan bahwa akan diadakan penelitian pada Bapak/Ibu/Saudara/i untuk mengetahui pengaruh pemberian laktoferin sapi terhadap daya tahan tubuh penderita HIV. Apabila Bapak/Ibu/Saudara/i bersedia mengikuti penelitian ini, maka akan dilakukan:

1. Wawancara mengenai usia, jenis kelamin, dan faktor risiko penularan.
2. Wawancara mengenai asupan makanan dan minuman yang terakhir dikonsumsi dalam 1 x 24 jam pada awal dan akhir penelitian.
3. Pencatatan asupan makanan dan minuman selama 3 x 24 jam pada awal dan akhir penelitian.
4. Pengukuran tinggi badan dan berat badan pada awal dan akhir penelitian.
5. Diberikan kapsul laktoferin sapi yang diminum sebutir setiap hari selama enam minggu.
6. Pengambilan darah sebanyak  $\pm$  3 ml atau setengah sendok makan untuk mengetahui jumlah limfosit CD4<sup>+</sup> pada awal dan akhir penelitian.

Akibat pengambilan darah, mungkin Bapak/Ibu/Saudara/i akan merasakan sedikit ketidaknyamanan atau sakit, namun hal ini akan diminimalkan dengan pengambilan darah oleh tenaga terlatih dan menggunakan jarum suntik yang kecil.

Dengan mengikuti penelitian ini, Bapak/Ibu/Saudara/i akan memperoleh manfaat, antara lain mengetahui status gizi dan pengaruh pemberian laktoferin terhadap daya tahan tubuh. Keikutsertaan Bapak/Ibu/Saudara/i dalam penelitian ini bersifat sukarela dan Bapak/Ibu/Saudara/i dapat menolak atau mengundurkan diri selama proses penelitian berlangsung. Semua data dalam penelitian ini bersifat rahasia.

Apabila Bapak/Ibu/Saudara/i bersedia ikut dalam penelitian ini, maka dimohon kesediaannya untuk menandatangani surat persetujuan menjadi peserta penelitian: **PENGARUH PEMBERIAN LAKTOFERIN SAPI TERHADAP JUMLAH LIMFOSIT CD4<sup>+</sup> PASIEN HIV POSITIF DI RSUPNCM JAKARTA**

Hal-hal yang belum jelas dalam penelitian ini dapat ditanyakan secara langsung atau melalui telepon pada penanggung jawab penelitian yaitu dr. Florentina M. Rahardja (085 888 121 833)

Atas kesediaan Bapak/Ibu/Saudara/i, kami ucapkan terima kasih.



## Lampiran 3

Formulir A2

No. urut :  
 No. rekam medik :

**FORMULIR PERSETUJUAN**  
*(Informed consent)*

---

BAGIAN ILMU GIZI PROGRAM STUDI ILMU GIZI KLINIK  
 FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS INDONESIA

---

**SURAT PERSETUJUAN MENJADI PESERTA PENELITIAN**

Saya yang bertandatangan di bawah ini:

Nama :  
 Umur :  
 Jenis kelamin : Laki-laki/perempuan  
 Alamat lengkap :

Setelah mendapat keterangan secukupnya dan mengerti akan risiko/manfaat penelitian tersebut di bawah ini yang berjudul:

**PENGARUH PEMBERIAN LAKTOFERIN SAPI TERHADAP JUMLAH LIMFOSIT CD4<sup>+</sup> PASIEN HIV POSITIF DI RSUPNCM JAKARTA**

Saya menyatakan bersedia:

- Mengikuti penelitian ini selama enam minggu;
- Diwawancarai dan mencatat asupan makanan saya;
- Diukur tinggi badan dan berat badan saya;
- Mengonsumsi kapsul laktoferin setiap hari selama enam minggu;
- Darah saya diambil untuk pemeriksaan jumlah limfosit CD4<sup>+</sup>.

Dengan penuh kesadaran saya menyetujui diikutsertakan dalam penelitian ini dan bila sewaktu-waktu dirugikan dalam bentuk apapun, berhak membatalkan persetujuan ini. Dengan menandatangani formulir ini, saya setuju ikutserta dalam penelitian ini.

Mengetahui: Jakarta, .....  
 Peserta penelitian:

dr. Florentina M. Rahardja,

Saksi: (.....)

(.....)

