



**MUTASI TERKAIT RESISTENSI TERHADAP PENGHAMBAT  
REVERSE TRANSCRIPTASE HUMAN IMMUNODEFICIENCY  
VIRUS TIPE 1 (HIV-1) DI KOTA JAYAPURA**

Hotma Martogi Lorensi Hutapea<sup>1)</sup>, Mirna Widiyanti<sup>1)</sup> dan Eva Fitriana<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Balai Penelitian dan Pengembangan Biomedis Papua  
Jl. Kesehatan No 10 Dok II, Jayapura 99112, Papua  
Surel: hotmahutapea@gmail.com

**ABSTRACT**

Antiretroviral therapy, especially Reverse Transcriptase Inhibitor (RTI) has been proven to increase the quality of life of people living with HIV and AIDS. Studies have shown that RTI provides possibilities in reducing retroviral evading since its ability to decrease the viral load in blood plasma. However, recent studies also have shown the incidence of mutation associated to RTI *in vitro* and *in vivo*. This studies was conducted to obtain the data of mutation occur in HIV-1 derived from people living with AIDS in Jayapura. The RNA was extracted from blood plasma and incubated with on 50°C for 30 minutes with using RT enzyme from SSIII invitrogen to obtain complementary DNA (cDNA). DNA fragment encoding *rtHIV* was obtained by adding 25ul Green PCR ready mix into cDNA solution. PCR was programmed on 95°C, 4 minutes, 35x (95°C, 1 minute; 53°C, 1 minute; 72°C, 1 minute); 72°C, 7 minutes. Mutation M184V, Y115F, and K70R were identified on 3 subject taking ARV. Mutation M41L, and D67E were identified on 1 ARV naïve subject. Polymorphism V106 was identified on 1 ARV naïve subject.

Keywords: Antiretroviral, Mutation, Resistant, reverse transcriptase HIV-1.

**ABSTRAK**

Pemberian antiretroviral (ARV) golongan penghambat *Reverse Transcriptase/ Reverse Transcriptase Inhibitor* (RTI) terbukti mampu meningkatkan kualitas hidup penderita HIV dan AIDS. Hasil penelitian menyatakan bahwa RTI memberikan harapan dalam penanggulangan infeksi retrovirus karena kemampuannya menurunkan jumlah virus di dalam plasma. Namun berbagai hasil penelitian juga menunjukkan adanya mutasi terkait resistensi virus yang terpapar RTI baik secara *in vitro* maupun *in vivo*. Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh data mutasi yang terjadi pada virus yang menginfeksi subyek ODHA di Jayapura. RNA HIV-1 diperoleh dari sampel plasma subyek ODHA di Jayapura. RNA HIV-1 diinkubasi pada 50°C selama 30 menit dengan enzim RT dari SSIII Invitrogen untuk memperoleh *complementary DNA* (cDNA). Fragmen DNA *rtHIV* diperoleh dengan menambahkan 25ul *Green PCR ready mix* ke dalam larutan berisi cDNA. Reaksi PCR dilakukan pada kondisi 95°C, 4 menit, 35x (95°C, 1 menit; 53°C, 1 menit; 72°C, 1 menit); 72°C, 7 menit. Mutasi dengan motif M184V, Y115F, dan K70R yang terkait resistensi ARV teridentifikasi pada 3 sampel subyek yang menerima ARV. Mutasi dengan motif M41L dan D67E teridentifikasi pada 1 subyek



yang tidak menerima ARV. Polimorfisme V106I teridentifikasi pada 1 subyek yang juga tidak menerima ARV.

Kata kunci: Antiretroviral, Mutasi, Resisten, *reverse transcriptase* HIV-1.

## PENDAHULUAN

Penemuan antiretroviral (ARV) memberikan harapan dalam penanggulangan *Human Immunodeficiency Virus* tipe 1 (HIV-1). Pada dasarnya ARV bekerja dengan menurunkan jumlah virus di dalam plasma hingga mencapai angka di bawah ambang batas deteksi dan jumlah sel CD4 meningkat. ARV yang sudah umum digunakan sebagai terapi lini pertama adalah inhibitor rtase. Obat-obat ini terbagi ke dalam 2 kelompok obat, yaitu *Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitor* (NRTI) seperti lamivudine (3TC), Tenofovir Disoproxil Fumarate (TDF), zidovudine (ZDV/AZT), stavudine (d4T), abacavir (ABC), emtricitabine (FTC). Golongan lainnya adalah *NonNucleoside Reverse Transcriptase Inhibitor* (NNRTI) seperti nevirapin (NVP) dan Efavirenz (EFV) (Miller *et al.*, 1998). Di VCT yang terdapat di Jayapura, ARV yang biasa diberikan kepada pasien adalah 3TC, EFV, dan TDF.

