Vol. 18, No. 1 November 2011 ISSN 0854-4263

INDONESIAN JOURNAL OF

Clinical Pathology and Medical Laboratory

Majalah Patologi Klinik Indonesia dan Laboratorium Medik

IJCP & ML (Maj. Pat. Klin. Indonesia & Lab. Med.)	Vol. 18	No. 1	Hal. 1–75	Surabaya November 2011	ISSN 0854-4263

Diterbitkan oleh Perhimpunan Dokter Spesialis Patologi Klinik Indonesia

Published by Indonesian Association of Clinical Pathologists

Terakreditasi No: 66b/DIKTI/KEP/2011, Tanggal 9 September 2011

Vol. 18, No. 1 November 2011 ISSN 0854-4263

INDONESIAN JOURNAL OF

CLINICAL PATHOLOGY AND MEDICAL LABORATORY

Majalah Patologi Klinik Indonesia dan Laboratorium Medik

DAFTAR ISI

PENELITIAN

Pola Kuman Aerob dan Kepekaan Antimikroba pada Ulkus Kaki Diabetik
(*Aerob Microbes Pattern and Antimicrobial Sensitivity of Diabetic Foot Ulcer*)
Liong Boy Kurniawan, Tenri Esa, Nurhayana Sennang **1–3**

Kadar Interleukin 10 (IL-10) Malaria dan Anemia
(*Plasma Levels of Interleukin10 (IL-10) in Malaria and Anaemia*)
I Nyoman Wande, Endang Retnowati, Juli Soemarsono **4–7**

Identifikasi *Cryptosporidiosis* di Pasien Anak HIV dengan Diare Kronis di Ruang Gastro Anak
(*Identification of Cryptosporidiosis in Paediatric HIV-infected Patients with Chronic Diarrhoea at Paediatric Gastro Ward*)
Jusak Nugraha, Febtarini Rahmawati, Dominicus Husada **8–10**

Imunoglobulin A di Demam Berdarah Dengue
(*Immunoglobulin A in Dengue Hemorrhagic Fever*)
Iwan Joseph, Uleng Bahrun, Idham Jaya Ganda, Mansyur Arif **11–14**

Perbandingan Penentuan Kadar Tiroksin *Enzyme Linked Immunofluorescent Assay* (ELFA) dan *Enzyme Linked Immunosorbant Assay* (ELISA)
{*Comparison of Determination for Thyroxine with Enzyme Linked Immunofluorescent Assay (ELFA) and Enzyme Linked Immunosorbant Assay (ELISA)*}
Faizah Yunianti, Siswanto Darmadi, M Y. Probohoesodo, Budiono **15–19**

Interleukin-10 Plasma dan Limfosit-T $CD4^+$ Penderita Terinfeksi HIV
(*Plasma Interleukin-10 and $CD4^+$ Lymphocyte-T in HIV Infected Patients*)
Kadek Mulyantari, Endang Retnowati, Nasronudin **20–29**

Deteksi Resistensi Fluorokuinolon di *Salmonella Sp* dengan Menggunakan Uji Kepekaan Asam Nalidiksat
(*Detecting Fluoroquinolone Resistance of Salmonella Sp Using Nalidixic Acid Succeptibility Test*)
Lim Bing Tiam, Tjan Sian Hwa, Sri Mulyani, Widiyani, Diyah Asmawati, Prastika N, Meyra Fajarochwati **30–34**

Phyllanthus Niruri L terhadap Imunitas Seluler Tikus
(*Phyllanthus Niruri L the Effects of Extract on Cellular Immunity Mice*)
Ima Arum L, Purwanto AP, Henna Rya **35–42**

Phytoestrogen in Several Fruits and Leaves
(*Fitoestrogen dalam Beberapa Daun dan Buah*)
L. Maha Putra, Hening Laswati Putra **43–47**

Uji Diagnostik *NT Pro Natriuretic Peptide* (NTproBNP) Gagal Jantung Kongestif
(*Diagnostic Test NT Pro Natriuretic Peptide (NTproBNP) on Congestive Heart Failure*)
Dewi Indah Noviana Pratiwi, Suwarso, Osman Sianipar **48–56**

TELAAH PUSTAKA

Infeksi *Human Immunodeficiency Virus (HIV)* pada Bayi dan Anak
(*Human Immunodeficiency Virus (HIV) Infection in Babies and Chlidren*)
Johanis, Endang Retnowati **57–62**

Dicetak oleh (printed by) Airlangga University Press. (016/01.12/AUP-B5E). Kampus C Unair, Jln. Mulyorejo Surabaya 60115, Indonesia.
Telp. (031) 5992246, 5992247, Telp./Fax. (031) 5992248. E-mail: aupsby@rad.net.id.
Kesalahan penulisan (isi) di luar tanggung jawab AUP

LAPORAN KASUS

Sirosis Hepatis Dekompensata pada Anak
(*Decompensated Cirrhosis Hepatic in Children*)
Rima Yuliati Muin, Julius Roma, Mutmainnah, Ibrahim Abd Samad **63–67**

MANAJEMEN LABORATORIUM

Pengelolaan Sumber Daya Manusia Laboratorium Klinik
(*Human Resources Management in the Clinical Laboratory*)
Noormartany **68–72**

INFO LABORATORIUM MEDIK TERBARU **73–75**

INTERLEUKIN-10 PLASMA DAN LIMFOSIT-T CD4$^+$ PENDERITA TERINFEKSI HIV

(Plasma Interleukin-10 and CD4$^+$ Lymphocyte-T in HIV Infected Patients)

Kadek Mulyantari[1], Endang Retnowati[2], Nasronudin[3]

ABSTRACT

HIV & AIDS have become a global problem throughout the world including Indonesia. The incidence is rapidly increasing. Various treatment and efforts have been carried out but until now have not yet been succeeded, the mortality remains high. Examination of CD4$^+$ lymphocyte-T which is carried out to determine the immune status and monitoring the treatment has some limitation. Besides the degradation of CD4$^+$ lymphocyte-T, the increase of the disease progression is also followed by an increase of interleukin-10 as well. The determination of interleukin-10 is expected to be use as an alternative examination if CD4$^+$ lymphocyte-T can not be performed. To analyze the correlation between the levels of plasma interleukin-10 and amount of CD4$^+$ lymphocyte-T in the asymptomatic HIV infected patients. A cross sectional, observational analytical study of 41 patients with HIV infection stage I, has been conducted from March–April 2009, at the Intermediate Infectious Disease Care Unit Dr. Soetomo General Hospital, Surabaya. The diagnosis of HIV patients was based on positive result of HIV test using three (3) different methods. Eight mL venous blood were taken from each patient, 6 mL is put into a heparin tube for the examination of IL-10 plasma with ELISA method and 2 mL is put into a K_3EDTA tube for examining the CD4$^+$ lymphocyte-T using flowcytometry. The results showed of plasma IL-10 level and the amount of CD4$^+$ lymphocyte-T, which were analyzed by Pearson correlation test to determine the correlation between the two (2) variabels. The IL-10 levels in HIV patients were 3.80–44.50 pg/mL (mean 18.09 pg/mL, SD 8.84 pg/mL). The amount of absolute CD4$^+$ lymphocyte-T was 5–846 cells/μL (mean 322.07 cells/μL and SD 221.89 cells/μL), while the amount of percentage CD4$^+$ lymphocyte-T was 0.41–29.48% (mean 13.99%, SD 7.62%). Statistical analyzes show a significant negative correlation either between plasma IL-10 level with absolute CD4$^+$lymphocyte-T and plasma IL-10 level with percentage of CD4$^+$ lymphocyte-T, each level of r was –0.652 and –0.683. A significant negative correlation was also formed between plasma IL-10 level and the amount of CD4$^+$ lymphocyte-T in the HIV infected patients. In the HIV infected patients, the increase of plasma IL-10 level was followed by a decrease of CD4$^+$ lymphocyte-T.

