

# PENGARUH SUPLEMENTASI SENG TERHADAP CD 4<sup>+</sup> PENGIDAP HUMAN IMMUNODEFICIENCY VIRUS

## The Effect of Zinc Supplementation on CD 4<sup>+</sup> Human Immunodeficiency Virus Patients

Mohammad Zen Rahfiludin\*<sup>1</sup>, Siti Fatimah Pradigdo<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>Bagian Gizi Kesehatan Masyarakat FKM UNDIP  
JI Prof. Soedarto SH Tembalang Semarang  
\*e-mail: rahfiludin@yahoo.com

Naskah masuk: 27 Juni 2013, naskah direvisi: 2 Desember 2013, naskah disetujui: 10 Desember 2013

### ABSTRACT

*Optimal immune response is needed to viral elimination, but in HIV infection the immune cell is the main target. Zinc has proved to increase immune response to various infection. However, its role in HIV infection has not understood. This study aimed to analyze the effect of zinc supplementation to increase CD4<sup>+</sup> in HIV-infected patients. This was an experimental study with pre test post test with control group design. Twenty HIV-infected persons were divided into 2 groups: control group which received Anti Retroviral Therapy (AZT) and the Zn+ART group received 5 mg zinc/d orally for one month and AZT. Field workers visited patients for checking compliance. Venous blood was taken from all of the subjects, the CD4<sup>+</sup> cell count was measured and daily nutrient intake was analyzed. CD4<sup>+</sup> cell count was determined by flowcytometri method. Daily food intake was determined by two 24 hour recall periods during 2 non consecutive days. Differential test between the two groups was performed using independent t-test or Mann Whitney test, when the distribution was not normal. Analysis of CD4<sup>+</sup> differences before and after treatment in each group by paired t-test. The mean of CD4<sup>+</sup> before zinc supplementation was  $371.3 \pm 126.8$  cell/ $\mu$ L and increase to  $415.2 \pm 194.1$  cell/ $\mu$ L after supplementation. However the increase  $43.9 \pm 83.5$  cell/ $\mu$ L was not significantly different ( $p= 0.131$ ). There was not a significant change CD4<sup>+</sup> ( $p= 0.112$ ) between both groups, possibly because the dose and duration of zinc supplementation. Moreover, only one type of micronutrient given (zinc), also led to an increase CD4<sup>+</sup> in our study did not significantly. Zinc supplementation in complement with AZT therapy was not significantly increase CD4<sup>+</sup> in HIV patients.*

**Keywords:** zinc supplementation, CD4<sup>+</sup>, HIV, AZT.

### ABSTRAK

Respon imun yang optimal diperlukan untuk pemusnahan virus, namun dalam infeksi HIV justru sel sistem imun yang diserang. Seng telah terbukti dapat meningkatkan respon imun terhadap berbagai infeksi, namun belum banyak diketahui perannya terhadap infeksi HIV. Tujuan penelitian untuk menganalisis efek suplementasi seng terhadap CD4<sup>+</sup> pengidap HIV. Penelitian ini merupakan studi eksperimen dengan *pre test post test control group design*. Dua puluh orang pengidap HIV ikut dalam penelitian ini, dibagi menjadi dua kelompok. Sepuluh orang menerima *azidothymidine* (AZT) ditambah suplementasi seng dengan dosis 5 mg seng/hari selama satu bulan, sepuluh orang memperoleh AZT saja. Kepatuhan mengkonsumsi AZT dan suplementasi seng dicatat dan disupervisi oleh petugas lapangan. Semua sampel diambil darah venanya, diperiksa CD4<sup>+</sup> dan dianalisis masukan zat gizi hariannya. Pengukuran CD4<sup>+</sup> dilakukan dengan metode *flowcytometri*. Data asupan makanan harian dikumpulkan dengan metode *recall 2 X 24 jam* tidak berturutan harinya. Uji beda antara kedua kelompok