Penurunan tingkat replikasi HIV di dalam darah harus berkesinambungan dan tahan lama sehingga pasien bisa mengalami perbaikan sistem pertahanan tubuh. Hal itu bisa dicapai dengan penggunaan obat-obatan yang poten dan program pengobatan yang harus dipatuhi pasien. Kepatuhan pasien penting untuk mengurangi tingkat resistensi virus terhadap obat dan penyebaran HIV galur mutan. Pemberian ARV pada penderita biasanya dilakukan berupa kombinasi ARV untuk mengurangi tingkat resistensi virus terhadap ARV. Resistensi virus terhadap ARV terjadi karena adanya mutasi pada titik tertentu pada DNA virus sehingga terjadi perubahan asam amino (Departemen Kesehatan RI, 2007).

Mutasi yang kerap terjadi pada subyek ODHA adalah mutasi selektif karena pemberian senyawa 3TC. Mutasi tersebut adalah mutasi yang menyebabkan metionin di kodon posisi 184 berubah menjadi valin (M184V). Perubahan tersebut menyebabkan kerentanan virus terhadap 3TC menurun. Terapi menggunakan 3TC juga ternyata dapat membatasi penggunaan ARV dari golongan serupa kedepannya. Hal ini terlihat dari uji resistensi HIV terhadap 3TC yang dilakukan oleh Miller *et al.* (1998) yang menunjukkan bahwa mutasi yang menyebabkan resistensi HIV terhadap 3TC juga memicu resistensi HIV terhadap abacavir, emtricitabine, dan didanosine. <sup>1</sup>Mutasi yang terkait resistensi HIV terhadap ARV golongan NRTI adalah M41L, E44A/D, A62/V, K65R, D67N, T69D/G/N, T69 insertions, K70R, L74V, V75IA/M/S/T, Y115F, F116Y, V118I, Q151M, M184V/I, L210W, T215F/Y, dan K219Q/N/E. Mutasi yang terkait resistensi HIV terhadap ARV golongan NNRTI adalah A98G, L100I, K101E/Q, K103N, V106A/I, V108I, V179D/E, Y181C/I, Y188L/C/H, G190A/S/E/T, P225H, M230L, dan P236L (Ravela *et al.*, 2003)

Hasil penelitian yang dilakukan oleh Bansode di distrik Karonga, Malawi (2011) menunjukkan tingginya tingkat mutasi terkait resistensi terhadap RTI. Dari 75 individu yang darahnya diambil, 15 orang ditemukan membawa HIV yang resisten terhadap ARV. Resistensi tersebut dikaitkan dengan mutasi yang terjadi pada kodon 118 dimana kodon pengkode valin berubah menjadi isoleucin sehingga membentuk motif V118I. Mutasi yang lain adalah Y181C dan G190A/E, K103K/N, Y181N/Y, V190I/V, dan H221H/Y. Berdasarkan *database* resistensi obat Stanford, mutasi G190A menyebabkan tingkat resistensi yang tinggi terhadap EFV (Bansode *et al.*, 2004).

Penelitian ini berfokus pada mutasi terkait resistensi yang terjadi pada DNA daerah rtase HIV dengan mengacu pada data-data penelitian terdahulu yang telah



dipublikasikan. Selain itu, penelitian ini dilakukan untuk mendapatkan data variabilitas genetic HIV-1 yang terdapat pada ODHA di Kota Jayapura, khususnya di Klinik *Care, Support, and Therapy* (CST) RSUD Jayapura. Pengujian resistensi HIV terhadap RTI tidak dilakukan baik secara *in vitro* maupun *in vivo*.

## **METODE**

**Pengambilan Sampel.** Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah plasma yang berasal dari 50 subyek ODHA yang diambil pada tahun 2013.

