

DISERTASI

MEKANISME HAMBATAN IgY SPESIFIK ANTI HIV-1 TERHADAP INFEKSI HIV-1 PADA FASE BINDING ANTARA GP120 DENGAN RESEPTOR CD4, CCR5 DAN CXCR4 LIMFOSIT T CD4⁺ SECARA IN VITRO



WIWIEK INDRIYANI MASKOEP

PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN JENJANG DOKTOR
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2019



DISERTASI

MEKANISME HAMBATAN IgY SPESIFIK ANTI HIV-1 TERHADAP INFEKSI HIV-1 PADA FASE BINDING ANTARA GP120 DENGAN RESEPTOR CD4, CCR5 DAN CXCR4 LIMFOSIT T CD4⁺ SECARA IN VITRO

WIWIEK INDRIYANI MASKOEP

**PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN JENJANG DOKTOR
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2019**



**MEKANISME HAMBATAN IgY SPESIFIK ANTI HIV-1 TERHADAP
INFEKSI HIV-1 PADA FASE BINDING ANTARA GP120 DENGAN
RESEPTOR CD4, CCR5 DAN CXCR4 LIMFOSIT T CD4⁺ SECARA
IN VITRO**

DISERTASI

Untuk memperoleh Gelar Doktor
dalam Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor
pada Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga
dan dipertahankan di hadapan Panitia
Ujian Akhir Tahap 2 (Terbuka)

Pada hari : Senin
Tanggal : 16 September 2019
Pukul : 10.00 WIB

Oleh:

**Wiwiek Indriyani Maskoep
011417017314**

**PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN JENJANG DOKTOR
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2019**

LEMBAR PENGESAHAN

MEKANISME HAMBATAN IgY SPESIFIK ANTI HIV-1 TERHADAP
INFEKSI HIV-1 PADA FASE BINDING ANTARA GP120 DENGAN
RESEPTOR CD4, CCR5 DAN CXCR4 LIMFOSIT T CD4⁺ SECARA
IN VITRO

TELAH DISETUJUI
PADA TANGGAL 08 OKTOBER 2019

Oleh
Promotor



Prof. Dr. Nasronudin, dr., Sp.PD, K-PTL., FINASIM
NIP 195611031984031001

Kopromotor



Prof. Sri Agus Sudjarwo, Drh., Ph.D
NIP 195609041984031004



**Disertasi ini telah diuji dan dinilai
oleh panitia penguji Ujian Tahap 1 (Tertutup)
pada tanggal 14 Agustus 2019**

Panitia Penguji:

Ketua

: 1. Prof. Win Darmanto, Drs., M.Si., Ph.D

Anggota

: 2. Prof. Dr. Nasronudin, dr., Sp.PD, K-PTI., FINASIM
3. Prof. Sri Agus Sudjarwo, drh., Ph.D
4. Prof. Dr. I Ketut Sudiana, drs., M.Si
5. Prof. Dr. Jusak Nugraha, dr., MS, Sp.PK (K)
6. Dr. Hari Basuki Notobroto, dr., M.Kes
7. Dr. drh. Agustina Dwi Wijayanti, M. P

**Ditetapkan dengan Surat Keputusan
Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga
Tentang Panitia Penguji Disertasi
Nomor : 283 / UN3.1.1/KD/2019
Tanggal : 14 Agustus 2019**

UCAPAN TERIMA KASIH

Assalamu Alaikum Wr Wb.

Puji syukur kehadiran Allah SWT, pemilik segala yang ada, dan dengan kekuasaan-Nya Dia memberi hikmah kepada siapapun yang dikehendaki. Syukur alhamdulillah, atas berkah, rahmat dan hidayah-Nya, sehingga saya dapat menyelesaikan Disertasi dengan judul Mekanisme Hambatan IgY Spesifik Anti HIV-1 terhadap Infeksi HIV-1 pada Fase Binding antara Gp120 dengan Reseptor CD4, CCR5 dan CXCR4 Limfosit T CD4⁺ secara In Vitro.

Disertasi ini dapat selesai tidak lepas dari dorongan, bimbingan, arahan, saran, koreksi dari promotor, Ko promotor dan Tim Penguji. Oleh karena itu, pada kesempatan ini, saya ingin mengucapkan terimakasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada yang terhormat :

Prof. Dr. Nasronudin, dr., Sp.PD, K-PTI., FINASIM, sebagai Penasehat Akademik dan Promotor, yang telah membimbing dengan tulus ikhlas, penuh pengertian, perhatian, dan kesabaran, memberi semangat, motivasi, arahan dan wawasan serta berdiskusi mengenai berbagai hambatan dalam masa studi saya serta meluangkan waktu untuk berkonsultasi sehingga disertasi ini dapat diselesaikan dengan baik.

Prof. Sri Agus Sudjarwo, Drh., Ph.D, sebagai Ko Promotor yang dengan penuh kesabaran, tulus ikhlas, pengertian, perhatian serta memberikan saya bimbingan dan arahan, dukungan dan juga selalu memberikan motivasi bagi saya dalam penyusunan disertasi.

Dengan selesainya disertasi ini perkenankanlah pula saya menghaturkan ucapan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada :

Prof. Dr. M. Nasih, SE, MT, Ak., selaku Rektor Universitas Airlangga dan Prof. Dr. H Fasichul Lisan, Apt., selaku mantan rektor Universitas Airlangga atas kesempatan yang diberikan kepada saya untuk mengikuti dan menyelesaikan studi pada Program Studi Ilmu Kedokteran jenjang doktor Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.

Prof. Dr. Soetojo, dr., SpU(K) selaku Dekan dan Prof. Dr. Agung Pranoto, dr., M.Kes., SpPD., KEMD, FINASIM, selaku mantan Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, beserta jajaran dekanat atas kesempatan yang telah diberikan kepada saya untuk mengikuti pendidikan ini.

Prof. Dr. dr. H. Joewono Soeroso, M.Sc., Sp.PD., KR, FINASIM, selaku Koordinator Program Studi (KPS) Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga dan Dr. Teddy Ontoseno, dr., SpA(K), SpJP, FIHA, selaku mantan Ketua Program Studi (KPS) yang telah memberikan fasilitas dan dukungan kepada saya selama menjalani dan menyelesaikan pendidikan Doktor pada Program Studi Ilmu Kedokteran Universitas Airlangga.

Tim penguji Materi prakualifikasi, kualifikasi, praproposal, proposal, dan uji kelayakan Prof. Dr. Nasronudin, dr., Sp.PD, K-PTI., FINASIM, Prof. Sri Agus Sudjarwo, drh., Ph.D, Prof. Dr. Aulanni'am, drh., Ph.D, Prof. Win Darmanto, Drs., M.Si., Ph.D, Prof. Dr. I Ketut Suidiana, drs., M.Si, Prof. Dr. Jusak Nugraha, dr., MS, Sp.PK (K), Dr. Hari Basuki Notobroto, dr., M.Kes, Dr. drh. Agustina Dwi Wijayanti, M.P., dan Prof. Ari Gunawan, dr., MS., PhD (Alm).

Urip Murtedjo, dr., Sp.B., PGD Pall. Med. ECU, selaku Ketua Pusat Pengembangan Paliatif dan Bebas Nyeri RSUD dr Soetomo Fakultas Kedokteran Unair dan Agus Ali Fauzi, dr., PGD, Pall. Med. ECU, serta seluruh staf dan jajarannya yang telah memfasilitasi dan memberi dukungan kepada saya selama menjalani dan menyelesaikan pendidikan Doktor pada Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Juga Prof. Dr. Sunaryadi, dr., Sp.THT-KL(K) dan Prof. Marlina S Mahajudin, dr., SpKJ(K) yang juga mendukung serta memotivasi dalam menyelesaikan pendidikan Doktor.