dilakukan dengan *independent t-test* atau *Mann Whitney test* bila distribusi tidak normal. Analisis perbedaan CD4<sup>+</sup> sebelum dan sesudah perlakuan pada masing-masing kelompok dengan *paired t-test*. Rerata CD4<sup>+</sup> sebelum suplementasi seng  $371,3 \pm 126,8$  sel/ $\mu$ L dan mengalami peningkatan sesudah perlakuan yaitu  $415,2 \pm 194,1$  sel/ $\mu$ L. Peningkatan CD4<sup>+</sup> sebesar  $43,9 \pm 83,5$  sel/ $\mu$ L belum berbeda bermakna ( $p= 0,131$ ). Tidak ada perbedaan perubahan CD4<sup>+</sup> ( $p= 0,112$ ) antara kedua kelompok, kemungkinan karena dosis dan lama suplementasi seng. Selain itu, hanya satu jenis mikronutrien yang diberikan (seng), juga menyebabkan peningkatan kadar CD4<sup>+</sup> pada penelitian ini tidak bermakna pada penderita HIV.

**Kata kunci:** suplementasi seng, CD4<sup>+</sup>, HIV, AZT.

## PENDAHULUAN

*Human Immunodeficiency Virus* (HIV) merupakan retrovirus yang menjangkiti sel-sel sistem kekebalan tubuh manusia (terutama CD4<sup>+</sup> dan makrofag) dan menghancurkan atau mengganggu fungsinya. Infeksi virus ini mengakibatkan terjadinya penurunan sistem kekebalan yang terus-menerus, yang akan mengakibatkan defisiensi kekebalan tubuh. Sistem kekebalan dianggap defisien ketika sistem tersebut tidak dapat lagi menjalankan fungsinya memerangi infeksi dan penyakit-penyakit. Orang yang kekebalan tubuhnya defisien menjadi lebih rentan terhadap berbagai ragam infeksi, yang sebagian besar jarang menjangkiti orang yang tidak mengalami defisiensi kekebalan. Sebagian besar orang yang terkena HIV, bila tidak mendapat pengobatan akan menunjukkan tanda-tanda *Acquired Immuno Deficiency Syndromes* (AIDS) dalam waktu 8-10 tahun.<sup>1</sup>

Sejak pertama ditemukan pada tahun 1981, infeksi HIV telah berkembang menjadi pandemi yang diperkirakan telah menginfeksi lebih dari 65 juta orang di seluruh dunia. Pada akhir 2010 World Health Organization (WHO) memperkirakan prevalensi HIV mencapai 33,3 juta. Infeksi baru HIV masih terus berlanjut di beberapa negara

Eropa dan Asia.<sup>2</sup> Secara global jumlah orang yang hidup dengan HIV berkisar 31,6 - 35,2 juta dengan 2,7 juta di antaranya merupakan infeksi baru.<sup>3</sup> Di Indonesia, berdasarkan data dari Direktorat Jenderal Pemberantasan Penyakit dan Penyehatan Lingkungan Kementerian Kesehatan hingga tahun 2011 tercatat 76.879 kasus HIV/AIDS yang tersebar di hampir seluruh provinsi.<sup>4</sup>

Sekitar 1 dari 3.000 orang yang terinfeksi HIV tidak berkembang menjadi AIDS meskipun tidak mengonsumsi obat *Anti Retroviral Therapy* (ART). Hal ini terkait dengan sistem imun yang dapat mengendalikan replikasi virus.<sup>1</sup> Pemusnahan infeksi virus membutuhkan respon sel T yang optimal. Pada umumnya patogen intra seluler menyebabkan penurunan aktivitas Th1 dan peningkatan aktivitas Th2.<sup>5</sup> Namun pada infeksi HIV, virus yang masuk dalam tubuh dapat merusak sel T CD4<sup>+</sup> dan fungsinya. Sel T CD4<sup>+</sup> merupakan target utama infeksi virus HIV tipe 1 sehingga kadar CD4<sup>+</sup> menjadi indikator berat ringannya infeksi. Selama infeksi terjadi pengurangan jumlah sel T CD4<sup>+</sup> yang meningkatkan kerentanan terhadap infeksi oportunistik.<sup>6</sup> Sebaliknya, interferon gamma dapat mengurangi infeksi oportunistik pada pengidap HIV yang telah mengalami penurunan CD4<sup>+</sup>.<sup>7</sup>