**Perancangan Primer.** Perancangan primer spesifik untuk fragmen DNA pengkode RT HIV (*rt*) dilakukan secara manual dan dikonfirmasi menggunakan BLAST untuk memastikan bahwa primer yang dirancang adalah benar dan spesifik untuk mengidentifikasi mutasi mayoritas pada daerah *rt* HIV. Perancangan primer dilakukan pada daerah terpelihara di bagian hulu dan hilir fragmen DNA *rt* untuk memperoleh gambaran mutasi terkait resistensi secara keseluruhan. Sekuen acuan yang digunakan dalam perancangan primer adalah AY586544.2, AY180905.1, AY162225.1, AY16223.1, AF530576.1, KC990126.1, U46016.1, AY322187.1, dan AY167123.1.

**Ekstraksi RNA Virus dari Sampel Plasma Darah.** RNA virus diekstraksi dari plasma darah menggunakan kit ekstraksi Qiagen viral RNA minikit dengan menerapkan metode ultrasensitive (Mulder *et al.*, 1997) sehingga diperoleh RNA virus yang murni dan dengan konsentrasi tinggi.

**Sintesis cDNA dan Perbanyakkan Fragmen Dna Target.** Sintesis cDNA dilakukan menggunakan sepasang primer spesifik yang dirancang untuk penelitian ini. Reaksi sintesis cDNA dilakukan dengan metode transkripsi balik dengan membuat campuran



berisi 10uM dNTP, 0,5uM pRTHIVF, 0,5uM pRTHIVR, 200ng templat RNA, dan 5U enzim MuLV RT dari qiagen one step RTPCR dibuat di dalam tabung 200ul. Reaksi transkripsi balik dilakukan dengan menginkubasi tabung reaksi pada suhu 50°C selama 30 menit. Enzim MuLV RT dinonaktifkan dengan menginkubasi tabung reaksi pada suhu 95°C selama 15 menit. Reaksi dihentikan dan dilanjutkan dengan proses amplifikasi dengan teknik PCR. Reaksi PCR dilakukan menggunakan 2 jenis enzim polimerase, yaitu polimerase Taq pada kit campuran siap pakai *green PCR*, dan polimerase *phusion high fidelity*.

Reaksi PCR yang dilakukan dengan menambahkan 25ul *Green PCR ready mix* ke dalam larutan berisi cDNA dari reaksi transkripsi balik. Reaksi PCR dilakukan pada kondisi 95°C, 4 menit, 35x (95°C, 1 menit; 53°C, 1 menit; 72°C, 1 menit); 72°C, 7 menit. Reaksi PCR yang dilakukan menggunakan polimerase *phusion high fidelity* terdiri atas komponen produk cDNA hasil transkripsi balik sebanyak 2ul, 5x dapar HF, pRTHIVF 0,4uM, pRTHIVR 0,4uM, enzim polimerase *phusion high fidelity* 0,5U. Reaksi PCR dilakukan pada program 95°C, 10 detik; 35x(95°C, 10 detik; 63°C, 30 detik, 72°C, 45 detik), 72°C, 7 menit.

**Analisis Data.** Data berupa sekuens nukleotida dianalisa dengan seksama. Setiap pasang sekuens nukleotida dibuat konsensusnya. Fragmen DNA yang terkonfirmasi *rt* diidentifikasi mutasinya menggunakan aplikasi *HIVdb mutation interpretation* pada situs jaringan <http://hivdb.stanford.edu>. Setiap sampel yang teridentifikasi mutan terkait resistensi dirujuk kembali kepada sekuens nukleotidanya untuk memastikan kebenaran mutasi.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Primer dirancang secara manual untuk mengenali fragmen DNA *rt* secara spesifik pada posisi 1839 – 2569 pada genom lengkap HIV-1 hingga menghasilkan produk PCR sepanjang 730 pb. Urutan primer yang digunakan adalah Prthivf 5'-TGTACAGAGATGGAAAAGGAAGGGAA-3' dan Prthivr 5'-CCTCTAAGGAGTTTACATAATTGCCTTA-3'. Nukleotida primer dikonfirmasi dengan mensejajarkannya menggunakan *Basic Local Alignment Search Tool* pada situs jaringan <http://www.ncbi.nlm.nih.gov> dan menunjukkan homologi 100% dengan fragmen DNA *rt* yang dideposit di genbank.