Para dosen MKPD Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga yang sangat saya hormati Prof. Maria Lucia Inge Lucida, dr., M. Kes., SpMK(K), Ph.D, Prof. Dr. I Ketut Sudiana, Drs., M.Si, Prof. Dr. Chairul Anwar Nidom, drh., MS yang telah memberikan pengetahuan yang sangat bermanfaat bagi penelitian saya.

Para dosen Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga yang sangat saya hormati: Prof. Dr. Harjanto J M, dr., AIF (Alm), Prof. Dr. Suhartono Taat Putra, dr., MS, Prof. Retno Handajani, dr., MS, PhD, Prof. Soetjipto, dr., MS, PhD, Prof. Dr. Harianto Notopuro, dr., MS, Prof. Dr. Indri Safitri Mukono, dr., MS, Prof. Dr. Suhartati, dr., MS, Prof Purnomo Suryohudoyo, dr., SpBk, Prof. Ari Gunawan, dr., MS, PhD (Alm), Prof. Dr. I Ketut Sudiana, Drs., MSi, Prof. Dr. Aryati, dr., MS, SpPK (K), Prof. Dr. M Zainuddin, Apt, Widodo JP, dr., MS, MPH, DrPH, Dr. Florentina Sustini, dr., MS, Dr Soenaryo, dr., MS, M.Sc, Dr. Hj. Susilowati Andajani, dr., MS, Dr. Hari Basuki Notobroto, dr., M.Kes, Dr. H. Budi Utomo,

dr., M.Kes, Dr. Ali Rohman., MSi, Prof. Dr. Ni Nyoman Tripuspaningsih, Dra., MSi, Prof. Dr. Afaf Baktir., MS, Siti Pariani, dr., MS, M.Sc., PhD, Toetik Koesbardiati, Dra, PhD, Dr. Gondo Mastutik, drh., M.Kes, yang telah memberikan pengetahuan yang sangat bermanfaat bagi penelitian saya.

Prof. Maria Lucia Inge Lucida, dr., M. Kes., SpMK(K), selaku Ketua Lembaga Penyakit Tropis dan Prof. Dr. Nasronudin, dr., Sp.PD, K-PTI., FINASIM selaku mantan Ketua Lembaga Penyakit Tropis Universitas Airlangga beserta seluruh staf dan jajarannya yang telah memberi kesempatan dan dukungan saya untuk melaksanakan penelitian.

Saya juga ingin mengucapkan terimakasih kepada rekan-rekan sejawat Pendidikan Doktor Ilmu Kedokteran FK Unair Angkatan 2014/2015, seluruh staf dan karyawan pada Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor UNAIR atas segala kerjasama dan bantuan yang telah diberikan kepada saya selama menempuh pendidikan.

Persembahkan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya dan tak terhingga kepada suami tercinta Eddy Zarkaty Monasir, dr., SpOG, dan anak tercinta Sarah Fitria Andini, dr., serta seluruh keluarga dan pendukung lainnya, serta pihak-pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang memberikan doa yang selalu dipanjatkan kepada-Nya, kasih sayang tiada henti, dukungan, motivasi serta pengorbanan dan selalu mendampingi saat mengalami berbagai hambatan dalam perjalanan hidup saya, dan dalam menjalani program pendidikan ini.

Dengan segenap kerendahan hati, penyusun menyadari bahwa dalam penulisan disertasi ini masih banyak kekurangan, sehingga penyusun mohon maaf sebesar-besarnya atas segala kekurangan. Semoga Allah SWT membalas seluruh kebaikan yang telah diberikan kepada penyusun. Akhir kata, semoga disertasi ini memberikan manfaat bagi siapapun yang membacanya.

Billahi fi sabilil haq fastabiqul khaerat, Wassalamu Alaikum Wr. Wb

Surabaya, Mei 2019

Peneliti

RINGKASAN

**Mekanisme Hambatan IgY Spesifik Anti HIV-1 Terhadap
Infeksi HIV-1 Pada Fase Binding Antara Gp120 Dengan
Reseptor CD4, CCR4 dan CXCR4 Limfosit T CD4⁺ Secara
In Vitro**

HIV adalah virus sitopatik yang diklasifikasikan dalam *family retroviridae*, *subfamily lentivirinae*, *genus lentivirus*. Berdasarkan strukturnya HIV berbeda dengan retrovirus yang lain. Terdapat 2 sub tipe HIV, yaitu HIV-1 dan HIV-2. HIV-1 menyebabkan infeksi diseluruh dunia namun HIV-2 terbatas di daerah Afrika Barat. Tahun 2017 jumlah pasien HIV/AIDS di dunia meningkat yakni 36,9 juta orang dan diantaranya 25,7 juta orang berasal dari Afrika dan tertinggi kedua yaitu Asia Tenggara yakni 3,5 juta orang. Benua Asia Pasifik diindikasikan memiliki laju infeksi HIV tertinggi di dunia, terutama India, China dan Indonesia yang merupakan negara dengan populasi terbesar di dunia. WHO dan UNAIDS, dua organisasi dunia memberi peringatan bahaya kepada 3 negara di Asia tersebut yang saat ini dinyatakan berada pada titik infeksi HIV. Bahkan bisa dikatakan negara tersebut berada dalam posisi serius.

Di Indonesia provinsi dengan jumlah infeksi HIV tertinggi adalah DKI Jakarta, diikuti Jawa Timur, Jawa Barat, Papua dan Jawa Tengah, dari 38 kabupaten/kota di Jawa Timur, Surabaya dengan ODHA terbanyak. Artinya, dengan data ini persoalan HIV/AIDS telah menjadi tantangan dan ancaman besar bagi hampir seluruh provinsi dan kabupaten/kota di Indonesia.

Vaksin untuk HIV belum ditemukan, dan obat antiretroviral hanya menekan infeksi, sedangkan sekali terinfeksi akan terinfeksi seumur hidup karena gen HIV akan menyisip ke dalam gen sel *host* yang terinfeksi, sehingga dibutuhkan terapi substitusi untuk menggantikan sistem kekebalan tubuh yang telah menurun dengan menggunakan imunoterapi. Penggunaan imunoglobulin sebagai imunoterapi merupakan salah satu cara untuk meningkatkan sistem kekebalan tubuh. Sehingga dalam upaya mencegah morbiditas dan mortalitas pasien HIV/AIDS perlu dilakukan pencarian serta penemuan bahan yang banyak mengandung imunoglobulin yang dapat digunakan sebagai imunoterapi pada pasien HIV/AIDS.

Penggunaan IgY sebagai imunoglobulin spesifik telah banyak teraplikasi antara lain penggunaan Rotamix IgY secara oral untuk terapi diare pada anak, H5N1, dan influenza B. Namun belum ada penelitian tentang penggunaan IgY Spesifik anti HIV-1. Keberhasilan IgY dalam penelitian sebelumnya, dapat membuka peluang keberhasilan juga dalam aplikasi penggunaan IgY sebagai antibodi spesifik anti HIV-1. Oleh karena itu, pada penelitian ini berfokus pada evaluasi sifat imunogenik HIV-1 sebagai pemicu respon imunitas ayam petelur, khususnya respon humoral yang berimplikasi kepada terbentuknya IgY Spesifik anti HIV-1 di dalam kuning telur dari ayam yang diinjeksi virus HIV-1 yang telah dinaktivasi secara intramuskular (IM), dan analisis efektivitas IgY Spesifik anti HIV-1 dalam menghambat infeksi HIV-1 sehingga dapat menjadi terapi imun untuk mencegah morbiditas (angka kesakitan) dan mortalitas (kematian) pasien HIV-1.