Key words: *Interleukin-10, CD4$^+$ lymphocyte-T, human immunodeficiency virus*

ABSTRAK

HIV & AIDS merupakan masalah mendunia dengan angka kejadian yang terus meningkat. Berbagai jenis pengobatan dan upaya yang sudah dilakukan dianggap belum berhasil sepenuhnya, sehingga angka kematian tetap tinggi. Pemeriksaan jumlah limfosit-T CD4$^+$ untuk menentukan status imun dan pemantauan pengobatan memiliki beberapa keterbatasan, selain terjadi penurunan jumlah limfosit-T CD4$^+$, pada peningkatan keparahan penyakit juga diikuti peningkatan kadar interleukin-10. Pemeriksaan interleukin-10 diharapkan dapat sebagai pengganti pemeriksaan jika jumlah limfosit-T CD4$^+$ tidak dapat ditentukan. Kajian ini dilakukan untuk mengetahui kenasaban antara kadar interleukin-10 plasma dan jumlah limfosit-T CD4$^+$ di penderita terinfeksi HIV. Penelitian bersifat amatan potong silang. Sampel terdiri dari 41 penderita terinfeksi HIV tahap I, yang dirawat di Unit Perawatan Intermediit Penyakit Infeksi RSUD Dr. Soetomo Surabaya mulai Maret sampai dengan April 2009. Diagnosis HIV berdasarkan hasil uji HIV positif dengan menggunakan tiga cara yang berbeda. Pengambilan darah vena dilakukan sebanyak delapan mL, yang enam mL dimasukkan ke dalam tabung heparin untuk pemeriksaan kadar interleukin-10 plasma dengan metode ELISA. Kemudian yang 2 mL darah dimasukkan ke dalam tabung K_3EDTA untuk pemeriksaan jumlah limfosit-T CD4$^+$ menggunakan metode sitometri aliran (flowcytometry). Hasil periksaan kadar interleukin-10 plasma dan jumlah limfosit-T CD4$^+$ dianalisis dengan uji kenasaban Pearson untuk menentukan kenasaban antara kedua variabel tersebut. Kadar IL-10 plasma penderita terinfeksi HIV berkisar antara 3,80 pg/mL hingga 44,50 pg/mL (rerata 18,09 pg/mL, SD 8,84 pg/mL). Hasil periksaan jumlah limfosit-T CD4$^+$ mutlak penderita terinfeksi HIV berkisar antara 5 sel/μL hingga 846 sel/μL (rerata 322,07 sel/μL dan SD 221,89 sel/μL). Berdasarkan nilai persentase, berkisar antara 0,41 hingga 29,48% (rerata 13,99%, SD 7,62%). Analisis statistik menunjukkan kenasaban negatif yang berarti baik antara kadar IL-10 plasma dengan jumlah limfosit-T CD4$^+$ mutlak maupun antara kadar IL-10 dengan jumlah limfosit-T CD4+ persentase dengan nilai r masing-masing –0,652 dan –0,683. Kenasaban negatif yang terdapat berarti antara kadar IL-10 plasma dan jumlah limfosit-T CD4$^+$ di penderita terinfeksi HIV. Di penderita terinfeksi HIV, peningkatan kadar IL-10 plasma akan diikuti penurunan jumlah limfosit-T CD4$^+$. Pemeriksaan IL-10 dapat digunakan sebagai salah satu pemeriksaan alternatif jika pemeriksaan jumlah limfosit T-CD4$^+$ tidak dapat dilakukan. Selain itu pemeriksaan Il-10 plasma juga dapat digunakan sebagai salah satu pertimbangan dalam penatalaksanaan penderita terinfeksi HIV serta membantu dalam pemantauan pemberian pengobatan anti retrovirus pada penderita HIV & AIDS.

Kata kunci: Interleukin-10, limfosit-T CD4$^+$, *human immunodeficiency virus*

[1] Departemen Patologi Klinik FK Unud/RSUP Sanglah Denpasar. E-mail: melyan79@yahoo.co.id
[2] Departemen Patologi Klinik FK Unair/RSUD Dr. Soetomo Surabaya
[3] Departemen Ilmu Penyakit Dalam FK Unair/RSUD Dr. Soetomo Surabaya

PENDAHULUAN

Penyakit infeksi *Human Immunodeficiency Virus & Acquired Immune Deficiency Syndrome* (HIV & AIDS), saat ini sudah menyebar ke seluruh dunia dan terus meningkat dari tahun ke tahun. Indonesia termasuk negara dengan peningkatan angka kejadian HIV & AIDS yang cukup tinggi. Angka kejadian AIDS yang dilaporkan dari 32 propinsi sampai September 2007 mencapai 10.384 orang.[1] Berbeda halnya dengan penyakit lain, HIV & AIDS belum sepenuhnya diterima secara wajar oleh masyarakat. Masyarakat cenderung mengasingkan penderita, menolak kehadirannya bahkan setelah meninggal pun masih dipermasalahkan oleh berbagai pihak.[2,3] Keadaan ini memunculkan masalah sangat rumit bagi penderita, keluarga dan masyarakat. Di sisi lain sebagian besar penderita datang ke rumah sakit pada masa penyakit lanjut, sehingga diagnosis dan penatalaksanaannya terlambat. Berbagai jenis pengobatan dan upaya yang sudah dilakukan untuk menekan angka kejadian HIV & AIDS, tetapi sampai saat ini dianggap belum berhasil sepenuhnya sehingga angka kematian tetap tinggi.[2]

Salah satu sarana diagnosis dan pemeriksaan untuk mengetahui status imun dan pemantauan pengobatan adalah pemeriksaan limfosit-T $CD4^+$ (*Cluster of Differentiation 4*).[1]

Pemeriksaan limfosit-T $CD4^+$ ini memiliki beberapa kelemahan antara lain sampel yang diambil harus segar, bila terpaksa ditunda paling lama waktu pengambilan kurang 30 jam.[4] Hasil hitungan dipengaruhi faktor keluar air kemih siang hari (diurnal), kegiatan fisik, stres, dan dapat berbeda setiap hari bergantung penyakit penyerta yang ada.[5,6] Keterbatasan lain, pemeriksaan jumlah limfosit-T $CD4^+$ belum tersedia di setiap laboratorium. Pemeriksaan ini hanya dapat dilakukan oleh beberapa laboratorium besar yang memiliki sarana *flowcytometry* atau mikroskop pendar fluor (fluorosens) serta diperlukan pelaksana yang terlatih.

Keseimbangan tanggap T-*helper* 1 (Th1) dan T-*helper* 2 (Th2) terlibat dalam terjadinya penyakit infeksi HIV. Pada peningkatan keparahan penyakit akan terjadi dominasi tanggap T-*helper* 2 (Th2). Sejumlah sitokin yang dihasilkan Th1 (IL-2, IL-12, dan IFN-γ) akan menurun dan sejumlah sitokin yang dihasilkan Th2 (IL-4, IL-5, IL-6, IL-10) akan meningkat. Jumlah sitokin Th2 yang salah satunya adalah IL-10, dalam jumlah berlebihan justru bersifat proapoptosis dan ikut memicu penurunan jumlah limfosit-T $CD4^+$.[7-11] Di samping melalui mekanisme tersebut, penurunan jumlah limfosit-T $CD4^+$ juga dapat terjadi melalui jalur lintasan berperantara mitokondria (*mitochondrial mediated pathway*). Melalui jalur tersebut akan melibatkan *Reactive oxygen Species* (ROS), kadar kalsium, Bax, Bcl2, Bcl xl, *Heat shock protein* (Hsp).[3] Faktor tersebut mempengaruhi proses apoptosis, sehingga jumlah limfosit-T $CD4^+$ akan terus menurun sejalan dengan peningkatan keparahan penyakit. Namun di satu sisi tanggap Th2 akan terus meningkat dan hasilan IL-10 juga akan meningkat sejalan dengan peningkatan keparahan penyakit.

Di samping klinis, patokan untuk memulai memberikan pengobatan dan penentuan keparahan penyakit penderita HIV & AIDS adalah jumlah limfosit-T $CD4^+$. Dalam keadaan tertentu, kadang secara klinis susah ditentukan dan hasil periksaan jumlah limfosit-T $CD4^+$ masih tinggi (belum dalam batas pemberian pengobatan Anti-Retro Virus (ARV)) mengingat terdapat banyak faktor yang mempengaruhi hasil periksaan limfosit-T $CD4^+$. Dalam keadaan tersebut pemeriksaan IL-10 perlu dilakukan, untuk meyakinkan peklinik perihal tingkat perkembangan penyakit karena pada peningkatan keparahan penyakit juga disertai peningkatan kadar IL-10. Pemeriksaan limfosit -T $CD4^+$ yang digabungkan dengan pemeriksaan IL-10 akan lebih meyakinkan peklinik dan akan lebih bermanfaat dalam penatalaksanaan penderita. Di laboratorium yang belum memiliki sarana *flowcytometry,* pemeriksaan IL-10 diharapkan dapat dijadikan sebagai salah satu pemeriksaan pengganti apabila pemeriksaan limfosit-T $CD4^+$ tidak dapat dilakukan. Pemeriksaan IL-10 dapat dilakukan dengan metode ELISA menggunakan peralatan yang umumnya sudah tersedia di sebagian besar laboratorium. Di samping peralatan yang lebih sederhana, dari segi biaya pemeriksaan IL-10 lebih murah, sampel dapat bertahan sampai beberapa bulan dan kurang dipengaruhi oleh faktor diurnal. Peran IL-10 penderita terinfeksi HIV belum banyak dibahas dan belum diketahui selengkapnya. Pada penelitian ini, peneliti ingin meneliti kenasaban antara kadar interleukin-10 plasma dengan jumlah limfosit-T $CD4^+$ penderita terinfeksi HIV tanpa gejala. Sehingga akan diketahui kenasaban antara kadar interleukin-10 plasma dan jumlah limfosit-T $CD4^+$ penderita terinfeksi HIV tanpa gejala.