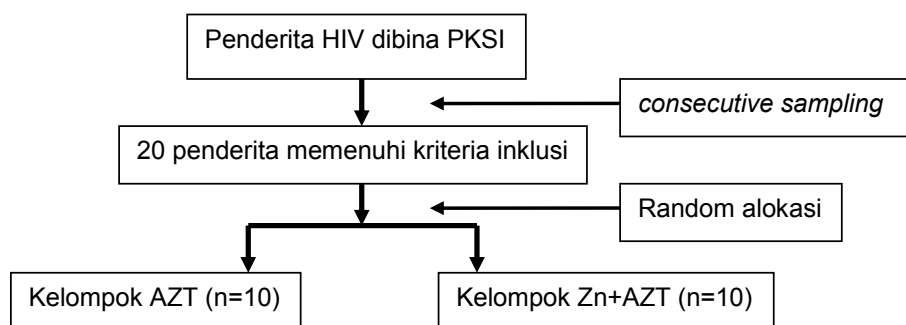
Dengan adanya kemungkinan infeksi oportunistik, seperti yang terjadi pada pengidap HIV/AIDS, kebutuhan gizi makin meningkat. Salah satu mikronutrien yang telah lama dikenal dapat meningkatkan sistem imun adalah seng. Diet rendah protein hewani dan banyak fitat menyebabkan tingginya prevalensi defisiensi seng pada negara berkembang.<sup>8</sup> Asupan seng yang kurang mempunyai efek negatif pada banyak komponen fungsi imunitas tubuh, termasuk kehilangan komponen *innate immunity*, *atropi timus*, *lymphopenia* dan selanjutnya kegagalan pada *cell – mediated immunity*.<sup>9</sup>

Kecukupan seng sangat diperlukan agar sistem imun berfungsi optimal, namun defisiensi seng terjadi pada >50% infeksi HIV.<sup>10</sup> Defisiensi seng dapat mengurangi perkembangan sel T yang pada akhirnya menurunkan imunitas humoral maupun seluler. Selain itu defisiensi seng juga dapat mempengaruhi replikasi HIV di dalam sel.<sup>11</sup> Berdasarkan hal tersebut peneliti bermaksud mengembangkan studi untuk mengetahui pengaruh seng terhadap CD4<sup>+</sup> pengidap HIV.

## METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan rancangan *pre test - post test control group*<sup>12</sup> dilakukan di Semarang pada tahun 2012. Sampel adalah penderita HIV yang dibina oleh lembaga swadaya masyarakat Perkumpulan Keluarga Sehat Indonesia (PKSI) Semarang dan dipilih dengan cara *consecutive sampling*. Variabel independen adalah suplementasi seng dan variabel dependen adalah CD4<sup>+</sup>.

Sampel penelitian adalah 20 penderita HIV, laki-laki maupun perempuan berumur 25-55 tahun, tidak sedang mengkonsumsi suplemen seng dan bersedia menjadi subyek penelitian dengan menandatangani *informed consent*. Sampel kemudian dibagi menjadi dua kelompok secara *random allocation*, yaitu kelompok kontrol menerima *azidothymidine* (AZT) saja dan kelompok Zn+AZT yang menerima AZT ditambah suplementasi seng dengan dosis 5 mg seng/hari selama satu bulan. Masing-masing kelompok terdiri dari 10 orang, berdasarkan rumus perhitungan besar sampel minimal uji hipotesis terhadap rerata dua populasi<sup>13</sup> yaitu,  $n = [(Z_{1-\alpha} + Z_{1-\beta}) \times SB / d]^2$ . Kekuatan penelitian 80% ( $Z_{1-\beta} = 0,842$ ),  $\alpha = 0,05$  ( $Z_{1-\alpha} = 1,96$ ), simpangan baku 154<sup>14</sup> dan selisih rerata kedua kelompok yang bermakna 140.