Jenis penelitian ini merupakan jenis ekperimental murni untuk membuktikan uji aktivitas netralisasi IgY Spesifik anti HIV-1 dengan metode uji pembentukan *syncytium* kemudian dilakukan pemeriksaan densitas/kepadatan reseptor CD4, CCR5 dan CXCR4. Rancangan penelitian adalah rancangan *post test* dengan kelompok kontrol (*post test only control group design*). Penelitian ini terdapat 2 kelompok yaitu kelompok kontrol (tidak diberi perlakuan) dan kelompok eksperimen (diberi perlakuan). Data yang diperoleh kemudian dianalisis secara deskriptif dan inferensial. Data yang dianalisis secara deskriptif digunakan untuk menentukan nilai rata-rata pembentukan *syncytium* dan densitas/kepadatan reseptor CD4, CCR5 dan CXCR4, sedangkan analisis inferensial yang digunakan adalah uji t, *Anova* dan uji *Mann Whitney*.

Bahan uji IgY diperoleh dari kuning telur ayam *Lohmann laying hens* yang diimunisasi dengan virus HIV-1 yang diinaktivasi. Sebelum dilakukan uji aktivitas netralisasi dilakukan karakterisasi powder IgY untuk membuktikan bahwa IgY tersebut spesifik anti HIV-1 dengan menggunakan metode *Agarose Gel Precipitation Test* (AGPT), *Enzyme- Linked Immunosorbent Assay* (ELISA), *Elektroforesis gel poliakrilamida- Sodium Dodesil Sulfat* (SDS-PAGE) dan *Western blot*. Langkah selanjutnya dilakukan pengujian untuk menilai aktivitas netralisasi antibodi IgY Spesifik anti HIV-1 dengan metode uji pembentukan *syncytium* dan untuk menilai densitas/kepadatan reseptor CD4, CCR5 dan CXCR4 menggunakan metode imunohistokimia.

Uji karakterisasi yang dilakukan didapatkan hasil bahwa powder yang digunakan merupakan IgY spesifik anti HIV-1 ditunjukkan dengan adanya garis presipitasi pada uji AGPT, adanya nilai absorbansi (Optical Density = OD) yang melebihi nilai *cut off* pada pemeriksaan ELISA serta munculnya berat molekul yang sesuai dengan rantai berat dan rantai ringan IgY pada pemeriksaan SDS-Page dan *Western blot*. Pembentukan molekul *syncytium* pada pengamatan 24 jam rata-rata lebih banyak pada kelompok kontrol (28,95) daripada kelompok perlakuan (14,9) dan pada pengamatan hari ke-7 rata-rata lebih banyak pada kelompok kontrol (92,20) dan kelompok perlakuan (24,07). Hal ini menunjukkan bahwa IgY Spesifik anti HIV-1 efektif dalam menghambat terbentuknya *syncytium* pada infeksi HIV-1 terhadap limfosit T CD4⁺ pada fase binding (tahap *entry*) pada pengamatan 24 jam dan hari ke-7 ($p < 0,05$). Hasil uji densitas/kepadatan reseptor CD4 pada pengamatan 24 jam menggunakan metode imunohistokimia nilai rata-rata lebih sedikit pada kelompok kontrol (0,10) daripada kelompok perlakuan (0,84), hal ini menunjukkan bahwa IgY Spesifik anti HIV-1 efektif dalam menghambat infeksi HIV-1 terhadap limfosit T CD4⁺ pada fase binding (tahap *entry*) pada kelompok perlakuan ($p < 0,05$). Sedangkan pada pengamatan hari ke-7 nilai rata-rata lebih sedikit pada kelompok kontrol (1,04) daripada kelompok perlakuan (2,00), hal ini menunjukkan bahwa IgY Spesifik anti HIV-1 efektif dalam menghambat infeksi HIV-1 terhadap limfosit T CD4⁺ pada fase binding (tahap *entry*) pada kelompok perlakuan pada pengamatan hari ke-7 ($p < 0,05$). IgY Spesifik anti HIV-1 memiliki pengaruh langsung terhadap reseptor CD4 sebesar 61,4%. Nilai rata-rata densitas/kepadatan reseptor CCR5 lebih sedikit pada kelompok kontrol (0,78) daripada kelompok perlakuan (0,80), berdasarkan rata-rata densitas/kepadatan reseptor CCR5 menunjukkan bahwa IgY Spesifik anti HIV-1 dapat menghambat infeksi HIV-1 terhadap limfosit T CD4⁺ pada fase binding (tahap *entry*) pada kelompok perlakuan pada pengamatan 24

jam, namun tidak menunjukkan keefektifan yang signifikan ($p>0,05$). Sedangkan nilai rata-rata densitas/kepadatan reseptor CCR5 lebih sedikit pada kelompok kontrol (0,92) daripada kelompok perlakuan (1,34), hal ini menunjukkan bahwa IgY Spesifik anti HIV-1 efektif dalam menghambat infeksi HIV-1 terhadap limfosit T CD4⁺ pada fase binding (tahap *entry*) pada kelompok perlakuan pada pengamatan hari ke-7 ($p<0,05$). IgY Spesifik anti HIV-1 memiliki pengaruh tidak langsung terhadap reseptor CCR5 sebesar 46,1%. Nilai rata-rata densitas/kepadatan reseptor CXCR4 lebih banyak pada kelompok kontrol (0,2) daripada kelompok perlakuan (0,16), hal ini menunjukkan bahwa IgY Spesifik anti HIV-1 tidak menunjukkan efektifitas dalam menghambat infeksi HIV-1 terhadap Limfosit T CD4⁺ pada fase binding (tahap *entry*) pada kelompok perlakuan pada pengamatan 24 jam ($p>0,05$). Sedangkan nilai rata-rata densitas/kepadatan reseptor CXCR4 lebih sedikit pada kelompok kontrol (0,4) daripada kelompok perlakuan (0,9), hal ini menunjukkan bahwa IgY spesifik anti HIV-1 efektif dalam menghambat infeksi HIV-1 terhadap limfosit T CD4⁺ pada fase binding (tahap *entry*) pada kelompok perlakuan pada pengamatan hari ke-7 ($p<0,05$).

Kesimpulan dari penelitian ini, IgY Spesifik anti HIV-1 efektif dalam menghambat terbentuknya *syncytium* pada infeksi HIV-1 terhadap limfosit T CD4⁺ pada fase binding (tahap *entry*) pada kelompok perlakuan pada pengamatan 24 jam dan hari ke-7. Hasil pemeriksaan densitas/kepadatan reseptor CD4 menggunakan metode Imunohistokimia IgY Spesifik anti HIV-1 efektif dalam menghambat infeksi HIV-1 terhadap limfosit T CD4⁺ pada fase binding (tahap *entry*) pada kelompok perlakuan pada pengamatan 24 jam dan hari ke-7. Hasil pemeriksaan densitas/kepadatan reseptor CCR5 menggunakan metode Imunohistokimia menunjukkan bahwa IgY spesifik anti HIV-1 dapat menghambat infeksi HIV-1 terhadap limfosit T CD4⁺ pada fase binding (tahap *entry*) pada kelompok perlakuan, namun tidak menunjukkan keefektifan yang signifikan pada pengamatan 24 jam, sedangkan pada pengamatan hari ke-7 menunjukkan bahwa IgY spesifik anti HIV-1 efektif dalam menghambat infeksi HIV-1 terhadap limfosit T CD4⁺ pada fase binding (tahap *entry*) pada kelompok perlakuan, pada pemeriksaan densitas/kepadatan reseptor CXCR4 menunjukkan bahwa IgY spesifik anti HIV-1 tidak menunjukkan efektifitas dalam menghambat infeksi HIV-1 terhadap limfosit T CD4⁺ pada fase binding (tahap *entry*) pada kelompok perlakuan pada pengamatan 24 jam, sedangkan pada pengamatan hari ke-7 menunjukkan bahwa IgY spesifik anti HIV-1 efektif dalam menghambat infeksi HIV-1 terhadap limfosit T CD4⁺ pada fase binding (tahap *entry*) pada kelompok perlakuan.