Materi genetik HIV berupa RNA diekstraksi dari 50 sampel yang dikumpulkan dalam penelitian riset binaan kesehatan berjudul Deteksi Mutasi Fragmen DNA pengkode Integrase HIV-1 pada Subyek ODHA di Jayapura pada tahun 2013. Sejumlah 30 sampel berhasil dianalisa dan 21 diantaranya diidentifikasi sebagai CRF01\_AE, 5 sampel adalah subtype B, 2 sampel adalah subtype C, dan 2 sampel adalah CRF01\_AG. Mutasi yang paling sering muncul adalah mutasi yang menyebabkan perubahan metionin pada asam amino 184 menjadi valin atau leucine yang membentuk motif M184V atau M184L. Mutan M184V menyebabkan resistensi tingkat tinggi terhadap 3TC dan FTC, dan resistensi tingkat rendah terhadap DDI dan ABC. Mutasi dengan motif Y115F muncul pada 2 sampel subyek bersamaan dengan mutan M184V. Kombinasi mutasi tersebut mengakibatkan tingginya resistensi terhadap 3TC, namun masih dapat menjalani terapi dengan AZT dan atau D4T. Mutan K70R muncul hanya sekali pada 1 sampel subyek yang menerima kombinasi ARV D4T dan EFV (Tabel 1).

Tabel 1. Motif mutasi yang muncul pada sampel subyek penelitian. Mutan motif M184V dan Y115F muncul pada 2 sampel subyek.

No	Kode Sample	Variant	Jenis Kelamin	Usia (tahun)	Jenis ARV	Motiv Mutasi	Status Mutasi Terhadap ARV
1	601229	CRF01_AE	P	26	TDF, 3TC (6 bulan)	Y115F M184V	NRTI Lamivudine (3TC): Resistensi tingkat tinggi Abacavir (ABC) : Resistensi intermediet Zidovudine (AZT) : Rentan Stavudine (D4T) : Rentan Didanosine (DDI) : Resistensi tingkat rendah Emtricitabine (FTC): Resistensi tingkat tinggi Tenofovir (TDF) : Resistensi intermediet
2	601243	CRF01_AE	P	23	Nevi (3 bulan)	K70R	NRTI Lamivudine (3TC) : Rentan Abacavir (ABC) : Rentan Zidovudine (AZT) : Resistensi intermediet Stavudine (D4T) : Rentan Didanosine (DDI) : Rentan Emtricitabine (FTC) : Rentan Tenofovir (TDF) : Rentan Efavirenz (EFV) : Rentan Duviral (Duvi) : Tidak ada data
3	601250	CRF01_AE	L	56	Duvi, Nevi	Y115F M184V	Lamivudine (3TC) : Resistensi



					(2 tahun)		tingkat tinggi Abacavir (ABC) : Resistensi intermediet Zidovudine (AZT) : Rentan Stavudine (D4T) : Rentan Didanosine (DDI) : Resistensi tingkat rendah Emtricitabine (FTC) : Rentan Tenofovir (TDF) : Resistensi intermediet Nevirafine : Rentan Duviral (Duvi) : Tidak ada data
4	601253	CRF01_AE	P	30	-	M41L, D67E	Lamivudine (3TC) : Rentan Abacavir (ABC) : Resistensi tingkat rendah Zidovudine (AZT) : Resistensi tingkat rendah Stavudine (D4T) : Resistensi tingkat rendah Didanosine (DDI) : Resistensi tingkat rendah Emtricitabine (FTC) : Rentan Tenofovir (TDF) : Resistensi tingkat rendah
5	601264	CRF01_AE	L	27	-	V106I	Polimorfisme, tidak ada efek terhadap resistensi

Replikasi HIV-1 yang rawan kesalahan dapat mengakibatkan variasi genetik.

Variasi genetik penting bagi virus untuk meloloskan diri dari sistem imun inang, dan



juga untuk penyebaran varian resisten obat. Ada 3 tahap pada siklus hidup virus di mana mutasi dapat terjadi, pertama saat sel terinfeksi membelah, bentuk proviral genom virus disalin oleh mesin replikasi DNA sel inang. Kedua, saat virus diproduksi oleh sel terinfeksi, genom RNA virus dihasilkan oleh RNA polimerase inang. Ketiga, saat virus menginfeksi sel inang, RT inang mengubah genom RNA virus menjadi DNA. Secara keseluruhan, tingkat kesalahan proses-proses tersebut relatif tinggi, yaitu sekitar 10-4 kesalahan per pasang basa dalam 1 kali siklus replikasi (Hu *et al.*, 2012; Keele *et al.*, 2008)