**Gambar 1.** Bagan Penentuan Sampel Penelitian

Data karakteristik subyek (umur, jenis kelamin, tingkat pendidikan, pekerjaan, status marital dan lama menderita) dikumpulkan melalui wawancara, berat badan dan tinggi badan diperoleh melalui pengukuran. Subyek diambil darahnya sebanyak 5 cc, kemudian diperiksa CD4<sup>+</sup> di laboratorium Prodia, Semarang. Kepatuhan mengkonsumsi AZT dan suplementasi seng dicatat dan disupervisi oleh petugas lapangan khusus. Suplementasi seng dalam bentuk sirup dan dibuat oleh bagian Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, Semarang. Setelah satu bulan pelaksanaan suplementasi, kembali dilakukan pengukuran CD4<sup>+</sup> pada kedua kelompok. Data asupan makanan harian dikumpulkan dengan metode *recall* 2 X 24 jam, untuk mengendalikan konsumsi makanan sumber seng. Pengukuran CD4<sup>+</sup> dilakukan dengan metode *flowcyto-metri*.

Suplementasi seng dilakukan selama satu bulan karena waktu yang diijinkan oleh PKSI sebagai pembina sampel yang diteliti adalah satu bulan. Penelitian sebelumnya tentang suplementasi seng pada penderita HIV dilakukan selama 14 hari dan satu bulan.<sup>15,16</sup> Dosis yang diberikan 5 mg/hari, merupakan saran dari Komisi Etik Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Diponegoro, mengingat peneliti sebelumnya belum tahu berapa rata-rata asupan seng pada penderita dewasa HIV di Kota Semarang, karena dikhawatirkan melebihi angka kecukupan asupan seng yang dianjurkan.

Uji normalitas data dengan uji *Shapiro Wilks*. Perbedaan karakteristik subyek diantara ke dua kelompok diuji dengan *Fisher's Exact* atau *chi square* (untuk data nominal) dan *t test* untuk data umur dan indeks massa tubuh. Analisis perbedaan CD4<sup>+</sup> sebelum dan sesudah perlakuan pada masing-masing kelompok dengan *paired t-test*, untuk melihat perbedaan CD4<sup>+</sup> dan asupan harian antara ke dua kelompok dengan *independent t test*. Tingkat kepercayaan yang digunakan 95%.

Pelaksanaan penelitian dilakukan setelah mendapat pertimbangan dan persetujuan etik (*ethical clearance*) dari Komisi Etik Fakultas Kesehatan Masyarakat. Semua informasi dan data dalam penelitian ini hanya dipakai untuk keperluan ilmiah dan kode serta identitas subyek penelitian dijamin kerahasiaannya.

## HASIL

Jumlah sampel penelitian 20 orang, terbagi rata 5 pria dan 5 perempuan pada masing-masing kelompok. Rerata umur kelompok Zn+AZT adalah 35 tahun sedangkan kelompok AZT 39 tahun. Tidak terdapat perbedaan jenis kelamin, umur, indeks massa tubuh, pekerjaan, lama menderita, tingkat pendidikan dan status marital (Tabel 1) di antara kedua kelompok.

Rerata asupan seng pada kelompok Zn+AZT adalah  $6,58 \pm 2,06$  mg/hari sedangkan pada kelompok AZT adalah  $6,10 \pm 1,21$  mg/hari. Tidak ada perbedaan asupan seng, energi dan protein antara kedua kelompok (Tabel 2).