METODE

Penelitian bersifat *cross sectional observasional.* Jumlah yang terkait dalam penelitian ini adalah pasien HIV, dewasa (umur >13 tahun) di Unit Rawat Jalan Unit Perawatan Intermediet Penyakit Infeksi (UPIPI) RSUD Dr. Soetomo Surabaya. Mereka ialah yang dirawat di Unit Perawatan Intermediet Penyakit Infeksi RSUD Dr. Soetomo Surabaya antara Maret–April 2009. Sampel terdiri dari 41 pasien terinfeksi HIV stadium I, karena pada tahap

tersebut infeksi oportunistik belum terjadi, sehingga dapat mengurangi bias hasil periksaan IL-10 dan jumlah limfosit- T CD4$^+$. Mengingat adanya infeksi oportunistik terutama yang bersistem juga dapat meningkatkan kadar IL-10 dan mempengaruhi jumlah limfosit- T CD4$^+$. Pertimbangan lainnya, pemeriksaan kadar IL-10 dan jumlah limfosit- T CD4$^+$ pada tahap tersebut diharapkan dapat meramalkan tingkat keparahan penyakit dan munculnya infeksi oportunistik bersistem di pasien terinfeksi HIV. Patokan penerimaan sampel adalah pasien dengan faktor kebahayaan positif dan menggunakan tiga macam pemeriksaan HIV yang berbeda dengan hasil positif, meliputi: gambaran klinis tanpa gejala, mampu berkegiatan secara normal, bersedia ikut serta dalam penelitian dan menandatangani surat persetujuan tindakan. Sampel ditolak apabila pasien telah menerima pengobatan kortikosteroid, Anti-Retro Virus (ARV), atau menderita infeksi lain di samping HIV serta menolak ikut serta dalam penelitian ini.

Pemeriksaan limfosit- T CD4$^+$

Pemeriksaan jumlah limfosit- T CD4$^+$ dilakukan dengan metode *flowcytometry* di laboratorium Patologi Klinik FK UNAIR/RSUD Dr. Soetomo. Asas pemeriksaan, jika sampel darah utuh (*whole blood*) ditambah reagen, maka antibodi bertanda *fluorochrome* dalam reagen akan berikatan secara khas dengan antigen di permukaan limfosit. Limfosit yang telah berikatan dengan antibodi yang ditandai *fluorochrome* akan berfluoresensi bila terkena sinar laser, fluoresensi yang terjadi sebanding dengan jumlah sel yang ada.

Sampel untuk pemeriksaan jumlah limfosit-T CD4$^+$ terdiri dari 2 mL darah vena dalam tabung K_3EDTA. Sampel diserbasamakan dengan cara membolak-balikkan tabung sebanyak 5–10 kali dengan stabilitas < 30 jam pada suhu kamar (20–25° C). Sampel ditolak apabila terjadi lisis darah, darah membeku, atau ada bekuan darah setelah lebih dari 30 jam pengambilan.

Alat dan reagen untuk pemeriksaan limfosit-T CD4$^+$ terdiri dari tabung BD TruCOUNT dan reagen BD Tritest CD3 FITC/CD4 PE/CD45 PerCP. Tabung BD TruCOUNT merupakan tabung yang digunakan untuk menghitung jumlah mutlak leukosit dalam darah. Di dasar tabung berisi penahan logam (*metal retainer*) yaitu sarana tertentu yang terbuat dari logam (*metal)* yang berfungsi untuk menahan gelas koral (*beads*) agar tidak terlepas. Tabung juga mengandung pel/pentel berliofil (*Lyophilized pellet*) yang merupakan *fluorochrome-integrated reference beads* berfungsi sebagai flouresen baku yang akan larut apabila ke dalam tabung ditambahkan reagen antibodi monoklon dan darah utuh. Reagen BD Tritest CD3 FITC/CD4 PE/CD45 PerCP merupakan reagen imunofluorescen tiga (3) warna yang digunakan di alat *flowcytometer* untuk mengenali dan menghitung jumlah limfosit-T CD3$^+$ mutlak dan persentasenya, limfosit T *helper/inducer* (CD3$^+$ CD4$^+$) dalam eritrosit (*lysed whole blood),* antibodi terdiri dari CD3, CD4, CD45 yang masing-masing telah ditandai flouresen yaitu CD3 *fluorescein isothiocyanate* (CD3 FITC)/CD4 *phycoerythrin* (CD4 PE)/CD45 *peridinin cholorophyll protein* (CD45 perCP). Antibodi CD3, CD4, CD45 merupakan antibodi monoklon yang diperoleh dari proses hibridisasi sel mieloma tikus NS-1 (*mouse NS-1 myeloma cells*) dengan sel limpa tikus BALB/C (*spleen cells BALB/c mice*) yang telah dikebalkan dengan limfosit T darah tepi manusia (*human peripheral blood T lymphocytes*). Antibodi mengandung *mouse IgG1 heavy chains and kappa light chains*. CD3 *fluorescein isothiocyanate* (CD3 FITC) untuk mengenali limfosit T dan *T-cell Antigen Receptor* (TCR) rumpil, mengandung paling sedikit enam protein dengan berat molekul 20–30 kilodalton. Antigen yang dikenal oleh antibodi CD3 adalah antigen non hubungan atom (nonkovalen) yang berhubungan dengan α/β atau γ/δ TCR. CD4 *phycoerythrin* (CD4 PE) untuk mengenali limfosit T *helper/inducer*. Antibodi CD4 PE akan berinteraksi)dengan *MHC class II* dan penerima utama (reseptor primer) HIV. CD45 *peridinin cholorophyll protein* (CD45 perCP) untuk leukosit dengan berat molekul antigen leukosit manusia (*human leucocyte antigen*) 180–220 kilodalton. CD 45 merupakan antigen leukosit umum/*leukocyte common antigen* (LCA). Bahan lain yang diperlukan adalah '*Facs flow®*' yaitu cairan pencuci yang digunakan untuk alat *cytometer* FASCalibur dan larutan BD FACS^{TM} *lysing* mengandung *diethylene glycol* dan *formaldehyde* dengan pengenceran 10 kali (cara: 100 μL larutan BD FACS^{TM} *lysing* + 900 μL aquabides).

Cara kerja pemeriksaan limfosit-T CD4$^+$ adalah dengan menambahkan 20 μL reagen BD *Tritest* CD3/CD4/CD45 ke dalam tabung BD TruCOUNT beserta 50 μL *whole blood* + K_3EDTA. Campuran tersebut dicampur dengan pengaduk vorteks (*vortex mixer*), inkubasi 15 menit pada suhu kamar, di ruang gelap. Pada tahap berikutnya dilakukan penambahan 450μL larutan pelarut (*lysing solution*), lalu dicampur dengan *vortex mixer*, inkubasi 15 menit pada suhu kamar, di ruang gelap. Setelah proses inkubasi selesai, dibaca dengan *cytometer* FASCalibur. Nilai normal limfosit-T CD4$^+$ mutlak berkisar antara 600–1200 sel/μL. Nilai normal limfosit- T CD4$^+$ dengan persentase > 40%.

Pemeriksaan IL-10 plasma

Cara yang dipakai untuk pemeriksaan IL-10 adalah *Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA)*. Asas pemeriksaan, IL-10 yang terkandung dalam plasma akan terikat di *anti-human IL-10 monoclonal antibody* yang telah dilapisi pada tahap padat (dalam sumuran). Sumuran kemudian dicuci dan *biotinylated*

anti-human IL-10 antibody dituangkan. Sumuran kembali dicuci untuk membuang *biotinylated antibody* yang tidak terikat. Konjugat *sterptavidin-horseradish peroxidase* (HRP) kemudian ditambahkan. Sumuran kembali dicuci dan ditambahkan larutan dasar *3,3',5,5'-tetramethylbenzidine* (TMB), yang menghasilkan warna biru yang sebanding dengan kadar IL-10 dalam plasma. Larutan penghenti (*stop solution*) mengubah warna biru jadi kuning, dan kekuatan warna diukur dengan panjang gelombang 450 nm. Reagensia yang dipakai adalah *RayBio® human IL-10 ELISA kit.*[12]

Sampel untuk pemeriksaan terdiri dari 6 mL darah vena dalam tabung *lithium heparin*. Sampel darah dalam tabung heparin segera dipusingkan dengan kecepatan 3.000 rpm selama 5 menit, kemudian plasma dimasukkan ke dalam beberapa tabung pipa krio/*cryo tube* (volume 1,8 mL). Setelah diberi tanda (nama penderita, tanggal pengambilan sampel) segera dimasukkan ke dalam *freezer* untuk disimpan pada suhu –70° C sampai diperiksa.