RT yang dikode oleh virus adalah komponen penting yang diperlukan untuk replikasinya, dimana aktivitas tersebut adalah agen etiologi *Acquired Immunodeficiency Syndrome*, AIDS. Enzim RT memiliki 3 situs katalitik yang menyebabkan RT mampu mengubah genom RNA virus menjadi cDNA. Namun demikian, RT merupakan enzim polimerase yang memiliki akurasi yang paling rendah sehingga mudah menyebabkan mutasi. Uji akurasi yang dilakukan pada 3 enzim RT rekombinan menunjukkan bahwa RTHIV-1 memiliki tingkat kesalahan yang paling tinggi, yaitu 1 di dalam 1700 nukleotida yang terinkorporasi, sementara enzim RT dengan akurasi tertinggi adalah RT Moloney Leukemia Virus (MLV), yaitu 1 di dalam 30.000 nukleotida yang terinkorporasi (Roberts *et al.*, 1988).

Variasi sekuens genom HIV-1 yang cukup tinggi tersebut menjadi tantangan tersendiri dalam merancang primer dalam mendapatkan desain yang tepat untuk mengamplifikasi *rt* seluruh subtipe HIV-1. Untuk itu, perwakilan sekuen *rt* dari seluruh subtipe dikumpulkan dan disejajarkan menggunakan alat perangkat lunak *clustalW* untuk melihat tingkat homologi sekuens dan posisi nukleotida dengan homologi tertinggi. Selanjutnya primer dirancang di daerah yang paling tinggi tingkat

homologinya dengan memperhatikan panjang oligonukleotida, suhu titik lebur oligonukleotida, kemungkinan pembentukan konformasi sekunder, kemungkinan pembentukan dimer primer, dan kemungkinan *mispriming*. Perbanyak DNA *rtHIV-1* selanjutnya dilakukan dengan teknik PCR pada suhu penempelan primer 53°C. PCR tidak dilakukan secara *nested* untuk menghindari munculnya mutasi karena kesalahan inkorporasi dNTP pada saat polimerisasi oleh polimerase *Taq*.

Penelitian ini menggambarkan ada atau tidaknya mutasi yang terjadi pada sampel subyek yang diidentifikasi. Subyek penelitian ini adalah pasien HIV yang menerima ARV dan yang tidak. ARV yang diberikan pada pasien adalah kombinasi TDF+3TC+EFV, TDF+3TC+NVP, D4T+TDF, dan D4T+EFV. Pengobatan pasien terinfeksi HIV dilakukan dengan pemberian kombinasi 2 atau 3 ARV dengan alasan untuk menurunkan laju mutasi yang dapat menyebabkan munculnya mutasi dan memperpanjang penggunaan obat. Kontribusi ARV dalam menurunkan jumlah muatan virus di dalam darah pasien memang sangat membantu dalam meningkatkan kesehatan dan kualitas hidup pasien HIV.

ARV yang digunakan pada subyek penelitian adalah golongan inhibitor RT yang memang merupakan target ideal obat. Jika virus tidak menyelesaikan tahap transkripsi balik yang difasilitasi oleh RT, maka kompleks preintegrasi tidak akan mungkin terbentuk sehingga virus tidak dapat memperbanyak diri. Dengan ketaatan yang baik dalam terapi, ARV dapat menekan pertumbuhan virus hingga puluhan tahun walaupun tidak dapat mengeliminasi virus tersebut (Arts & Hazuda, 2012)

Pada penelitian ini, sebanyak 50 sampel subyek diidentifikasi keberadaan mutasinya. Sejumlah 37 sampel adalah subyek yang menerima ARV golongan NRTI dan NNRTI, dan sejumlah 13 sampel adalah subyek yang tidak menerima ARV sama

sekali. Hasil identifikasi menunjukkan 5 subyek terinfeksi HIV-1 yang termutasi dan terkait dengan resistensi ARV dengan mutasi yang muncul pada 2 sample subyek adalah M184I, yaitu yang merupakan mutasi substitusi. Mutasi ini melibatkan mekanisme peningkatan dalam membedakan dNTP normal dari analog nukleotida pada saat NRTI-TP berinkorporasi, dimana RT memilih untuk mengurangi inkorporasi 3TC dan FTC oleh sterik hindrance (Kohlstaedt *et al.*, 1992; Ding *et al.*, 1998).