Temuan baru pada penelitian ini, terbukti bahwa IgY Spesifik anti HIV-1 efektif dalam menghambat terjadinya infeksi HIV-1 pada sel limfosit T CD4⁺ melalui mekanisme hambatan pada fase *binding* antara gp120 pada HIV-1 dengan reseptor CD4, CCR5, dan CXCR4 limfosit T CD4⁺.

Berdasarkan hasil penelitian ini, untuk mendapatkan manfaat klinis, perlu dilakukan penelitian lanjutan dengan menggunakan hewan coba untuk dilakukan uji tantang dan selanjutnya diaplikasikan untuk manusia sebagai obat per oral maupun intravena.

SUMMARY

In Vitro Inhibiting Mechanism of Anti HIV-1 Specific IgY to HIV-1 Infections at Binding Stage Between Gp120 and Receptor CD4, CCR5 and CXCR4 of CD4⁺ T Lymphocytes

HIV is a cytopathic virus classified in retroviridae family, lentivirinae subfamily, lentivirus genus. Based on its structure, HIV is different from other retroviruses. There are two types of HIV, i.e. HIV-1 and HIV-2. The former causes infections throughout the world, but the latter is limited only in West Africa. In 2017, the number of patients with HIV/AIDS in the world increased by 36.9 million, 25.7 million of them came from Africa and 3.5 million came from Southeast Asia as the second highest case. The Asia Pacific continent is indicated to have the highest rate of HIV infections in the world, especially India, China and Indonesia, which becomes the country with the world largest population. WHO and UNAIDS, as two world organizations concerning health, gave warning of danger to the three countries in Asia which are currently stated to be at the point of HIV infections. It can even be said that the country is now in a serious position.

The provinces with the highest number of HIV infections in Indonesia include DKI Jakarta, East Java, West Java, Papua and Central Java, respectively. Surabaya has the highest case of ODHA from 38 districts/cities that do HIV testing in East Java. Based on the data, it means that the case of HIV/AIDS has become a major challenge and threat to almost all provinces and districts/cities in Indonesia.

Vaccine for HIV infection has not been found and antiretrovirals are only able to suppress infection, but do not cure the individuals with HIV/AIDS. Meanwhile, once an individual is infected, he will be suffered it forever since HIV genes will insert in to infected host cell genes. Substitutive therapy is thus needed to replace the immune system by using immunotherapy that has decreased.

The use of immunoglobulins as immunotherapy is one way to improve the immune system as the prevention from morbidity and mortality of patients with HIV/AIDS. It is necessary to search for and find materials that contain lots of immunoglobulin as immunotherapy in patients with HIV/AIDS.

The use of IgY as a specific immunoglobulin has been widely applied, among others is the use of Rotamix IgY orally for the treatment of diarrhea in children, H5N1, and influenza B. However, related studies have not been found yet on the use of anti-HIV-1 Specific IgY. The success of IgY in previous studies can also open the chance of success in the application of its usage as anti-HIV-1 Specific antibodies. Therefore, the present study focuses on evaluating the immunogenic nature of HIV-1 as a trigger for the immune response of laying hens, especially the humoral response formations of anti-HIV-1 Specific IgY in chicken yolks injected with intramuscularly inactivated HIV-1 virus and analysis of the effectiveness of anti-HIV-1 Specific IgY in inhibiting HIV-1 infections so that it can be used as an immune therapy to prevent morbidity and mortality of patients with HIV-1.



This type of the present study is a true experimental research to reveal neutralization activity test of anti-HIV-1 Specific IgY using Syncytium formation test method. The density of receptor CD4, CCR5 and CXCR4 were then examined. The research design was post-test only control group. It consisted of two groups, i.e. the control group (not subjected to treatment) and the experimental group (subjected to treatment). The data obtained is then analyzed descriptively and inferentially. Data analyzed descriptively was used to determine the average value of the formation of syncytium and density of CD4, CCR5 and CXCR4 receptors, while inferential analysis used was the t test, Anova test, and Mann Whitney test.

The IgY test material was obtained from Lohmann laying hens yolks immunized with the inactivated HIV-1 virus. Before performing the neutralization activity test, IgY powder characterization was carried out to prove that the IgY was Specific anti-HIV-1 using the AGPT, Elisa, SDS-Page and Western blot methods. The next step was a test to assess the neutralization activity of anti-HIV-1 Specific IgY with the Syncytium formation test method and the density of receptor CD4, CCR5 and CXCR4 using immunohistochemical methods.

Based on the characterization test, it found that the powder was anti HIV-1 specific IgY indicated by the precipitation line in the AGPT test, the presence of absorbance (Optical Density=OD) values that exceeded the cut off value on Elisa examination and the presence of molecular weight corresponding to the heavy chain and light chain IgY on SDS-Page and Western blot examinations. The formation of syncytium molecule at 24 hour observation was more in average in the control group (28.95) than the treatment group (14.9) and smaller at 7th day observation in the group control (92.20) than the treatment group (24.07). This shows that anti-HIV-1 Specific IgY is effective for inhibiting the formation of Syncytium in HIV-1 infection against CD4 + T lymphocytes at binding stage (entry stage) at 24-hour and 7th day observations ($p < 0.05$). The results of the average values at density of receptor CD4 test at 24 hour observation using immunohistochemistry were lower in the control group (0.10) than the treatment group (0.84). This indicates that anti-HIV-1 Specific IgY is effective for inhibiting HIV-1 infections against T CD4 + lymphocytes at binding stage in the treatment group at 24-hour observation ($p < 0.05$). Meanwhile, the average value at 7th day observation was lower in the control group (1.04) than the treatment group (2.00). This indicates that anti-HIV-1 Specific IgY is effective for inhibiting HIV-1 infections against lymphocytes T CD4⁺ at binding stage in the treatment group at 7th day observation ($p < 0.05$). Anti-HIV-1 specific IgY has direct effects on receptor CD4 by 61.4%. The average values in the density of receptor CCR5 was lower in the control group (0.78) than the treatment group (0.80). It indicates that anti-HIV-1 Specific IgY can inhibit HIV-1 infections against the binding stage of CD4⁺ T lymphocytes in the treatment group at 24 hour observation, but it does not show significant effectiveness ($p > 0.05$). Meanwhile, the average values in the density of receptor CCR5 was lower in the control group (0.92) than in the treatment group (1.34). This indicates that anti-HIV-1 Specific IgY is effective for inhibiting HIV-1 infections against CD4⁺ T lymphocytes at binding stage in the treated group at 7th day observation ($p < 0.05$). Anti-HIV-1 Specific IgY has indirect effects on receptor CCR5 of 46.1%. The average value in the density of receptor CXCR4 was higher in the control group (0.2) than in the treatment group

(0.16). This indicates that anti-HIV-1 Specific IgY is not effective for inhibiting HIV-1 infections against CD4⁺ T lymphocytes at binding stage in the treated group at 24 hour observation ($p > 0.05$). Meanwhile, the average values in the density of receptor CXCR4 was lower in the control group (0.4) than in the treatment group (0.9). This indicates that anti-HIV-1 Specific IgY is effective for inhibiting HIV-1 infections against CD4⁺ T lymphocytes at binding stage in the treated group at 7th day observation ($p < 0.05$).

Based on the findings above, it can be concluded that anti-HIV-1 Specific IgY was effective for inhibiting syncytium formation in HIV-1 infections against CD4⁺ T lymphocytes at the binding stage in the treatment group at 24 hour and 7th day observations. The results of examination on the density of receptor CD4 using an anti-HIV-1 Specific IgY immunohistochemistry method were effective in inhibiting HIV-1 infection against CD4⁺ T lymphocytes in the binding stage (entry stage) in the treatment group on 24-hour observation and 7th day. The results of the CCR5 density test using Immunohistochemistry method revealed that anti-HIV-1 specific IgY could inhibit HIV-1 infection against CD4⁺ T lymphocytes in the binding phase (entry stage) in the treatment group, but did not show significant effectiveness at 24-hour observation, whereas on the 7th day observation it revealed that anti-HIV-1 specific IgY was effective in inhibiting HIV-1 infection against CD4⁺ T lymphocytes in the binding phase (entry stage) in the treatment group, on examination of CXCR4 receptor density revealed that anti-HIV-1 specific IgY did not show effectiveness in inhibiting HIV-1 infection against CD4⁺ T lymphocytes in the binding phase (entry stage) in the treatment group at 24-hour observation, whereas on the 7th day observation it revealed that anti-HIV-1 specific IgY was effective in inhibiting HIV-1 infection against CD4⁺ T lymphocytes in the binding phase (entry stage) in the treatment group.