Penyimpanan sampel pada suhu –70° C dilakukan di Balai Besar Laboratorium Kesehatan (BBLK) Surabaya, sedangkan pemeriksaan kadar IL-10 plasma dilakukan di laboratorium Patologi Klinik FK UNAIR/ RSUD Dr. Soetomo Surabaya.

Lama waktu penelitian mulai dari persiapan hingga penyusunan laporan adalah delapan bulan mulai Oktober 2008 hingga Juni 2009.

Uji statistik yang digunakan dalam penelitian ini adalah Uji kenasaban Pearson (*Pearson Product Moment Correlation*), yaitu untuk menentukan kenasaban antara dua variabel. Dalam hal ini untuk melihat kenasaban antara kadar IL-10 plasma dengan jumlah limfosit-T $CD4^+$ penderita terinfeksi HIV tanpa gejala.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ciri subjek penelitian

Dari 41 pasien yang terinfeksi HIV dan telah memenuhi patokan penerimaan dan penolakan sampel, didapatkan data tercantum di tabel 1.

Hasil periksaan kadar IL-10 baku

Sebelum sampel penelitian diuji Elisa, terlebih dahulu dibuat lengkungan baku. Dengan kepekatan awal larutan baku yang telah diketahui diuji Elisa, sehingga diketahui serapan masuk baku. Larutan baku persediaan yang dipakai untuk pengenceran berderet hingga didapatkan larutan baku dengan kadar IL-10 yaitu 40 pg/mL, 20 pg/mL, 10 pg/mL, 5 pg/mL, 2,5 pg/mL, 1,25 pg/mL, 0,625 pg/mL dan 0 pg/mL. Larutan pengencer A dipakai sebagai baku nihil (0 pg/mL). Pembacaan hasil dilakukan dengan *Elisa reader* gelombang 450 nm, sehingga didapatkan hasil berupa nilai serapan masuk (kepadatan optik/ *optical density/*OD 450 nm). Tabel 2 menyajikan data hasil serapan masuk baku IL-10. Penentuan kepekatan IL-10 dapat dihitung dengan menggunakan bantuan lengkungan baku (gambar 1). Nilai serapan masuk diperoleh ditarik garis mendatar, sehingga memotong lengkungan, kemudian ditarik garis tegak ke bawah (arah axis X), sehingga diperoleh kepekatan IL-10.

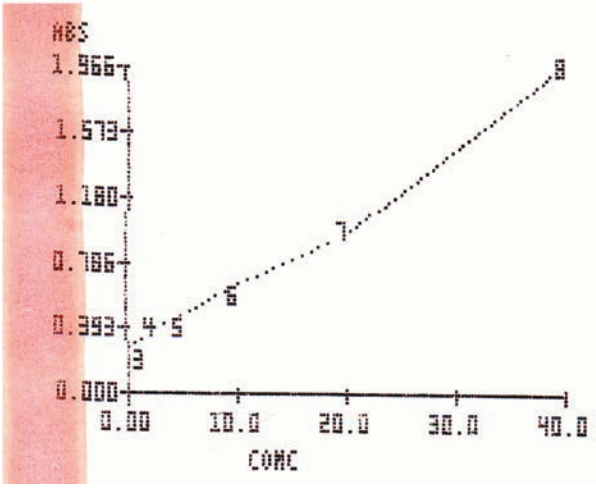
Tabel 1. Ciri penderita terinfeksi HIV

Jenis Kelamin	Laki-laki	21 (51,2%)
	Perempuan	20 (48,8%)
Orientasi Seks	Heteroseksual (berhubungan beda jenis kelamin)	35 (85,4%)
	Homoseksual (berhubungan sama jenis kelamin)	6 (14,6%)
	Rerata	32 tahun
Umur	SD	7,2 tahun
	Rentang	21–54 tahun
	Swasta	22 (53,7%)
	Ibu Rumah Tangga	11 (26,8%)
	PSK	3 (7,3%)
Pekerjaan	Mahasiswa	1 (2,4%)
	Wiraswasta	1 (2,4%)
	Petani	1 (2,4%)
	Tidak bekerja	2 (4,9%)
	Tertular dari pasangan (suami/istri)	18 (43,9%)
Faktor kebahayaan	Seks Bebas	13 (31,7%)
	Homoseksual	6 (14,6%)
	Pemakai obat dalam vena (*Intravenous Drug User*)	4 (9,8%)
Status Perkawinan	Menikah	26 (63,4%)
	Belum menikah	15 (36,6%)

Penentuan kadar IL-10 plasma juga dapat dihitung secara langsung dengan lengkungan baku dengan *Elisa reader* sesuai dengan besarnya serapan masuk.

Tabel 2. Nilai serapan masuk IL-10 yang diperoleh dengan uji Elisa terhadap berbagai kepekatan baku IL-10

Bakuan	Kepekatan (pg/mL)	Serapan masuk (OD=450)
1	0,00	0,281
2	0,625	0,293
3	1,25	0,302
4	2,50	0,381
5	5,00	0,456
6	10,00	0,648
7	20,00	0,947
8	40,00	1,966



Gambar 1. Lengkungan baku IL-10

Hasil periksaan kadar IL-10 plasma penderita terinfeksi HIV

Kadar IL-10 plasma penderita terinfeksi HIV berkisar antara 3,80 pg/mL dan 44,50 pg/mL dengan rerata 18,09 pg/ml dan SD 8,84 pg/mL.

Hasil periksaan jumlah limfosit-T CD4$^+$ penderita terinfeksi HIV

Jumlah limfosit-T CD4$^+$ mutlak terinfeksi HIV berkisar antara 5 sel/μL dan 846 sel/μL dengan rerata 322,07 sel/μL dan simpangan baku 221,89 sel/μL. Berdasarkan nilai persentase, berkisar antara 0,41% dan 29,48%. Nilai rerata 13,99% dan simpangan baku 7,62%.

Analisis kenasaban hasil periksaan kadar IL-10 plasma dengan jumlah limfosit-T CD4$^+$ penderita terinfeksi HIV

Dari data hasil periksaan kadar IL-10 plasma dan jumlah limfosit-T CD4$^+$ dianalisis statistik menggunakan Uji kenasaban Pearson (*Pearson Product Moment Correlation*) untuk menentukan nasab antara kadar IL-10 plasma dan jumlah limfosit-T CD4$^+$ pasien terinfeksi HIV.

Hasil analisis menunjukkan kenasaban negatif yang berarti ($p < 0,05$) antara kadar IL-10 plasma dan jumlah limfosit-T CD4$^+$ pasien terinfeksi HIV. Pada penurunan jumlah limfosit-T CD4$^+$ dijumpai peningkatan kadar interleukin-10 plasma. Besarnya nilai r untuk kenasaban antara kadar IL-10 plasma dan jumlah limfosit-T CD4$^+$ mutlak adalah –0,652, sedangkan nilai r untuk kenasaban antara kadar IL-10 plasma dan jumlah persentase limfosit-T CD4$^+$ adalah –0,683. Hal ini menunjukkan tingkat kenasaban yang kuat antara kadar interleukin-10 plasma dan jumlah limfosit-T CD4$^+$ mutlak maupun dengan limfosit-T CD4$^+$ persentase.

Penjaminan mutu dan kesahihan sampel

Penjaminan mutu hasil periksaan kadar IL-10 dalam penelitian ini telah dilakukan dengan menghitung ketidak-cermatan saat pengerjaan (*within run*) dan ketidak-cermatan di antara pengerjaan (*between run*). Pada ketidak-cermatan saat pengerjaan 10 sampel didapatkan nilai SD sebesar 0,48 pg/mL dan CV sebesar 4,8%. Ketidakcermatan di antara pengerjaan pada pemeriksaan empat sampel plasma yang berbeda didapatkan SD 0,52 pg/mL dan CV 4,6%. Besarnya CV yang disarankan untuk diteliti adalah < 5%. Dalam penelitian ini nilai CV < 5%. Hal ini menunjukkan bahwa mutu hasil periksaan kadar IL-10 cukup baik.