M184V secara selektif terjadi pada HIV-1 galur murni yang terpapar ARV jenis 3TC. Hal ini terlihat pada penelitian yang dilakukan oleh Petrella pada tahun 2004 yang menunjukkan bahwa HIV-1 galur murni yang ditumbuhkan dalam sel mengalami mutase substitusi seiring peningkatan konsentrasi 3TC. M184V juga berkaitan dengan beberapa perubahan fungsi enzim RT secara *in vitro* yang mempengaruhi kapasitas replikasi (Petrella *et al.*, 2004).

Mutasi M184V menurunkan kerentanan virus terhadap ABC 2 hingga 3 kali lipat, dan lebih terhadap 3TC secara *in vitro* (Tisdale *et al.*, 1993). Mutasi M184V sendiri tidak mempengaruhi respon virus terhadap ABC secara nyata (Lanier *et al.*, 2001; Stone *et al.*, 2004). Namun mutasi M184V yang muncul dengan mutan analog timidin seperti M41L, D67N, K70R, L210W, T215F/Y dan K219Q/E meningkatkan kerentanan virus terhadap AZT (Clavel & Hance, 2004). Penelitian untuk mengetahui tingkat mutasi pada daerah *rt* dan protease juga dilakukan di Surabaya. Penelitian ini melibatkan 66 pasien yang telah mendapatkan terapi lebih dari 1 tahun yang diambil dari salah satu klinik di Surabaya. Hasilnya menunjukkan bahwa mutasi yang paling sering muncul adalah motif M184V sebanyak 28,3%. Hal tersebut sejalan dengan penelitian ini yang menunjukkan bahwa motif M184V ditemukan 40% dari jumlah mutan yang ditemukan. Hal tersebut juga sejalan dengan hasil penelitian Fibriani pada

tahun 2013 yang dikutip oleh Khairunisa yang menyatakan bahwa motif M184V ditemukan sebanyak 35,3% pada pasien yang telah menerima ARV di Bandung (Khairunisa *et al.*, 2014).

Mutasi lain yang teridentifikasi adalah mutasi pada posisi 115 yang terjadi pada 2 sampel subyek. Posisi 115 pada RT adalah bagian dari kantong pengikatan dNTP. Selain mengakibatkan resistensi terhadap ABC dan TDF, mutasi pada posisi ini menyebabkan meningkatnya keakuratan RT. Pada golongan lentivirus, asam amino pada posisi 115 RT adalah Y, sementara pada retrovirus yang lain, posisi ini diisi oleh F. Pada HIV-1, mutasi Y115F dikaitkan dengan resistensi tingkat rendah virus terhadap analog nukleotida. Perubahan dari Y menjadi F pada posisi 115 menyebabkan hilangnya grup hidroksil. Tingkat kesalahan RT motif Y115F adalah  $1.0 \times 10^{-4}$ , lebih rendah dibandingkan RT galur murninya (Boyer & Hughes, 2000).

Mutasi dengan motif K70R teridentifikasi pada 1 sampel subyek yang mendapatkan terapi d4T dan EPV selama 3 bulan. Mutasi tersebut merupakan mutan analog timidin dan menyebabkan resistensi terhadap AZT, ABC, d4T, dan DDI. AZT adalah analog timidin yang bekerja dengan menghentikan pembentukan rantai DNA *rt* secara spesifik sehingga proses translasi *rt* untuk membentuk protein RT tidak terjadi (Mitsuya *et al.*, 1985). Pada dosis yang sangat tinggi, zidovudin juga dapat menghambat aktivitas DNA polimerase sel manusia pada saat pembelahan sel, namun sel manusia mampu memperbaiki kerusakan DNA karena AZT, sementara HIV tidak memiliki kemampuan tersebut (Ostertag *et al.*, 1974). Tidak diketahui apakah mutasi pada sampel subyek memang terjadi karena pemberian ARV, atau ditularkan dari penderita lain karena tidak dilakukan identifikasi mutasi pada sampel subyek sebelum menerima ARV. Penelitian ini juga melibatkan subyek yang tidak menerima ARV dengan asumsi



tidak terjadi mutasi terkait resistensi ARV pada HIV yang menginfeksi subyek, namun hasil sekuensing menunjukkan 2 diantaranya membawa HIV-1 mutan, 1 terkait resistensi terhadap ARV dan yang lain adalah mutan polimorfisme. Mutasi-mutasi yang berpotensi menyebabkan resistensi terhadap ARV lebih banyak ditemukan pada subyek yang menerima ARV. Mutasi lain yaitu motif M41L adalah mutasi yang diketahui karena pemberian analogtimidine dapat menyebabkan menurunnya tingkat kerentanan virus terhadap semua NRTI yang telah disetujui. Pada penelitian ini, subyek yang terinfeksi mutan M41L belum pernah mendapatkan ARV, dan memiliki jumlah CD4 54 ketika sampel diambil. Selain mutasi pada posisi 41, HIV-1 yang menginfeksi subyek ini juga mengalami mutasi pada posisi D67E.