The findings of the present study reveals that anti-HIV-1 Specific IgY is effective for inhibiting HIV-1 infections in CD4⁺ T lymphocyte cells through a mechanism of stage binding between gp120 on HIV-1 with receptor CD4, CCR5, and CXCR4 of CD4⁺ T lymphocytes.

The conclusion to obtain clinical benefits, further research is needed by using trial animals to be challenged and then applied to humans as an oral or intravenous drug.

ABSTRACT

In Vitro Inhibiting Mechanism of Anti HIV-1 Specific IgY to HIV-1 Infections at Binding Stage Between Gp120 and Receptor CD4, CCR5 and CXCR4 of CD4⁺ T Lymphocytes

Wiwiek Indriyani Maskoep

Background : *HIV is a cytopathic virus causing HIV/AIDS infections: HIV-1 (which infects the whole world individuals) and HIV-2. Vaccine for HIV infection has not been found and antiretrovirals are only able to suppress infection. An immunotherapy using immunoglobulin-containing ingredients for treating patients with HIV/AIDS patients should be found. The successful use of IgY (Rotamix IgY orally for the treatment of diarrhea in children, H5N1, and Influenza B) has opened wider opportunities for the use of anti-HIV-1 specific IgY obtained from Lohmann laying hens yolks immunized with the inactivated HIV-1 virus as passive immunotherapy.*

Methods: *This was a true experimental research to reveal the neutralization activity of anti-HIV-1 specific IgY using syncytium formation test method, and the density of receptor CD4, CCR5 and CXCR4 were then examined. The research design was post-test only control group.*

Results: *The formation of the Syncytium molecule showed that anti-HIV-1 specific IgY was effective for inhibiting the formation of Syncytium in HIV-1 infections against CD4⁺ T lymphocytes in the binding stage (entry stage) at 24-hour observation and 7th day ($p < 0.05$). The results of CD4 receptor density using immunohistochemistry method revealed that anti-HIV-1 specific IgY was effective in inhibiting HIV-1 infection against CD4⁺ T lymphocytes at the binding stage in the treatment group at 24 hour and 7th day observations. The same method done to the CCR5 revealed that anti-HIV-1 specific IgY could inhibit HIV-1 infection against CD4⁺ T lymphocytes in the binding stage, but did not show significant effectiveness ($p\text{-value} > 0.05$) at 24-hour observation, whereas on the 7th day observation anti-HIV-1 specific IgY was effective in inhibiting HIV-1 infection against CD4⁺ T lymphocytes in the binding stage ($p\text{-value} < 0.05$). Examination of CXCR4 receptor density revealed that anti HIV-1 specific IgY did not show effectiveness in inhibiting HIV-1 infection against CD4⁺ T lymphocytes in the binding stage at 24-hour observation ($p\text{-value} > 0.05$), whereas on the 7th day observation anti-HIV-1 specific IgY was effective in inhibiting HIV-1 infection against CD4⁺ T lymphocytes in the binding stage ($p\text{-value} < 0.05$).*

Conclusion: *Anti-HIV-1 specific IgY was effective in inhibiting HIV-1 infection against CD4⁺ T lymphocytes in the binding stage (entry stage).*

Keywords: *Anti HIV-1 Specific IgY, HIV-1, Syncytium, Receptor CD4, CCR5 and CXCR4*





DAFTAR ISI

SAMPUL DALAM.....	i
HALAMAN AWAL DISERTASI.....	ii
HALAMAN PRASYARAT GELAR.....	iii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iv
HALAMAN PENETAPAN PANITIA PENGUJI.....	v
HALAMAN UCAPAN TERIMA KASIH.....	vi
RINGKASAN.....	xi
SUMMARY.....	xiv
ABSTRACT.....	x/vii
DAFTAR ISI.....	xviii
DAFTAR TABEL.....	xxiii
DAFTAR GAMBAR.....	xxv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xxvii
DAFTAR ISTILAH, SINGKATAN DAN LAMBANG.....	xxviii
BAB 1 PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	9
1.3 Tujuan	9
1.3.1 Tujuan Umum.....	9
1.3.2 Tujuan Khusus.....	10
1.4 Manfaat	11
1.4.1 Manfaat Teoritis.....	11
1.4.2 Manfaat Praktis.....	11
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	12
2.1 HIV-1/AIDS.....	12
2.1.1 Definisi HIV-1/AIDS.....	12
2.1.2 Epidemiologi HIV-1/AIDS.....	16
2.1.3 Transmisi Infeksi HIV-1.....	26
2.1.4 Patogenesis HIV-1/AIDS.....	27
2.1.5 Perjalanan Infeksi HIV-1.....	37
2.1.6 Manifestasi Klinis.....	42
2.1.7 Diagnosis Infeksi HIV-1/AIDS.....	48
2.1.8 Pemeriksaan Laboratorium Infeksi HIV-1.....	48
2.1.9 Deteksi HIV-1.....	54
2.1.10 Terapi Infeksi HIV-1/AIDS.....	56
2.1.11 Prinsip Pemberian ARV.....	59
2.1.12 Mutasi Gen.....	68
2.1.13 Pertahanan Tubuh <i>Host</i> terhadap Infeksi Virus.....	69
2.1.13.1 Respon Imun <i>Innate</i>	70
2.1.13.2 Respon Imun <i>Adaptive</i>	71
2.2 Terapi Imun.....	94
2.3 Immunoglobulin Y (IgY).....	96
2.4 Ekstraksi dan Purifikasi IgY.....	105
2.5 Penggunaan IgY spesifik anti HIV-1 dalam Uji Pembentukan	

	(Syncytium).....	105
2.6	Penggunaan Ig Y sebagai Imunoterapi (Imunisasi Pasif).....	106
2.7	Kerangka Teori.....	109
BAB 3	KERANGKA KONSEPTUAL.....	112
3.1	Kerangka Konseptual.....	112
3.2	Penjelasan Kerangka Konseptual.....	113
3.3	Hipotesis Penelitian.....	114
BAB 4	METODE PENELITIAN.....	115
4.1	Jenis Penelitian.....	115
4.2	Rancangan Penelitian.....	116
4.3	Populasi, Besar Sampel dan Teknik Pengambilan Sampel.....	116
4.4	Unit Eksperimen.....	116
4.5	Replikasi.....	116
4.6	Variabel Penelitian.....	117
4.7	Definisi Operasional Variabel Penelitian.....	118
4.8	Bahan Penelitian.....	122
4.9	Alat Penelitian.....	123
4.10	Lokasi dan Waktu Penelitian.....	123
4.10.1	Lokasi Penelitian.....	123
4.10.2	Waktu Penelitian.....	124
4.11	Pelaksanaan Penelitian.....	124
4.11.1	Produksi dan Karakterisasi IgY Spesifik Anti HIV-1.....	124
4.11.2	Uji aktivitas Netralisasi IgY spesifik anti HIV-1 terhadap virus HIV-1 dengan metode uji pembentukan <i>syncytium</i>	135
4.12	Analisis Data.....	143
4.13	Kerangka Operasional.....	145
BAB 5	HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA	146
5.1	Uji Konsentrasi IgY Dengan Metode <i>Bradford</i>	147
5.2	Uji Karakterisasi IgY Spesifik Anti HIV-1 dengan Metode AGPT, ELISA, SDS_PAGE dan western Blot.....	149
5.2.1	Uji Karakterisasi IgY Spesifik Anti HIV-1 Secara Kualitatif dengan Metode AGPT.....	150
5.2.2	Uji Karakterisasi IgY Spesifik Anti HIV-1 Secara Kualitatif dengan Metode ELISA (<i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i>).....	151
5.2.3	Uji Karakterisasi IgY Spesifik Anti HIV-1 Secara Kuantitatif dengan Metode SDS-Page.....	153
5.2.4	Uji Karakterisasi IgY Spesifik Anti HIV-1 Secara Kuantitatif dengan Metode Western Blot.....	155
5.3	Uji Keefektifan IgY Spesifik Anti HIV-1 dalam Menghambat Pembentukan Syncytium pada Infeksi HIV-1 terhadap Limfosit T CD4 ⁺ pada Fase Binding (Tahap Entry) pada Kelompok Perlakuan dan Kontrol pada Pengamatan 24 Jam dan hari ke-7.....	157
5.3.1	Isolasi PBMC (<i>Peripheral Blood Monoclear Cells</i>) Sehat.....	157
5.3.2	Isolasi PBMC (<i>Peripheral Blood Monoclear Cells</i>) Sakit.....	157
5.3.3	Analisis Deskriptif IgY Spesifik anti HIV-1 Efektif dalam	