Penjaminan mutu terhadap hasil periksaan jumlah limfosit-T CD4$^+$ dalam penelitian ini memang masih memiliki keterbatasan, karena belum dapat dilakukan setiap hari. Meskipun demikian, penjaminan mutu melalui pengawasan mutu luar (*external quality control*) telah dilakukan secara seksama setiap dua bulan dan untuk sehari-hari, yaitu apabila ditemukan hasil yang meragukan. Hal tersebut selalu diperbandingkan dengan hasil periksaan di orang yang tidak terjangkiti/tertulari penyakit. Upaya tersebut diperkirakan cukup membantu dalam upaya meningkatkan mutu hasil periksaan jumlah limfosit-T CD4$^+$.

Pada penelitian ini kelompok pasien terinfeksi HIV hanya terbatas bagi mengidap penyakit tahap I dan secara klinis belum mengalami keluhan. Pilihan tersebut diharapkan dapat mengurangi bias yang terjadi dan terkait hasil periksaan kadar -IL 10 plasma maupun yang berhubungan dengan jumlah limfosit-T CD4$^+$. Hal tersebut juga mengingat pada tahap yang lebih lanjut yaitu sudah terjadi infeksi oportunistik. Kelompok pasien juga belum pernah mendapatkan pengobatan baik dengan ARV maupun kortikosteroid atau imunosupresan. Pemberian ARV dan kortikosteriod dapat menekan

pembuatan IL-10, sehingga dapat menurunkan kadar IL-10 dan menyebabkan hasil periksaan IL-10 tidak mencerminkan keadaan yang sesungguhnya.

Imunoasai terhadap sitokin seperti IL-10 dapat dilakukan dengan sampel jaringan setempat (misalnya dari kerokan kulit pasien terinfeksi HIV yang mengalami radang kulit/dermatitis), supernatan biakan PBMC *(peripheral blood mononuclear cell)*, plasma dan serum. Dikatakan bahwa imunoasai sampel jaringan setempat paling baik di antara sampel lainnya. Supernatan biakan PBMC terbaik kedua diikuti sampel plasma dan terakhir adalah serum Di pasien yang terinfeksi HIV, pengambilan sampel jaringan serta penanganan sampel mengalami kesulitan. Jaringan setempat yang akan diambil umumnya disebabkan oleh infeksi lain di samping HIV atau berupa infeksi oportunistik. Kesulitan lain adalah HIV sangat menular, belum dapat disembuhkan. Semua peralatan yang digunakan untuk penanganan sampel harus sekali pakai. Sampel serum memiliki banyak kelemahan, antara lain: waktu paruhnya sangat pendek, leukosit yang tergiatkan selama pembekuan darah dapat menghasilkan sitokin serta keberadaan protease dalam serum yang dapat mengganggu pemeriksaan. Plasma dikatakan lebih baik daripada serum, tetapi harus dikerjakan dengan cepat dan segera disimpan beku. Sampel supernatan biakan PBMC dapat menghindari kelemahan sampel serum dan plasma di atas, juga memberikan ukuran yang lebih tepat kemampuan sel untuk menghasilkan sitokin serta dapat mengukur beberapa jenis sitokin, tetapi kelemahan memakai PBMC adalah memerlukan waktu yang cukup lama.[13]

Pada penelitian ini digunakan sampel plasma heparin yang telah dikerjakan dengan cepat untuk mengatasi kelemahan sampel plasma pada pemeriksaan sitokin. Yaitu setelah pengambilan, sampel darah heparin segera dipusingkan untuk mendapatkan plasma dan disimpan pada suhu –70° C.

Penelitian ini masih merupakan awal untuk mengetahui peran IL-10 dalam hubungannya dengan kegiatan penyakit HIV dengan jumlah pasien terinfeksi HIV tahap tanpa gejala yang terbatas di Unit Rawat Jalan UPIPI RSUD Dr. Soetomo Surabaya. Untuk mengetahui profil sitokin IL-10 yang lebih mendekati keadaan yang sesungguhnya, perlu diteliti dalam percobaan (in vitro) melalui pemeriksaan sitokin jaringan setempat atau biakan PBMC. Namun demikian, penelitian ini cukup bermanfaat memberikan penjelasan tentang IL-10 plasma pasien terinfeksi HIV. Kelebihan lainnya, pengukuran kadar IL-10 plasma lebih mudah dan lebih nyaman bila dibandingkan dengan memakai sampel jaringan setempat maupun supernatan biakan PBMC.

Kesahihan cara memeriksa kadar IL-10 plasma dan jumlah limfosit-T CD4$^+$ yang dipakai dalam penelitian ini

Pada penelitian ini, kadar IL-10 plasma diukur dengan metode ELISA, selain itu, kadar sitokin dapat diukur dengan metode *Radioimmunoassay* (RIA) dan *Bioassay*. Pengukuran sitokin dengan metode ELISA memiliki beberapa keuntungan. Kekhasan metode ELISA lebih tinggi, reagen tersedia dalam bentuk kit dan hasil periksaan diperoleh dalam beberapa jam, sehingga metode ELISA lebih disukai. Kelemahan metode ELISA adalah kurang peka dibandingkan dengan metode *Bioassay*, tetapi yang terakhir ini kurang khas karena hanya dapat melacak kadar IL-10 yang aktif saja. Metode RIA mulai ditinggalkan, karena memerlukan zat radioaktif dan berkebahayaan terpajan penyinaran.[13]

Reagen yang digunakan dalam penelitian ini adalah kit buatan RayBiotech (*RayBio® human IL-10 ELISA kit*) dengan asas pemeriksaan *double antibody sandwich streptavidine biotin test* yang mampu menemukan kadar IL-10 kurang dari 1 pg/mL. Penggunaan *double antibody* dapat menjamin keandalan kepekaan hasil periksaan dan penggunaan *anti-human IL-10 monoclonal antibody*) dapat menjamin keandalan kekhasan hasil periksaan kadar IL-10.

Pemeriksaan jumlah limfosit-T CD4$^+$ dalam penelitian ini dilakukan dengan metode *flowcytometry.* Sebelum ada *flowcytometry,* pemeriksaan bawah himpunan (*subset*) limfosit dilakukan dengan cara manual, memisahkan limfosit dengan fikol dan beberapa tahap pemusingan. Dengan menggunakan antibodi monoklon limfosit CD4$^+$ terhadap limfosit, dan ditandai dengan *fluorochrom*, maka dengan menggunakan mikroskop fluorosens, dapat dihitung persentase limfosit T CD4$^+$. Oleh karena cara mengerjakan yang cukup rumit, tingkat kesalahan menjadi tinggi, yaitu sering didapatkan hitungan limfosit CD4$^+$ rendah palsu.

Perkembangan teknologi mutakhir telah memungkinkan pengenalan sel dengan menggunakan alat otomatis yang disebut *flowcytometry* dan pemilahan sel (*cell sorting*) (*Fluoroscense Activated Cell Sorter, FACS*). Yaitu gabungan kemampuan alat untuk mengenali ciri permukaan setiap sel dengan kemampuan memisahkan sel yang berada dalam ampaian (suspensi) tertentu menurut ciri masing-masing secara otomatis melalui celah tertentu yang dilewati sinar laser. Setiap sel yang melewati berkas sinar laser mengeluarkan isyarat elektronik yang dicatat oleh alat sebagai ciri sel bersangkutan. Setiap ciri molekul baik di permukaan sel maupun yang terdapat di dalam sel dapat dikenali dengan

menggunakan satu atau lebih penduga yang sesuai. Dengan demikian alat itu dapat mengenali setiap jenis dan kegiatan sel serta menghitung jumlah masing-masing dalam jumlah campuran tertentu. Di samping ketepatannya lebih tinggi, tehnik pemeriksaan metode *flowcytometry* lebih mudah, sehingga tingkat kesalahan lebih rendah dibandingkan dengan metode manual.[6]

Ciri subjek penelitian

Perbandingan antara sampel laki-laki dan perempuan pada penelitian ini hampir sama dan sebagian besar sampel adalah heteroseksual. Enam orang sampel adalah homoseksual yang berasal dari golongan waria dan semuanya digolongkan sebagai sampel laki-laki. Semua sampel masuk dalam usia masa subur dengan rentang usia terbanyak 20–40 tahun. Kurang dari 15% sampel berusia 40–50 tahun dan hanya satu orang yang berusia di atas 50 tahun (laki-laki, 54 tahun). Hal ini menunjukkan bahwa infeksi HIV cenderung terjadi pada usia muda (usia masa subur) karena usia muda lebih berpeluang untuk memiliki faktor kebahayaan yang berhubungan dengan penularan HIV. Lebih dari 50% sampel berstatus sudah menikah dan bekerja di sektor swasta.