**Tabel 1.** Karakteristik Sampel Penelitian antara Kedua Kelompok

Variabel	Kelompok		p
	Zn + AZT	AZT	
Jenis kelamin laki-laki	5	5	1,000 <sup>a</sup>
Jenis kelamin perempuan	5	5	
Umur (tahun)	35 (± 6,3)	39 (± 8,1)	0,245 <sup>b</sup>
Indeks Massa Tubuh	23,2 (± 2,88)	23,4 (± 3,10)	0,889 <sup>b</sup>
Bekerja	7	6	1,000 <sup>a</sup>
Tidak bekerja	3	4	
Menderita HIV ≤ 3 tahun	5	6	1,000 <sup>a</sup>
Menderita HIV lebih dari 3 tahun	5	4	
Tingkat pendidikan dasar (9 tahun)	4	5	1,000 <sup>a</sup>
Tingkat pendidikan menengah/tinggi	6	5	
Menikah	5	5	1,000 <sup>c</sup>
Duda/janda	4	4	
Belum menikah	1	1	

Keterangan : a = Fisher's Exact test  
 b = independent t test  
 c = chi square test  
 p-value > 0.05 tidak signifikan

**Tabel 2.** Perbedaan Asupan Harian antara Kedua Kelompok

Asupan zat gizi	Kelompok		p
	Zn + AZT	AZT	
Energi (Kalori)	1856 ± 241	1858 ± 284	0,993 <sup>b</sup>
Protein (gram)	95,5 ± 60,1	79,9 ± 25,9	0,650 <sup>b</sup>
Seng (mg)	6,58 ± 2,06	6,10 ± 1,21	0,702 <sup>b</sup>

Keterangan : b = independent t test

Rerata CD4<sup>+</sup> sebelum perlakuan pada kelompok Zn+AZT adalah 371,3 ± 126,8 sel/μL dan mengalami peningkatan sesudah perlakuan yaitu 415,2 ± 194,1 sel/μL. Peningkatan CD4<sup>+</sup> sebe-

sar 43,9 ± 83,5 sel/μL pada kelompok Zn+AZT belum berbeda bermakna (p= 0,131). Tidak ada perbedaan perubahan CD4<sup>+</sup> (p= 0,112) antara kedua kelompok.

**Tabel 3.** Perbedaan Rerata CD4<sup>+</sup> Awal dan Akhir antara Kedua Kelompok

	CD4 <sup>+</sup> (sel/μL)			p
	Awal	Akhir	Perubahan	
Zn+AZT	371,3 ± 126,8	415,2 ± 194,1	43,9 ± 83,5	0,131 <sup>a</sup>
AZT	396,3 ± 257,9	366,5 ± 207,1	-29,8 ± 94,0	0,343 <sup>a</sup>
p	0,786 <sup>b</sup>	0,594 <sup>b</sup>	0,112 <sup>c</sup>	

Keterangan : a = paired t test  
 b = independent t test  
 c = Mann Whitney test

## PEMBAHASAN

Pemberian AZT ditambah suplementasi seng 5 mg/hari selama satu bulan, mampu meningkatkan CD4<sup>+</sup> sebesar 43,9 sel/ $\mu$ L ( $p=0,131$ ). Hasil ini mendukung beberapa penelitian sebelumnya. Penelitian oleh Mocchegiani menunjukkan suplementasi seng 45 mg/hari mampu meningkatkan CD4<sup>+</sup> yang bermakna dari 80 mm<sup>3</sup> menjadi 121 mm<sup>3</sup> ( $p < 0,01$ ) pada penderita HIV.<sup>17</sup> Penelitian oleh Isa terhadap 11 laki-laki yang menderita AIDS menunjukkan suplementasi seng 0,45 mg/kg/hari juga mampu meningkatkan CD4<sup>+</sup> dari 280 mm<sup>3</sup> menjadi 390 mm<sup>3</sup> ( $p < 0,05$ ).<sup>18</sup>