Perbedaan sekuens HIV-1 yang menyebabkan perubahan asam amino dapat terjadi secara alami pada pasien yang tidak diobati. Perubahan polimorfik tersebut dapat terjadi bahkan pada gen yang mengkode protein virus yang dijadikan target obat. Selain itu, beberapa mutasi terkait resistensi obat juga terjadi pada pasien yang tidak diobati. Resistensi minor yang disebabkan oleh mutasi dianggap sebagai kompensasi karena kesalahan RT dalam menginkorporasikan dNTP, dan tidak memiliki pengaruh substansial terhadap fenotipe virus (Gatanaga *et al.*, 2010). Pada penelitian ini, diperoleh 1 mutan polimorfisme V106I yang secara sendiri tidak mampu mengubah respon RT terhadap ARV. Penelitian yang dilakukan Gatanaga tahun 2010 menunjukkan kombinasi mutan polimorfisme V106I dengan V179D mampu mengubah kerentanan virus terhadap EFV dan NVP secara signifikan.

Mutasi terkait resistensi juga diidentifikasi pada sampel subyek yang tidak menerima ARV, dan diidentifikasi membawa HIV-1 subtype non B. Prasangka telah dibuat bahwa virus yang mengandung mutasi penyebab resistensi memiliki tingkat



penularan yang lebih rendah dibandingkan virus yang sensitif. Namun publikasi terbaru menunjukkan bahwa 10,4% dari 2208 pasien HIV-1 yang dipelajari pada penelitian yang dilakukan oleh Wensing pada tahun 2005 di 19 negara di Eropa terinfeksi HIV-1 dengan lebih dari 1 titik mutasi dan paling banyak terjadi pada HIV-1 subtype B yang memang berasal dari Eropa dan Amerika Utara. Subyek terinfeksi HIV-1 subtype non-B yang mengandung mutasi terkait resistensi adalah 4,8% (Wensing *et al.*, 2005). Mutasi yang muncul pada virus dapat menyebabkan resistensi virus terhadap ARV yang diberikan. Hal tersebut menjadi tantangan di dalam terapi HIV karena virus resisten dapat ditularkan dan dapat meningkatkan prevalensi virus resisten pada pasien HIV-1 yang tidak mendapatkan terapi.

## **KESIMPULAN**

Mutasi terkait resistensi HIV-1 terhadap ARV teridentifikasi pada 5 subyek ODHA di Kota Jayapura, namun tidak bersifat mayor.

## **UCAPAN TERIMA KASIH**

Ucapan terimakasih disampaikan kepada Klinik CST RSUD Jayapura untuk kesediaannya membantu penelitian ini.

## **DAFTAR PUSTAKA**

- Arts JE & Hazuda DJ. 2012. HIV-1 antiretroviral drug therapy. *cshperspect.* a007161.
- Bansode VB, Simon AAT, Amelia CC, & Bagrey N, 2011. Reverse transcriptase drug resistance mutations in HIV-1 subtype C infected patients on ART in Karonga District, Malawi. *AIDS Research and Therapy* 8:38.