	Menghambat Pembentukan Syncytium pada infeksi HIV-1 terhadap Limfost T CD4 ⁺ pada Fase Binding (Tahap Entry) pada Kelompok Perlakuan dan Kontrol pada Pengamatan 24 Jam dan hari ke-7.....	158
5.3.4	Uji Pengaruh Keefektifan Pemberian IgY Spesifik anti HIV-1 dalam Menghambat Pembentukan Syncytium pada infeksi HIV-1 terhadap Limfost T CD4 ⁺ pada Fase Binding (Tahap Entry) pada Kelompok Perlakuan dan Kontrol pada Pengamatan 24 Jam dan hari ke-7.....	161
5.3.5	Uji Normalitas data dari Hasil pembentukan Syncytium Pada Infeksi HIV-1 dalam terhadap Limfost T CD4 ⁺ pada Fase Binding (Tahap Entry) pada Kelompok Perlakuan dan Kontrol pada Pengamatan 24 Jam dan hari ke-7.....	161
5.3.6	Uji Pengaruh Keefektifan Pemberian IgY Spesifik anti HIV-1 dalam Menghambat Pembentukan Syncytium pada infeksi HIV-1 terhadap Limfost T CD4 ⁺ pada Fase Binding (Tahap Entry) pada Kelompok Perlakuan dan Kontrol pada Pengamatan 24 Jam dan hari ke-7.....	163
5.3.7	Hasil Perhitungan IC ₅₀ Dan IC ₉₀ pada Pengamatan 24 Jam.....	166
5.4	Analisis Efektifitas IgY Spesifik anti HIV-1 Efektif dalam Menghambat infeksi HIV-1 terhadap Limfost T CD4 ⁺ pada Fase Binding (Tahap Entry) dengan Pemeriksaan densitas/Kepadatan Reseptor CD4, CCR5 dan CXCR4 pada Kelompok Perlakuan dan Kontrol pada Pengamatan 24 Jam dan hari ke-7.....	168
5.4.1	Analisis Deskriptif Denstias/Kepadatan Reseptor CD4 dalam Menghambat infeksi HIV-1 terhadap Limfost T CD4 ⁺ pada Fase Binding (Tahap Entry) pada Kelompok Perlakuan dan Kontrol pada Pengamatan 24 Jam dan hari ke-7 Menggunakan Metode Imunohistokimia.....	169
5.4.2	Uji Pengaruh Keefektifan Pemberian IgY Spesifik anti HIV-1 dalam Menghambat infeksi HIV-1 terhadap Limfost T CD4 ⁺ pada Fase Binding (Tahap Entry) dengan Pemeriksaan densitas/Kepadatan Reseptor CD4, CCR5 dan CXCR4 pada Kelompok Perlakuan dan Kontrol pada Pengamatan 24 Jam dan hari ke-7 Menggunakan Metode Imunohistokimia.....	172
5.4.3	Uji Normalitas Data Denstias/Kepadatan Reseptor CD4 dalam Menghambat infeksi HIV-1 terhadap Limfost T CD4 ⁺ pada Fase Binding (Tahap Entry) pada Kelompok Perlakuan dan Kontrol pada Pengamatan 24 Jam dan hari ke-7 Menggunakan Metode Imunohistokimia.....	173
5.4.4	Analisis Deskriptif Denstias/Kepadatan Reseptor CCR5 dalam Menghambat infeksi HIV-1 terhadap Limfost T CD4 ⁺ pada Fase Binding (Tahap Entry) pada Kelompok Perlakuan dan Kontrol pada Pengamatan 24 Jam dan hari ke-7 Menggunakan Metode Imunohistokimia.....	175
5.4.5	Uji Pengaruh Keefektifan Pemberian IgY Spesifik anti HIV-1 dalam Menghambat infeksi HIV-1 terhadap Limfost T CD4 ⁺ pada Fase Binding (Tahap Entry) dengan Pemeriksaan densitas/Kepadatan	

	Reseptor CCR5 pada Kelompok Perlakuan dan Kontrol pada Pengamatan 24 Jam dan hari ke-7 Menggunakan Metode Imunohistokimia.....	178
5.4.6	Uji Normalitas Data Denstitas/Kepadatan Reseptor CCR5 dalam Menghambat infeksi HIV-1 terhadap Limfost T CD4 ⁺ pada Fase Binding (Tahap Entry) pada Kelompok Perlakuan dan Kontrol pada Pengamatan 24 Jam dan hari ke-7 Menggunakan Metode Imunohistokimia.....	179
5.4.7	Analisis Deskriptif Denstitas/Kepadatan Reseptor CXCR4 dalam Menghambat infeksi HIV-1 terhadap Limfost T CD4 ⁺ pada Fase Binding (Tahap Entry) pada Kelompok Perlakuan dan Kontrol pada Pengamatan 24 Jam dan hari ke-7 Menggunakan Metode Imunohistokimia.....	181
5.4.8	Uji Pengaruh Keefektifan Pemberian IgY Spesifik anti HIV-1 dalam Menghambat infeksi HIV-1 terhadap Limfost T CD4 ⁺ pada Fase Binding (Tahap Entry) dengan Pemeriksaan densitas/Kepadatan Reseptor CXCR4 pada Kelompok Perlakuan dan Kontrol pada Pengamatan 24 Jam dan hari ke-7 Menggunakan Metode Imunohistokimia.....	184
5.4.9	Uji Normalitas Data Denstitas/Kepadatan Reseptor CXCR4 dalam Menghambat infeksi HIV-1 terhadap Limfost T CD4 ⁺ pada Fase Binding (Tahap Entry) pada Kelompok Perlakuan dan Kontrol pada Pengamatan 24 Jam dan hari ke-7 Menggunakan Metode Imunohistokimia.....	185
5.5	Uji Analisis Jalur Keefektifan Pemberian IgY Spesifik anti HIV-1 Dalam Menghambat Infeksi HIV-1 terhadap Limfosit T CD4 ⁺ pada Fase Binding (Tahap Entry) dengan Pemeriksaan densitas/Kepadatan Reseptor CD4, CCR5 dan CXCR4 pada Kelompok Perlakuan dan Kontrol pada Pengamatan 24 Jam dan hari ke-7 Menggunakan Metode Imunohistokimia.....	187
BAB 6	PEMBAHASAN.....	191
6.1	Uji Konsentrasi IgY Dengan Metode <i>Bradford</i>	191
6.2	Uji Karakterisasi IgY spesifik anti HIV-1 Menggunakan Metode AGPT.....	192
6.3	Uji Karakterisasi IgY spesifik anti HIV-1 Secara Kualitatif Menggunakan Metode ELISA.....	194
6.4	Uji Karakterisasi IgY spesifik anti HIV-1 Secara Kuantitatif Menggunakan Metode SDS-Page.....	195
6.5	Uji Karakterisasi IgY spesifik anti HIV-1 Secara Kuantitatif Menggunakan Metode Western Blot.....	195
6.6	Pengaruh keefektifan IgY Spesifik Anti HIV-1 dalam Menghambat Pembentukan Syncytium pada infeksi HIV-1 terhadap Limfost T CD4 ⁺ pada Fase Binding (Tahap Entry) pada Kelompok Perlakuan dan Kontrol pada Pengamatan 24 Jam dan hari ke-7 Menggunakan Metode Imunohistokimia.....	196
6.7	Pengaruh keefektifan Pemberian IgY Spesifik Anti HIV-1 dalam	