Faktor kebahayaan terbanyak yang menyebabkan terjadinya infeksi HIV di sampel karena tertular dari pasangan masing-masing (suami/istri). Kebahayaan penularan terendah adalah melalui pengguna *intravenous drug user* (IDU). Keadaan ini terjadi karena sebagian besar sampel adalah para suami/istri yang sedang menunggu pasangannya dirawat di ruang UPIPI. Semua suami/istri penderita HIV & AIDS yang dirawat di ruang UPIPI menjalani penasehatan untuk pemeriksaan HIV. Apabila telah memenuhi patokan kesertaan dan bukan kesertaan maka diikutkan dalam penelitian ini. Sedikitnya jumlah sampel dengan faktor kebahayaan penggunaan IDU kemungkinan disebabkan karena terbatasnya tempat pengambilan sampel dan umumnya penderita dengan faktor kebahayaan pengguna IDU lebih tertutup terhadap status infeksi HIV yang sedang dideritanya.

Kadar L-10 plasma pasien terinfeksi HIV

Kadar IL-10 plasma pada penderita terinfeksi HIV yang ditemukan pada penelitian ini mengalami peningkatan dengan nilai rerata 18,09 pg/mL. Seratus persen sampel memiliki kadar IL-10 plasma di atas 3,2 pg/mL. Kadar IL-10 plasma terendah pada penelitian ini adalah 3,8 pg/mL dan kadar tertinggi adalah 44,5 pg/mL.

Pada penelitian yang dilakukan oleh Stylianou *et al.*,[7] yang membandingkan kadar IL-10 penderita terinfeksi HIV dengan pengawasan tidak berpenyakit didapatkan bahwa kadar IL-10 orang tidak berpenyakit adalah 1,0–3,2 pg/mL, sedangkan kadar IL-10 penderita terinfeksi HIV adalah 4,31–10,43 pg/mL. Antara kadar IL-10 penderita terinfeksi HIV dan pengawasan tidak berpenyakit dijumpai perbedaan yang berarti.

Sejumlah kecil sampel dengan kadar IL-10 ditemukan cukup rendah, tetapi masih di atas rentang kadar orang tidak berpenyakit pada penelitian sebelumnya. Hal itu kemungkinan karena infeksi baru terjadi dan keseimbangan tanggap imun masih terjaga. Belum terjadi dominasi tanggap imun Th2, dan tanggap imun Th1 masih mampu mengimbangi tanggap Th2, sehingga hasilan sitokin Th2 yang salah satunya IL-10 belum begitu tinggi. Kadar IL-10 plasma yang tinggi di sebagian besar sampel kemungkinan disebabkan oleh telah terjadi dominasi tanggap Th2 yang menekan kegiatan Th1 sehingga hasilan IL-10 terus meningkat. Adanya perbedaan kadar IL-10 yang ditemukan pada penelitian ini dan kadar IL-10 pada penelitian sebelumnya, kemungkinan disebabkan oleh perbedaan jenis sampel yang digunakan. Pada penelitian ini digunakan sampel plasma, sedangkan pada penelitian sebelumnya digunakan sampel serum.

Berdasarkan sejumlah kepustakaan yang mengemukakan berlanjutnya infeksi HIV akan terjadi gangguan keseimbangan tanggap imun. Tanggap imun akan bergeser dari Th1 ke Th2, sehingga akan terjadi dominasi tanggap Th2. Keberadaan dominasi tanggap Th2 akan berpengaruh pola perembihan sitokin. Sejumlah sitokin yang dihasilkan oleh Th1 seperti IL-2, IL-12, INF-γ akan menurun dan sejumlah sitokin yang dihasilkan oleh Th2 seperti IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 akan mengalami peningkatan.[7,14,15]

Pada penelitian ini sampel terbatas adalah pasien yang terinfeksi HIV tahap I. Bukti adanya infeksi HIV berdasarkan hasil uji HIV positif menggunakan tiga cara yang berbeda. Data keadaan klinis pasien hanya berdasarkan anamnesis dan pemeriksaan fisik. Hal ini merupakan salah satu keterbatasan penelitian ini karena data yang diberikan oleh pasien tidak 100% benar dan hasil periksaan yang dilakukan tidak ditunjang oleh pemeriksaan lain untuk menyingkirkan tafsiran adanya infeksi lain di samping HIV. Misalnya pemeriksaan anti HCV, HbsAg, yang mungkin juga diderita oleh pasien mengingat penularan penyakit tersebut hampir sama. Hal tersebut sedikitnya berpengaruh terhadap kadar IL-10 yang didapat pada penelitian ini. Keterbatasan lainnya ialah pada penelitian ini hanya mengukur salah satu sitokin dari Th2, sehingga tidak dapat dibandingkan dengan tanggap sitokin Th1 untuk melihat gangguan tanggap imun yang terjadi.

Jumlah limfosit-T CD4$^+$ pasien terinfeksi HIV

Berdasarkan jumlah limfosit-T CD4$^+$ mutlak, hampir semua sampel memiliki jumlah limfosit-T

CD4$^+$ lebih rendah daripada nilai normal (nilai normal jumlah limfosit-T CD4$^+$ mutlak > 600 sel/μL). Sebanyak 14,6% dijumpai memiliki jumlah limfosit-T CD4$^+$ mutlak di atas 600 sel/μL, 26,8% dengan jumlah limfosit-T CD4$^+$ mutlak 350-600 sel/μL, 24,4% dengan jumlah limfosit-T CD4$^+$ mutlak 200–350 sel/μL dan 34,1% dengan jumlah limfosit-T CD4$^+$ mutlak kurang dari 200 sel/μL. Berdasarkan limfosit-T CD4$^+$ persentase, seluruh sampel memiliki limfosit-T CD4$^+$ persentase yang lebih rendah daripada keadaan nilai normal (nilai normal limfosit-T CD4$^+$ persentase > 40%). Sebanyak 51,2% sampel memiliki limfosit-T CD4$^+$ persentase < 14%, 41,5% dengan limfosit-T CD4$^+$ persentase 14–28% dan hanya 7,3% memiliki limfosit-T CD4$^+$ persentase > 28%.

Di infeksi *human immunodeficiency virus* (HIV), cenderung menyerang Limfosit T-*helper* karena di permukaan limfosit T-helper terdapat penerima CD4 yang merupakan pasangan ideal gp120 permukaan (*surface glycoprotein 120*) di permukaan luar HIV (*enveloped*). Di samping itu limfosit T-*helper* juga memiliki dua penerima pembantu/*coreseptor* (CCR5 dan CXCR4) yang membantu memasukkan virus ke dalam monosit/makrofag.[16,17] Penurunan jumlah limfosit-T CD4$^+$ selain dipengaruhi oleh faktor hayati juga dipengaruhi oleh faktor sosial kejiwaan dan penurunan tersebut dapat berlangsung melalui beberapa mekanisme. Salah satu mekanisme penurunan jumlah limfosit-T CD4$^+$ adalah melalui proses kematian sel yang terprogram apoptosis. Pengikatan antara gp120 di regio V3 dengan penerima limfosit-T CD4$^+$ merupakan isyarat pertama untuk menyampaikan pesan kematian sel melalui apoptosis.[18]

Meskipun sampel adalah pasien tahap I, hasil periksaan jumlah limfosit-T CD4$^+$ yang didapatkan pada penelitian ini sangat beragam dan sebagian besar sampel memiliki jumlah limfosit-T CD4$^+$ mutlak kurang dari 200 sel/μL dan jumlah limfosit-T CD4$^+$ persentase < 14%. Keadaan tersebut dapat dikaitkan dengan banyaknya faktor yang berpengaruh terhadap hitungan jumlah limfosit-T CD4$^+$. Salah satu faktor yang mungkin paling berpengaruh dalam penelitian ini adalah faktor stres. Pasien yang baru saja terdiagnosis menderita HIV umumnya mengalami stres yang sangat berat. Munculnya stres akut akan meningkatkan mRNA CRF, disusul meningkatnya kadar CRF nukleus dekat bilik jantung (paraventrikel). CRF kemudian bergerak menelusuri akson ke bagian tengah hipotalamus dan akhirnya CRF dilepaskan di ujung pembuluh darah kapiler dalam pleksus venosus hipofisialportal yang merupakan muara kelenjar hipofisis anterior. CRF kemudian menggiatkan penerima sel basofil di hipofisis anterior, dan mengimbas poliprotein *proopiomelanocortin* (POMC) yang pascatranslasi menghasilkan ACTH, α, β, γ *melanosit stimulating hormone* (MSH), dan β endorfin. ACTH merangsang spongiosa di fasikulata korteks adrenal untuk menghasilkan kortikosteroid sebagai hormon stres. Kortikosteroid yang meningkat selama stres berlangsung mempunyai imunosupresif di sistem limforetikuler menekan fungsi dan jumlah limfosit, sehingga pada akhirnya menurunkan jumlah limfosit-T CD4$^+$.[19] Faktor berikutnya yang diduga juga berperan terhadap rendahnya hasil periksaan jumlah limfosit-T CD4$^+$ di sebagian besar sampel adalah faktor kelelahan dan kekerapan kegiatan fisik. Sebagian besar sampel adalah penunggu penderita yang di rawat di ruang UPIPI dengan waktu istirahat yang sangat terbatas.