Suplementasi seng dapat meningkatkan CD4<sup>+</sup> pada penderita HIV karena seng berpengaruh pada transduksi sinyal sel T mulai pada tingkat proksimal (membran sel) hingga ke tingkat distal (transkripsi pada inti sel).<sup>19</sup> Pada tingkat proksimal, hal ini bisa dijelaskan karena seng berpengaruh terhadap *lymphocyte protein tyrosine kinase* (Lck). Pada tahap transduksi sinyal berikutnya, seng berpengaruh pada protein kinase C dan akhirnya seng berpengaruh pada *extracellular regulated kinase*.<sup>20, 21</sup>

Jika transduksi sinyal ini berjalan dengan baik, diharapkan dapat meningkatkan produksi interleukin 2 (IL-2). Suplementasi seng 40 mg/hari selama 90 hari mampu memodulasi sel T dengan mempertahankan kadar IL-2.<sup>19</sup> IL-2 merupakan sitokin yang berperan dalam proliferasi dan diferensiasi sel T efektor dan sel T regulasi. IL-2 dihasilkan oleh sel CD4<sup>+</sup> dan sel CD8<sup>+</sup> dan memiliki kemampuan *autocrine*.<sup>22</sup>

Pada penelitian ini, peningkatan CD4<sup>+</sup> tidak bermakna secara statistik

( $p=0,131$ ) dibandingkan penelitian Mocchegiani dan Isa karena dosis suplementasi seng dan lama suplementasi yang berbeda. Dosis suplementasi seng penelitian kami lebih kecil dibandingkan kedua penelitian tersebut. Seseorang yang terinfeksi HIV kemungkinan membutuhkan zat gizi mikro dengan dosis yang lebih besar karena adanya malabsorpsi dan peningkatan utilisasi.<sup>23</sup> Lama suplementasi seng kami juga lebih singkat yaitu 1 bulan (30 hari), dibandingkan penelitian Mocchegiani selama 120 hari dan penelitian Isa selama 10 minggu.<sup>17,18</sup> Penelitian suplementasi seng selama 14 hari pada orang dewasa Peru, juga menunjukkan median CD4<sup>+</sup> antara kelompok yang diberi seng dan plasebo relatif sama, yaitu 65 pada kelompok seng dan 55 pada kelompok plasebo.<sup>15</sup>

Selain lama dan dosis suplementasi, jenis mikronutrien yang diberikan juga menyebabkan peningkatan kadar CD4<sup>+</sup> pada penelitian kami tidak bermakna. Penelitian oleh Kaiser menunjukkan adanya peningkatan CD4<sup>+</sup> sebesar 65 sel setelah diberi suplementasi multi mikronutrien selama 12 minggu. Zat gizi mikro yang diberikan tidak hanya seng saja, tetapi mengandung vitamin (vitamin A, B, C, D dan E) dan mineral, antara lain magnesium, selenium, iodium, tembaga, mangan dan besi.<sup>14</sup>

Penelitian oleh Villamor berupa suplementasi vitamin A, B1, B2, B6, B12, C, E, asam folat dan selenium tanpa seng, menunjukkan peningkatan bermakna jumlah sel CD4<sup>+</sup> pada penderita TB paru yang negatif HIV. Tidak ada pengaruh signifikan suplementasi mikronutrien tersebut pada jumlah sel CD4<sup>+</sup> pada penderita TB paru yang



positif HIV.<sup>24</sup> Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa selain zat gizi mikro lain, seng memiliki peran penting terutama pada penderita positif HIV.

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa kadar vitamin A serum, vitamin B, magnesium dan selenium pada penderita HIV lebih rendah dibandingkan orang sehat. Defisiensi vitamin B (Riboflavin, B6 dan B12) bahkan sudah terlihat sejak tahap *early asymptomatic*.<sup>25</sup> Pemberian vitamin A pada ibu hamil menderita HIV dapat menurunkan kejadian lahir *pre-term* dibandingkan ibu hamil menderita HIV yang menerima plasebo.<sup>26</sup> Konsentrasi magnesium serum berkorelasi langsung dengan jumlah CD4<sup>+</sup>.<sup>27</sup> Suplementasi selenium 200 µg/hari selama 9 bulan dapat meningkatkan CD4<sup>+</sup> sebesar 27,9 sel/µL dan menekan perkembangan HIV.<sup>28</sup> Berdasarkan hasil beberapa penelitian tersebut, suplementasi seng ditambah zat gizi mikro lainnya, kemungkinan akan memberikan hasil yang lebih bagus.