	Menghambat infeksi HIV-1 terhadap Limfost T CD4 ⁺ pada Fase Binding (Tahap Entry) dengan dengan Pemeriksaan densitas/ Kepadatan Reseptor CD4 pada Kelompok Perlakuan dan Kontrol pada Pengamatan 24 Jam dan hari ke-7 Menggunakan Metode Imunohistokimia.....	198
6.8	Pengaruh keefektifan Pemberian IgY Spesifik Anti HIV-1 dalam Menghambat infeksi HIV-1 terhadap Limfost T CD4 ⁺ pada Fase Binding (Tahap Entry) dengan dengan Pemeriksaan densitas/ Kepadatan Reseptor CCR5 pada Kelompok Perlakuan dan Kontrol pada Pengamatan 24 Jam dan hari ke-7 Menggunakan Metode Imunohistokimia.....	200
6.9	Pengaruh keefektifan Pemberian IgY Spesifik Anti HIV-1 dalam Menghambat infeksi HIV-1 terhadap Limfost T CD4 ⁺ pada Fase Binding (Tahap Entry) dengan dengan Pemeriksaan densitas/ Kepadatan Reseptor CD4 pada Kelompok Perlakuan dan Kontrol pada Pengamatan 24 Jam dan hari ke-7 Menggunakan Metode Imunohistokimia.....	202
6.10	Temuan Baru.....	203
BAB 7 PENUTUP.....		205
7.1	Kesimpulan.....	205
7.2	Saran.....	206
DAFTAR PUSTAKA		207

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Stadium Klinis Menurut WHO.....	46
Tabel 2.2	Gejala Mayor dan Minor pada Pasien HIV-1 dan AIDS (Orang Dewasa).....	48
Tabel 2.3	Tes Diagnosis Untuk Infeksi HIV-1.....	54
Tabel 2.4	Beberapa Obat ARV.....	62
Tabel 4.1	Definisi Operasional Variabel Penelitian.....	118
Tabel 4.2	Waktu Penelitian.....	124
Tabel 5.1	Pengukuran Larutan Standart BSA (Bovine Serum Albumin)	148
Tabel 5.2	Konsentrasi Immunoglobulin Y (IgY) sebelum dan sesudah Imunisasi.....	149
Tabel 5.3	Konsentrasi IgY Spesifik anti HIV-1 dengan metode ELISA	153
Tabel 5.4	Distribusi frekuensi pembentukan <i>Syncytium</i> kelompok perlakuan dan kontrol pada pengamatan 24 jam dan hari ke-7.....	159
Tabel 5.5	Uji normalitas data dari hasil uji pembentukan <i>Syncytium</i> pada pengamatan 24 jam dan hari ke-7.....	162
Tabel 5.6	Uji kesamaan varian (homogenitas) data dari hasil uji pembentukan <i>Syncytium</i> yang diinfeksi HIV-1 terhadap limfosit T CD4 ⁺ pada pengamatan 24 jam dan hari ke-7.....	162
Tabel 5.7	Hasil analisis uji efektifitas pembentukan <i>Syncytium</i> di setiap konsentrasi pada pengamatan 24 jam dan hari ke-7.....	164
Tabel 5.8	Hasil analisis kesamaan varian (homogenitas).....	165
Tabel 5.9	Hasil analisis pengaruh keefektifan pemberian IgY spesifik anti HIV-1 terhadap pembentukan <i>Syncytium</i> pada pengamatan 24 jam.....	165
Tabel 5.10	Uji <i>chi square</i>	167
Tabel 5.11	Hasil uji pengaruh.....	167
Tabel 5.12	Konsentrasi IgY spesifik anti HIV-1 yang efektif menghambat proses pembentukan <i>Syncytium</i> pada pengamatan 24 Jam.....	168
Tabel 5.13	Distribusi frekuensi densitas/kepadatan reseptor CD4 pada pengamatan 24 jam dan hari ke-7 menggunakan metode Imunohistokimia.....	171
Tabel 5.14	Uji normalitas data densitas/kepadatan reseptor CD4 pada pengamatan 24 jam dan hari ke-7 menggunakan metode Imunohistokimia.....	173
Tabel 5.15	Uji kesamaan varian (homogenitas) data densitas/kepadatan reseptor CD4 pada pengamatan 24 jam dan hari ke-7 menggunakan metode Imunohistokimia.....	174
Tabel 5.16	Hasil analisis pengaruh keefektifan pemberian IgY spesifik anti HIV-1 dalam menghambat infeksi HIV-1 terhadap limfosit T CD4 ⁺ dengan pemeriksaan densitas/kepadatan reseptor CD4 pada pengamatan 24 jam dan hari ke-7 menggunakan metode Imunohistokimia.....	174
Tabel 5.17	Distribusi frekuensi densitas/kepadatan reseptor CCR5 pada	

	pengamatan 24 jam dan hari ke-7 menggunakan metode Imunohistokimia.....	177
Tabel 5.18	Uji normalitas data densitas/kepadatan reseptor CCR5 pada pengamatan 24 jam dan hari ke-7 menggunakan metode Imunohistokimia.....	179
Tabel 5.19	Uji kesamaan varian (homogenitas) data densitas/kepadatan reseptor CCR5 pada pengamatan 24 jam dan hari ke-7 menggunakan metode Imunohistokimia.....	180
Tabel 5.20	Hasil analisis pengaruh keefektifan pemberian IgY spesifik anti HIV-1 dalam menghambat infeksi HIV-1 terhadap limfosit T CD4 ⁺ dengan pemeriksaan densitas/kepadatan reseptor CCR5 pada pengamatan 24 jam dan hari ke-7 menggunakan metode Imunohistokimia.....	180
Tabel 5.21	Distribusi frekuensi densitas/kepadatan reseptor CXCR4 pada pengamatan 24 jam dan hari ke-7 menggunakan metode Imunohistokimia.....	183
Tabel 5.22	Uji normalitas data densitas/kepadatan reseptor CXCR4 pada pengamatan 24 jam dan hari ke-7 menggunakan metode Imunohistokimia.....	185
Tabel 5.23	Hasil analisis pengaruh keefektifan pemberian IgY spesifik anti HIV-1 dalam menghambat infeksi HIV-1 terhadap limfosit CD4 ⁺ dengan pemeriksaan densitas/kepadatan reseptor CXCR4 pada pengamatan 24 jam dan hari ke-7 menggunakan metode Imunohistokimia.....	186
Tabel 5.24	Hasil analisis jalur keefektifan pemberian IgY spesifik anti HIV-1 dalam menghambat infeksi HIV-1 terhadap limfosit T CD4 ⁺ dengan pemeriksaan densitas/kepadatan reseptor CD4, CCR5 dan CXCR4 pada pengamatan 24 jam dan hari ke-7 menggunakan metode imunohistokimia.....	188