Beberapa orang sampel terdapat jumlah limfosit-T CD4$^+$ mutlak > 600 sel/μL yang dimungkinkan karena proses infeksi masih tahap awal dan penderita masih memiliki status imun yang baik. Beberapa dari mereka telah terdiagnosis menderita infeksi HIV beberapa minggu sebelum pemeriksaan jumlah limfosit-T CD4$^+$ dilakukan, sehingga faktor stres yang dialami sudah berkurang dan mereka lebih siap menjalani pemeriksaan.

Penghitungan jumlah limfosit-T CD4$^+$ dengan metode *flowcytometry* mampu memeriksa jumlah limfosit-T CD4$^+$ mutlak dan limfosit-T CD4$^+$ persentase. Jumlah limfosit-T CD4$^+$ mutlak menunjukkan jumlah limfosit-T CD4$^+$ yang berfungsi dan beredar dalam darah, sedangkan limfosit-T CD4$^+$ persentase adalah besaran terhadap jumlah limfosit jumlah keseluruhan. Limfosit-T CD4$^+$ mutlak tidak menggunakan limfosit jumlah keseluruhan dalam menentukan status imun, sedangkan limfosit-T CD4$^+$ persentase menggunakan limfosit jumlah keseluruhan. Terdapat banyak faktor yang berpengaruh terhadap jumlah limfosit-T CD4$^+$, seperti: stres, kekerapan kegiatan fisik, kelelahan dan faktor diurnal. Adanya faktor tersebut dapat menurunkan jumlah limfosit-T CD4$^+$. Sehubungan dengan faktor diurnal, jumlah limfosit-T CD4$^+$ dapat beragam antara siang dan malam.

Hasil telitian menunjukkan bahwa kenasaban negatif antara kadar IL-10 plasma dengan limfosit-T CD4$^+$ persentase hampir sama atau sedikit lebih tinggi dibandingkan dengan kenasaban negatif antara kadar IL-10 plasma dengan jumlah limfosit-T CD4$^+$ mutlak. Hal ini menunjukkan bahwa limfosit-T CD4$^+$ persentase sedikit lebih baik dibandingkan dengan jumlah limfosit-T CD4$^+$ mutlak dalam menentukan tingkat keparahan penyakit. Kemampuan jumlah limfosit-T CD4$^+$ mutlak dan limfosit-T CD4$^+$ persentase dalam menentukan status imun dan tingkat keparahan penyakit infeksi HIV masih dalam perbantahan.

Gebo *et al.*[20] membandingkan peranan jumlah limfosit-T CD4$^+$ mutlak dan limfosit-T CD4$^+$ persentase untuk meramalkan kebahayaan terjadinya infeksi oportunistik di infeksi HIV. Dalam penelitian

tersebut dinyatakan bahwa jumlah limfosit-T CD4$^+$ mutlak lebih penting dalam menentukan status imun dan menentukan keputusan pengobatan dibandingkan dengan limfosit-T CD4$^+$ persentase.

Pirzada *et al.*[21] meneliti untuk meramalkan terjadinya AIDS menggunakan jumlah limfosit-T CD4$^+$ mutlak dan limfosit-T CD4$^+$ persentase. Hasil telitian tersebut menunjukkan bahwa limfosit-T CD4$^+$ persentase lebih baik atau hampir sama dengan jumlah limfosit-T CD4$^+$ mutlak untuk meramalkan kejadian infeksi oportunistik yang berkaitan dengan AIDS. Jumlah limfosit-T CD4$^+$ mutlak merupakan peramal terbaik, tetapi limfosit-T CD4$^+$ persentase masih merupakan peramal yang teliti. Pada penelitian tersebut juga dinyatakan bahwa angka banding persentase CD4/CD8 kurang baik untuk meramalkan munculnya infeksi oportunistik dibandingkan dengan limfosit-T CD4$^+$ persentase dan jumlah limfosit-T CD4$^+$ mutlak.[21] Pemeriksaan sel T CD8 tidak begitu berarti dibandingkan dengan pemeriksaan jumlah limfosit-T CD4$^+$, karena sel T CD8 akan tetap mengalami peningkatan selama beberapa tahun setelah infeksi. Dan pada stadium imunodefisiensi berat (jumlah limfosit-T CD4$^+$ $<$ 200 sel/μL) sel T CD8 akan ikut mengalami penurunan, sehingga angka banding CD4/CD8 tidak cermat lagi. Penjelasan terakhir dari *Journal of Infectious Diseases* (Februari 2007) menyebutkan bahwa limfosit-T CD4$^+$ persentase lebih baik dalam meramalkan tingkat keparahan penyakit dibandingkan dengan jumlah limfosit-T CD4$^+$ mutlak.

Kenasaban antara kadar IL-10 plasma dan jumlah limfosit-T CD4$^+$ penderita terinfeksi HIV

Hasil telitian menunjukkan adanya kenasaban negatif yang berarti antara kadar IL-10 plasma dengan jumlah limfosit-T CD4$^+$ penderita terinfeksi HIV dengan nilai r untuk kenasaban antara kadar IL-10 plasma dan jumlah limfosit-T CD4$^+$ mutlak adalah –0,652, sedangkan nilai r untuk kenasaban antara kadar IL-10 plasma dan limfosit-T CD4$^+$ persentase adalah –0,683. Hal tersebut menunjukkan tingkat kenasaban yang kuat antara kadar interleukin-10 plasma dan jumlah limfosit-T CD4$^+$ mutlak maupun dengan limfosit-T CD4$^+$ persentase.

Hasil telitian ini sesuai dengan yang dilakukan oleh Stylianou *et al.*,[7] yang meneliti sampel serum. Stylianou menyatakan bahwa penderita yang terinfeksi HIV memiliki kadar IL-10 lebih tinggi dibandingkan dengan pembanding yang tidak berpenyakit dan terdapat kenasaban negatif antara kadar IL-10 dengan jumlah limfosit-T CD4$^+$. Stylianou juga menemukan adanya kenasaban positif antara kadar IL-10 dengan jumlah salinan HIV-RNA yang terdapat dalam plasma. Di penderita yang mendapat pengobatan anti retrovirus aktif tinggi/ *high active anti-retroviral therapy* (HAART) ternyata dijumpai penurunan kadar IL-10 selama enam bulan pengobatan yang diikuti oleh peningkatan jumlah limfosit-T CD4$^+$ dan penurunan jumlah salinan HIV-RNA.

Hasil telitian Elrefaei *et al.*[15] dari terhadap sejumlah penderita terinfeksi HIV didapatkan peningkatan hasilan IL-10 pada peningkatan keparahan penyakit dan peningkatan replikasi HIV. Di penderita terinfeksi HIV dengan jumlah limfosit-T CD4$^+$ kurang dari 200 sel/μL didapatkan kadar IL-10 yang lebih tinggi dibandingkan dengan penderita yang memiliki jumlah limfosit-T CD4$^+$ di atas 200 sel/μL. Di penderita yang mendapat pengobatan ARV dijumpai penurunan kadar IL-10 secara berarti dibandingkan dengan penderita yang tidak mendapat pengobatan ARV. Peningkatan kadar IL-10 dinyatakan bernasab positif dengan jumlah HIV-RNA plasma dan terdapat kenasaban negatif antara jumlah limfosit-T CD4$^+$ dengan muatan virus (*viral load*).