## Lampiran 4

## Formulir B

No. urut :  
 No. rekam medik :  
 Nama :

## Formulir Seleksi

Kriteria penerimaan	Ya
1. HIV positif	
2. Indeks Massa Tubuh $\geq 18,5 \text{ kg/m}^2$	
3. Belum mendapat obat ARV	
4. Sudah mendapat obat ARV selama 2 tahun namun jumlah limfosit CD4 <sup>+</sup> tidak mengalami peningkatan (<400 sel/ $\mu\text{L}$ )	
5. Bersedia mengikuti penelitian dan menandatangani formulir persetujuan	
Kriteria penolakan	Tidak
1. Hamil atau menyusui	
2. Mendapat terapi OAT	
3. Menderita diare kronis	
4. Riwayat alergi terhadap susu sapi	

**Kesimpulan:** terpilih / tidak terpilih sebagai subyek penelitian

**Lampiran 5**

## Formulir C

No. urut :  
No. rekam medik :

**Karakteristik Demografi Subyek****Identitas Subyek Penelitian**

1. Nama : .....
2. Tanggal lahir : .....  
Usia : .....
3. Jenis kelamin : 1. Pria                      2. Wanita
4. Alamat : Jl. ....  
              RT..... RW..... Kelurahan.....  
              Kecamatan.....  
Telepon : .....
5. Faktor risiko penularan : .....

## Lampiran 6

## Formulir D1

No. urut :  
 No. rekam medik :  
 Nama :

**Penilaian Asupan Makanan (*Food Recall*) 1 x 24 Jam**

Hari/ tanggal: \_\_\_\_\_ (hari kerja/hari libur)

Waktu	Jam	Bahan Makanan/ Minuman	Jumlah (URT)
Makan pagi			
Selingan			
Makan siang			
Selingan			
Makan malam			

URT: ukuran rumah tangga (sendok makan, sendok teh, mangkok, dll)

## Lampiran 7

## Formulir D2

No. urut :  
 No. rekam medik :  
 Nama :

**Catatan Asupan Makanan (*Food Record*) 3 x 24 Jam**

Hari/ tanggal: \_\_\_\_\_ (hari kerja/hari libur)

Waktu	Jam	Bahan Makanan/ Minuman	Jumlah (URT)
Makan pagi			
Selingan			
Makan siang			
Selingan			
Makan malam			

URT: ukuran rumah tangga (sendok makan, sendok teh, mangkok, dll)

**Lampiran 8****Formulir D3**

No. urut :  
No. rekam medik :  
Nama :

**Evaluasi Konsumsi Kapsul Laktoferin Sapi**

Minggu	Kapsul yang diberi (butir)	Sisa kapsul (butir)	Kapsul yang dikonsumsi (butir)
0	15	-	
2			
4			
6			

## Lampiran 9

## Formulir E

No. urut :  
 No. rekam medik :  
 Nama :

## Pemeriksaan Antropometri

No.	Pengukuran	Sebelum perlakuan			Setelah perlakuan		
		1	2	Rerata	1	2	Rerata
1.	BB (kg)						
2.	TB (cm)						
3.	IMT ( $\text{kg}/\text{m}^2$ )						

Pemeriksaan Jumlah Limfosit CD4<sup>+</sup>

Pengukuran	Hasil	
	Minggu pertama	Akhir minggu keenam
Jumlah Limfosit CD4 <sup>+</sup> (sel/ $\mu\text{L}$ )		

## Lampiran 10

## Pemeriksaan Laboratorium

Jumlah Limfosit CD4<sup>+</sup>

Metode : *Flowcytometry*

Reagen : BD Tritest<sup>TM</sup> CD3 FITC/CD 4PE/CD45 PerCP

## Prosedur pemeriksaan:

1. Dari sampel darah yang akan diperiksa jumlah limfosit CD4<sup>+</sup>nya, terlebih dahulu dilakukan penghitungan jumlah sel darah putih dan persentase limfositnya
2. Sebanyak 20  $\mu$ L *immunofluorescence reagent* yaitu BD Tritest<sup>TM</sup> CD3 FITC/CD4 PE/CD45PerCP di masukkan ke dalam tabung falcon
3. Kemudian 50  $\mu$ L sampel darah ditambahkan ke dalam tabung tersebut
4. Selanjutnya tabung diletakkan pada alat *mixer*, setelah itu tabung didiamkan dalam ruang gelap pada suhu kamar selama 15 menit
5. Ke dalam tabung ditambahkan 450  $\mu$ L FACS Lysing Solution.
6. Tabung kembali diletakkan pada alat *mixer*, dan didiamkan dalam ruang gelap pada suhu kamar selama 15 menit.
7. Setelah itu, tabung kembali diletakkan di alat *mixer*, kemudian dideteksi dengan alat BD FACS Calibur<sup>TM</sup> *flowcytometer* dan hasilnya dibaca di komputer dengan perangkat lunak BD MultiSET V2.2.