- Boyer PL & Hughes SH. 2000. Effects of amino acid substitutions at position 115 on the fidelity of human immunodeficiency virus type 1 reverse transcriptase. *J. Virol.* 74(14): 6494-6500.
- Clavel F & Hance A. 2004. HIV drug resistance. *N Engl J Med.* 350:1023 -1035.
- Departemen Kesehatan R.I, 2007, Pedoman Nasional Terapi Antiretroviral; Panduan Tatalaksana Klinis Infeksi HIV pada Orang Dewasa dan Remaja, Ed.2.
- Ding J, Das K, Hsiou Y, Sarafianos SG, Clark AD Jr, Jacobo-Molina A, Tantillo C, Hughes SH, & Arnold E. 1988. Structure and functional implications of the polymerase active site region in a complex of HIV-1 RT with a double-stranded DNA template-primer and an antibody Fab fragment at 2.8 Å resolution. *J Mol Biol.* 284:1095–1111.
- Gatanaga H, Ode H, Hachiya A, & Hayashida T 2010. Efavirenz and Nevirapine but not etravirine transcriptase confers resistance to immunodeficiency virus type 1 reverse polymorphic mutations in human. *Antimicrob. Agents Chemother.* 54(4): 1596 – 1602.
- Hu WS & Hughes SH. 2012. HIV-1 reverse transcription. *Cold Spring Harb Perspect Med.* (2) : a006882.
- Keele BF, Elena EG, Jesus F. Salazar-Gonzalez, Julie M, & Decker, 2008. Identification and characterization of transmitted and early founder virus envelopes in primary HIV-1 infection. *PNAS* 105 (21): 7552 – 7557.
- Khairunisa SQ, Kotaki T, Witaningrum AM, & Yunifiar MQ. 2014. Appearance of drug resistance-associated mutation in human immunodeficiency virus type 1 protease and reverse transcriptase derived from drug-treated Indonesian patients. *AIDS Res. Hum. Retroviruses.* 30, doi:10.1089/aid.2014.0221.
- Kohlstaedt LA, Wang J, Friedman JM, Rice PA, & Steitz TA. 1992. Crystal structure at 3.5 Å resolution of HIV-1 reverse transcriptase complexed with an inhibitor. *Science* 256:1783–1790.
- Lanier ER, Glenn S, Daniel M, & Stephen B. 2001. HIV-1 reverse transcriptase sequence in plasma and cerebrospinal fluid of patients with AIDS dementia complex treated with Abacavir. *AIDS.* 15 (6): 747 – 751.
- Miller V, Martin S, Schlomo S & Bettina G, 1998. The M184V Mutation in HIV-1 reverse transcriptase (RT) conferring lamivudine resistance does not result in broad cross-resistance to nucleoside analogue RT inhibitors. *AIDS.* 12: 705 – 712.
- Mitsuya H, Weinhold K, Furman P, St Clair M, Li, Lars, Lehrman S, Gallo R, Bolognesi D, Barry D, & Broder S. 1985. 3'-Azido-3'-deoxythymidine (BWA509U): an antiviral agent that inhibits the infectivity and cytopathic effect



of human T-lymphotropic virus type III/lymphadenopathy-associated virus in vitro. *Proc Natl Acad Sci USA*. 82 (20): 7096–100.

Mulder J, Resnick R, Saget B, Scheibel S, Herman S, Payne H, Harrigan R, & Kwok S. 1997. A rapid and simple method for extracting human immunodeficiency virus type 1 RNA from plasma: enhanced sensitivity. *Journal of Clinical Microbiology* 35 (5): 1278 – 1280.

Ostertag W, Roesler G, Krieg CJ, Kind J, Cole T, Crozier T, Gaedicket G, Steinheider G, Kluge N, & Dube S. 1974. Induction of Endogenous virus and of thymidine kinase by bromodeoxyuridine in cell cultures transformed by friend virus. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 71(12): 4980-4985.

Petrella M, Maureen O, Daniela M, & Detorio M. 2004. Differential maintenance of the M184V substitution in the Reverse transcriptase of human immunodeficiency virus Type 1 by various nucleoside antiretroviral agents in tissue culture. *ASM*. 48(11): 4189–4194.

Ravela J, Bradley JB, Françoise BV, & Anne MV, 2003. HIV-1 protease and reverse transcriptase mutation patterns responsible for discordance between genotypic drug resistance interpretation algorithms. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 33(1): 8 – 14.

Roberts JD, Bebenek K, & Kunkel TA. 1988. The accuracy of reverse transcriptase from HIV-1. *Science* 242(4882): 1171-1173.

Stone C, Ait-Khaled M, Griffin CCP, & Tisdale M. 2004. Human immunodeficiency virus type 1 reverse transcriptase mutation selection during in vitro exposure to tenofovir alone or combined with abacavir or lamivudine. *AMC*. 48 (4): 1413 – 1415.

Tisdale M, Kemp SD, Parry NR, & Larder B. 1993. Rapid in vitro selection of human immunodeficiency virus type 1 resistant to 3'-thiacytidine inhibitors due to a mutation in the YMDD region of reverse transcriptase. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 90(12):5653–5656.

Wensing AMJ, van de Vijver DA, Gioacchino A, & Birgitta A, 2005. Prevalence of drug resistant hiv-1 variants in untreated individuals in europe: implications for clinical management. *JID*. 192: 958-966.