Di infeksi HIV, tanggap imun yang semula berada dalam keadaan seimbang antara Th1 dan Th2 akan mengalami pergeseran dengan berlanjutnya infeksi. Tanggap imun akan terganggu dan bergeser ke Th2. Pergeseran tersebut menyebabkan pembedaan sel Th2 meningkat menekan kegiatan Th1. Sejumlah sitokin yang dihasilkan Th1 seperti: IL-2, IL-12, INF-γ akan menurun dan sejumlah sitokin yang dihasilkan Th2 seperti: IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 akan meningkat. Sitokin yang berasal dari Th1 bersifat menekan proses apoptosis limfosit-T CD4$^+$, sedangkan sitokin yang berasal dari Th2 bersifat proapoptosis atau memacu terjadinya proses apoptosis limfosit-T CD4$^+$. Tanggap Th 2 yang kuat akan meningkatkan kadar IL-10 yang bersifat proapoptosis terhadap limfosit-T CD4$^+$, sehingga pada peningkatan kadar IL-10 akan diikuti oleh penurunan jumlah limfosit-T CD4$^+$. Peningkatan kadar IL-10 plasma dan penurunan jumlah limfosit-T CD4$^+$ ini sejalan dengan peningkatan keparahan penyakit.[8–11]

Di samping penurunan jumlah limfosit-T CD4$^+$, pada peningkatan keparahan penyakit juga terjadi peningkatan kadar IL-10. Pada penelitian ini telah ditemukan bahwa antara kedua variabel tersebut memiliki kenasaban negatif yang berarti. Hal ini dapat bermanfaat sebagai salah satu pertimbangan baik oleh peklinik maupun oleh laboratorium yang belum memiliki sarana *flowcytometry* untuk memeriksa IL-10 sebagai pemeriksaan pengganti bila pemeriksaan jumlah limfosit-T CD4$^+$ tidak dapat dilakukan. Dalam keadaan tertentu yang meyebabkan hasil periksaan jumlah limfosit-T CD4$^+$ meragukan, maka pemeriksaan IL-10 dapat dipertimbangkan sebagai pemeriksaan tambahan guna lebih meyakinkan peklinik dalam menatalaksana penderita.

Dari hasil telitian ini juga diharapkan dapat bermanfaat bagi penderita yang sedang menjalani

pengobatan. Penderita yang menjalani pengobatan ARV umumnya akan mengalami peningkatan jumlah limfosit-T CD4$^+$ dan peningkatan tersebut kemungkinan akan diikuti oleh penurunan kadar IL-10. Stylianou *et al.* dan Elrefaei *et al.*[7,15] menyatakan bahwa kadar IL-10 menurun secara berarti setelah pemberian ARV, sehingga diperkirakan bahwa terdapat kemungkinan IL-10 dapat berperan sebagai petanda darah (*blood marker*) dalam pemantauan tanggap terhadap ARV terutama di penderita terinfeksi HIV dengan jumlah limfosit-T CD4$^+$ yang rendah atau jumlah salinan HIV-RNA yang tinggi.

SIMPULAN

Dalam telitian ini penderita terinfeksi HIV, dijumpai kadar IL-10 dengan rerata 18,09 pg/mL dan SD 8,84 pg/mL yang meningkat. Peningkatan tersebut kemungkinan disebabkan oleh gangguan tanggap imun yang didominasi oleh tanggap Th2 yang menekan kegiatan Th1, sehingga hasilan sitokin Th2 yang salah satunya adalah IL-10 akan meningkat. Penderita yang terinfeksi HIV, dalam telitian ini ditemukan jumlah limfosit-T CD4$^+$ menurun dengan jumlah rerata 322,07 sel/μL (SD 221,89 sel/μL) untuk jumlah mutlak, dan untuk limfosit-T CD4$^+$ persentase13,99% (SD 7,62%). Penurunan tesebut selain disebabkan oleh faktor sosial kejiwaan dan hayati (melalui mekanisme apoptosis patologis dipercepat), juga dapat disebabkan oleh peningkatan kadar IL-10. Terdapat kenasaban negatif yang berarti antara kadar IL-10 plasma dan jumlah limfosit-T CD4$^+$ di penderita terinfeksi HIV. Peningkatan kadar IL-10 akan diikuti oleh penurunan jumlah limfosit-T CD4$^+$. Pemeriksaan IL-10 dapat digunakan sebagai salah satu pemeriksaan pilihan jika pemeriksaan jumlah limfosit T-CD4$^+$ tidak dapat dilakukan. Selain itu pemeriksaan Il-10 plasma juga dapat digunakan sebagai salah satu pertimbangan dalam penatalaksanaan penderita terinfeksi HIV serta membantu dalam pemantauan pemberian pengobatan anti retrovirus pada penderita HIV dan AIDS.

DAFTAR PUSTAKA

1. Depkes RI. Pedoman Nasional Terapi Antiretroviral. Jakarta, 2007; 1–12.
2. Depkes RI. Pedoman Pelayanan Konseling dan Testing HIV/AIDS Secara Sukarela (Voluntary Counselling and Testing). Jakarta, 2006; 1–4.
3. Nasronudin. Pengaruh HIV terhadap Perubahan Kadar ROS dan Hsp. HIV & AIDS Pendekatan Biologi Molekuler, Klinis, dan Sosial. Surabaya, Airlangga University Press, 2007; 69–89.
4. Gallant JE, Hoffmann C, 2008. CD4 Cell Count. HIV Guide
5. Beverley P, Helbert M. Immunology of AIDS. ABC of AIDS Fifth Edition. London, BMJ Publishing Group, 2001; 12–22.
6. Santosa E. Measurement of CD4 By Flowcytometry in HIV Infection. Pendidikan Berkesinambungan Patologi klinik 2004. Jakarta, Departemen patologi Klinik FK UI. 2004; 89–96.
7. Stylianou E, Aukrust P, Kvale D, Muller F, Froland SS. IL-10 in HIV infection: increasing serum IL-10 levels with disease progression-down-regulatory effect of potent anti-retroviral therapy. Clin Exp Immunol, 1999; 116:115–120.
8. Badley AD, Pilon AA, Landay A, Lynch DH. Mechanisms of HIV-associated Lymphocyte Apoptosis. The American Society of Hematology, Washington DC, bloodjournal.hematologylibrary.org 2000; 96: 2951–2964.
9. Clerici M, Sarin A, Henkartz PA, Shearer GM. Apoptotic Cell Death and Cytokine Dysregulation in Human Immunodeficiency Virus Infection: Pivotal Factors in Disease Progression. Cell Death and Differentiation. Milano, Italy. Stockton Press 1997; 4: 699–706.
10. Alimonti JB, Ball TB, Fowke KR. Mechanisms of CD4+ T Lymphocyte Cell Death in Human Immunodeficiency Virus Infection and AIDS. Journal of General Virology, 2003; 84: 1649–1661.
11. Perfettini JL, Castedo M, Roumien T, Andreau K, Nardacci R, Piacentini M, Kroemer G. Mechanism of Apoptosis Induction by the HIV-1 Envelope. Cell Death and Differentiation. France, Nature Publishing Group, 2005; 12: 916–923.
12. RayBiotech. Inc User manual human IL-10 ELISA kit (cat#: ELH-IL-10-001). 2006.
13. Handojo I. Pengantar Imunoasai dasar. Surabaya, Airlangga University Press, 2003; 11–21.
14. Jiaxiang Ji, Sahu GK, Braciale VL, Cloyd MW. HIV-1 induces IL-10 production in human monocyte via a CD4-independent pathway. International Immunology, 2005; 17(6):729–736.
15. Elrefaei M, Barugahare B, Ssali F, Mugyenyi P, Cao H. HIV-Specific IL-10-Positive CD8$^+$ T Cells Are Increased in Advanced Disease and Are Associated with Decreased HIV-Specific Cytolysis. The Journal of Immunology, 2006; 176:1274-1280
16. Zerhouni B, Nelson JA, Saha K. Isolation of CD4-Independent Primary Human Immunodeficiency Virus Type 1 Isolates That Are Syncytium Inducing and Acutely Cytopathic for CD8$^+$ Lymphocytes. J Virol, 2004; 78(3):1243–1255.
17. Nasronudin. Patofisiologi Infeksi HIV. HIV & AIDS Pendekatan Biologi Molekuler, Klinis, dan Sosial. Surabaya, Airlangga University Press, 2007; 19–24.
18. Nasronudin. Apoptosis dan Nekrosis. HIV & AIDS Pendekatan Biologi Molekuler, Klinis, dan Sosial. Surabaya, Airlangga University Press, 2007; 53–56.
19. Nasronudin.. Intervensi HIV dan Peran Mitokondria. HIV & AIDS Pendekatan Biologi Molekuler, Klinis, dan Sosial. Surabaya, Airlangga University Press, 2007; 45–48.
20. Gebo KA, Gallant JE, Keruly JC, Moore RD, Absolute CD4 Vs. CD4 Percentage for Predicting the Risk of Opportunistic Illness in HIV Infection. JAIDS: Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes. 2004; (5)36.
21. Pirzada Y, Khuder S, Donabedian H. Predicting AIDS-related events using CD4 percentage or CD4 absolute counts. AIDS Research and Therapy, USA. BioMed Central Ltd, 2006; 3:20.