Variabel konsumsi harian makanan antara kedua kelompok relatif homogen (tabel 2). Asupan seng antara kedua kelompok tidak berbeda bermakna ( $p=0,702$ ). Variabel tingkat keparahan penderita dan kondisi psikologis dari masing-masing kelompok tidak diukur dalam penelitian ini. Hal ini merupakan keterbatasan dari penelitian kami.

## KESIMPULAN

Suplementasi seng dosis 5 mg/hari selama satu bulan tidak menunjukkan perubahan CD4<sup>+</sup> yang bermakna dibandingkan kelompok yang menerima AZT saja.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Kami mengucapkan banyak terima kasih kepada dr. Tony Priliono dan dr. Lies Agustin dari Perkumpulan Keluarga Sehat Indonesia (PKSI) Semarang yang telah banyak membantu dalam penelitian.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Stolley KS, Glass JE. *HIV/AIDS*. California: Greenwood Press; 2009.
2. World Health Organization. *Global health sector strategy on HIV/AIDS 2011-2015*. WHO Library Cataloguing-in-Publication Data. Geneva: WHO; 2011.
3. World Health Organization. 2010. Global summary of the AIDS epidemic. Diunduh dari [http://www.who.int/hiv/data/2011\\_epi\\_core\\_en.png](http://www.who.int/hiv/data/2011_epi_core_en.png). Tanggal 4 Mei 2012.
4. Direktorat Jenderal Pengendalian Penyakit dan Penyehatan Lingkungan. *Data Info Penyakit*. Jakarta: Ditjen PPPL Kemenkes; 2012.
5. Li JR, Gong RY, Li YP, Bai Y, You F, Deng S. Research on HIV/Toxoplasma gondii co-infection and cytokine levels among intravenous drug users. *Parasite Immunol*. 2010; 32:161-4.
6. Gougeon ML, Chiodi F. Impact of C-Chain Cytokines on T Cell Homeostasis in HIV-1 Infection: Therapeutic Implications. *J Intern Med*. 2010; 267: 502-14.
7. Riddell LA, Pinching AJ, Hill S, Ng TT, Arbe E, Lapham GP, *et al*. A Phase III Study of Recombinant Human Interferon Gamma to Prevent Opportunistic Infections in

- Advanced HIV Disease. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2001;17(9): 789-97.
8. Cuevas LE, Koyanagi A. Zinc and Infection: A Review. *Ann Trop Paediatr*. 2005; 25:149-60.
  9. Mazzatti DJ, Uciechowski P, Hebel S, Engelhardt G, White AJ, Powell JR, et al. Effect of long – Term Zinc Supplementation and Deprivation on Gene Expression in Human THP – 1 Mononuclear Cells. *J Trace Elem Med Biol*. 2008; 22:325-36.
  10. Baum MK, Lai S, Sales S, Page JB, Campa, A. Randomized, Controlled Clinical Trial of Zinc Supplementation to Prevent Immunological Failure in HIV- Infected Adults. *Clin Infect Dis*. 2010;50(12):1653-60.
  11. Baum MK, Campa A, Lai S, Lai H, Page JB. Zinc Status in Human Immuno Deficiency Virus Type 1 and Illicit Drug Use. *Clin Infect Dis*. 2003;37(2): S117-23.
  12. Moher D, Hopewell S, Schulz KF, Montori V, Gøtzsche PC, Devereaux PJ, et al. Consort 2010 Explanation and Elaboration: Updated Guidelines for Reporting Parallel Group Randomised Trials. *BMJ*. 2010;340:869
  13. Kuntoro H. *Metode Sampling dan Penentuan Besar Sampel*. Surabaya: Pustaka Melati; 2008.
  14. Kaiser JD, Campa A, Ondercin JP, Leoung GS, Pless RF, Baum MK. Micronutrien Supplementation Increases CD4 Count in HIV-Infected Individuals on Highly Active Anti Retroviral Therapy: A Prospective, Double-Blinded, Placebo-Controlled Trial. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2006;42:523-8.
  15. Carcamo C, Hooton T, Weiss NS, Gilman R, Wener MH, Chavez W, et al. Randomized Controlled Trial of Zinc Supplementation for Persistent Diarrhea in Adults with HIV-1 Infection. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2006;43(2):197-201.
  16. Mocchegiani E, Muzzioli M, Gaetti R, Veccia S, Viticchi C, Scalise G. Contribution of Zinc to Reduce CD4+ Risk Factor for 'Severe' Infection Relapse in Aging: Parallelism with HIV. *Int J Immunopharmacol*. 1999;21:271-81.
  17. Mocchegiani E, Muzzioli M. Therapeutic Application of Zinc in Human Immuno Deficiency Virus Against Opportunistic Infections. *J Nutr*. 2000;130: 1424S-31S.
  18. Isa L, Lucchini A, Lodi S, Giachetti M. Blood zinc Status and Zinc Treatment in Human Immuno Deficiency Virus-Infected Patients. *Int J Clin Lab Res*. 1992; 22: 45-7.
  19. Rahfiludin MZ, Wirjatmadi B, Agusni I, Dahlan YP. Zinc Supplementation Could Modulate T Cell to Maintain Interleukin-2 Level in Seropositive Contact of Leprosy Patients. *Med J Indones*. 2011; 20: 201-4.
  20. Haase H, Rink L. Functional Significance of Zinc – Related Signaling Pathways in Immune Cells. *Annu Rev Nutr*. 2009; 29: 133-52.
  21. Hönscheid A, Rink L, Haase H. T – Lymphocytes : A Target for Stimulatory and Inhibitory Effects of Zinc Ions. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*. 2009;9:132-44.
  22. Abbas AK, Lichtman AH. Basic Immunology. *Function and Disorders*



- of the Immune System*. Third edition. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2010.
23. Irlam JH, Visser MME, Rollins NN, Siegfried N. Micronutrient supplementation in children and adults with HIV infection. *Cochrane Database Syst Rev*, 2010;(12):CD003650.
  24. Villamor E, Mugusi F, Urassa W, Bosch RJ, Saathoff E, Matsumoto K et al. A Trial of The Effect Micronutrient Supplementation on Treatment Outcome, T Cell Counts, Morbidity, and Mortality in Adults with Pulmonary Tuberculosis. *J Infect Dis*. 2008;197(11):1499-505.
  25. Patrick L. Nutrients and HIV: Part 2 – Vitamin A and E, Zinc, B-vitamins and Magnesium. *Altern Med Rev*. 2000; 5(1): 39-51.
  26. Coutsooudis A, Kubendran P, Spooner E, Louise K, Coovadia HM. Randomized Trial Testing the Effect of Vitamin A Supplementation on Pregnancy Outcomes and Early Mother to Child HIV-1 Transmission in Durban, South Africa. *AIDS*. 1999; 13(12):1517-24.
  27. Beck KW, Schramel P, Hedl A, Jaeger H, Kaboth W. Serum Trace Element Levels in HIV Infected Subjects. *Biol Trace Elem Res*. 1990;25(2):89-96.
  28. Hurwitz BE, Klaus JR, Llabre MM, Gonzalez A, Lawrence PJ, Maher KJ, et al. Suppression of Human Immunodeficiency Virus Type 1 Viral Load with Selenium Supplementation: A Randomized Controlled Trial. *Arch Intern Med*. 2007; 167(2):148-54.