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Struktur Virus HIV-1.....	16
Gambar 2.2	Grafik Jumlah HIV dan AIDS yang dilaporkan per Tahun 2005 sampai dengan Maret 2017.....	21
Gambar 2.3	Jumlah Infeksi HIV yang Dilaporkan Menurut Kelompok Umur mulai Tahun 2010 sampai dengan Maret 2017.....	21
Gambar 2.4	Jumlah Infeksi HIV yang Dilaporkan Menurut Jenis Kelamin mulai Tahun 2008 sampai dengan Maret 2017.....	22
Gambar 2.5	Jumlah Infeksi HIV yang Dilaporkan Menurut Faktor Risiko mulai Tahun 2010 sampai dengan Maret 2017.....	22
Gambar 2.6	10 Provinsi yang Melaporkan Kasus HIV Terbanyak mulai Tahun 2009 sampai dengan Maret 2017.....	23
Gambar 2.7	Grafik Tren Jumlah Kasus HIV, AIDS, ARV serta jumlah layanan ARV per tahun di Jawa Timur Tahun 2013 sampai dengan 2017.....	24
Gambar 2.8	Penemuan Kasus HIV Positif Per Kabupaten/Kota di Jawa Timur Tahun 2017.....	25
Gambar 2.9	Target yang dikenali oleh antibodi netralisasi terhadap HIV-1.....	30
Gambar 2.10	Siklus Replikasi HIV-1.....	61
Gambar 2.11	Target yang dikenali oleh antibodi netralisasi terhadap HIV-1.....	77
Gambar 2.12	Fungsi Antibodi.....	77
Gambar 2.13	Imunisasi Pasif.....	108
Gambar 2.14	Kerangka Teori.....	109
Gambar 3.1	Kerangka Konseptual.....	112
Gambar 4.1	Skema prosedur produksi IgY spesifik anti HIV-1.....	127
Gambar 4.2	Skema isolasi dan purifikasi IgY spesifik anti HIV-1.....	128
Gambar 4.3	Skema karakterisasi IgY.....	131
Gambar 4.4	Skema Kerja Inokulasi Virus HIV-1 Ke Sel PBMC Donor (Sehat).....	141
Gambar 4.5	Uji Kualitatif dan Kuantitatif Reseptor CD4, CCR5 dan CXCR4.....	142
Gambar 4.6	Kerangka Operasional Penelitian.....	145
Gambar 5.1	Kurva Standart BSA.....	148
Gambar 5.2	Hasil uji AGPT pada sampel sebelum imunisasi (A); 2 minggu pertama setelah imunisasi pertama (B); 2 minggu kedua setelah imunisasi kedua (4 minggu) (C); 2 minggu kedua setelah imunisasi ketiga (6 minggu) (D).....	150
Gambar 5.3	Hasil uji ELISA pada sampel sebelum imunisasi (A); Hasil uji ELISA pada sampel setelah imunisasi (B).....	151
Gambar 5.4	Hasil pemeriksaan SDS-Page: <i>line</i> 1,2,3,4,5,6,7, dan 8 adalah <i>band</i> sampel yang muncul; <i>line</i> X adalah <i>band</i> marker.....	154
Gambar 5.5	Hasil Western Blot <i>line</i> 1 adalah <i>band</i> marker; <i>line</i> 2,3, dan 4 adalah <i>band</i> sampel yang muncul.....	156

Gambar 5.6	PBMC sehat.....	157
Gambar 5.7	PBMC sakit (HIV-1).....	158
Gambar 5.8	Uji <i>Syncytium</i> kelompok perlakuan pada pengamatan 24 jam (A); Uji <i>Syncytium</i> kelompok kontrol pada pengamatan 24 jam (B).....	158
Gambar 5.9	Uji <i>Syncytium</i> kelompok perlakuan pada pengamatan hari ke-7 (A); Uji <i>Syncytium</i> kelompok kontrol pada pengamatan hari ke-7 (B).....	159
Gambar 5.10	Jumlah pembentukan molekul <i>Syncytium</i> kelompok perlakuan dan kontrol pada pengamatan 24 jam dan hari ke-7.....	160
Gambar 5.11	CD4 diberi IgY spesifik anti HIV-1 pada pengamatan 24 jam (A); CD4 tanpa diberi IgY spesifik anti HIV-1 pada pengamatan 24 jam (B).....	169
Gambar 5.12	CD4 diberi IgY spesifik anti HIV-1 pada pengamatan hari ke-7 (A); CD4 tanpa diberi IgY spesifik anti HIV-1 pada pengamatan hari ke-7 (B).....	170
Gambar 5.13	Jumlah densitas/kepadatan reseptor CD4 pada pengamatan 24 jam dan hari ke-7 menggunakan metode Imunohistokimia.....	172
Gambar 5.14	CCR5 diberi IgY spesifik anti HIV-1 pada pengamatan 24 jam (A); CCR5 tanpa diberi IgY spesifik anti HIV-1 pada pengamatan 24 jam (B).....	176
Gambar 5.15	CCR5 diberi IgY spesifik anti HIV-1 pada pengamatan hari ke-7 (A); CCR5 tanpa diberi IgY spesifik anti HIV-1 pada pengamatan hari ke-7 (B).....	176
Gambar 5.16	Jumlah densitas/kepadatan reseptor CCR5 pada pengamatan 24 Jam dan hari ke-7 menggunakan metode Imunohistokimia.....	178
Gambar 5.17	CXCR4 diberi IgY spesifik anti HIV-1 pada pengamatan 24 jam (A); CXCR4 tanpa diberi IgY spesifik anti HIV-1 pada pengamatan 24 jam (B).....	178
Gambar 5.18	CXCR4 diberi IgY spesifik anti HIV-1 pada pengamatan hari ke-7 (A); CXCR4 tanpa diberi IgY spesifik anti HIV-1 pada pengamatan hari ke-7 (B).....	184
Gambar 5.19	Jumlah densitas/kepadatan reseptor CXCR4 pada pengamatan 24 jam dan hari ke-7 menggunakan metode Imunohistokimia.....	184

DAFTAR LAMPIRAN

- Lampiran 1. *Informed Consent*
- Lampiran 2. Keterangan Lolos Kaji Etik
- Lampiran 3. Sertifikat Pengujian
- Lampiran 4. Prosedur ELISA
- Lampiran 5. Prosedur SDS-PAGE
- Lampiran 6. Prosedur Western Blott
- Lampiran 7. Hasil Pemeriksaan Brad Ford, ELISA, SDS-Page, Western Blott, Imunohistokimia
- Lampiran 8. Bukti Submit Jurnal 1
- Lampiran 9. Bukti Submit Jurnal 2
- Lampiran 10. Manuscribt Jurnal 1
- Lampiran 11. Hasil Analisis SPSS data Imunohistokimia dan *Syncytium*
- Lampiran 12. Dokumentasi Penelitian



DAFTAR ISTILAH, SINGKATAN DAN LAMBANG**SINGKATAN**

3TC	: Lamivudine
Ab	: Antibodi
ABC	: Abacavir
ADCC	: Antibody Dependent Cell Cytotoxicity
ANA	: Anti nuclear antibodies
Ag	: Antigen
AICD	: Activation Induced Cell Death
AIDS	: Acquired Immune Deficiency Syndrome
AIHA	: Autoimmune Hemolytic Anemia
AITP	: Auto immune Thrombocytopenic Purpura
AGPT	: Agar Gel Precipitation Test
APC	: Antigen Presenting Cell
APLA	: Anti Phospholipid Antibodi
APP	: Acute phase protein
APOBEC3G	: Apolipoprotein B RNA-Editing Enzyme
ARC	: AIDS-Related Complex
ART	: Antiretroviral Therapy
ARV	: Antiretroviral
ASI	: Air Susu Ibu
AZT	: Azidothymidine
BCDF	: B-Cell Differentiation Factors
BCGF	: B-Cell Growth Factors
b-DNA	: branched-chain DNA
BM	: Berat Molekul
BSA	: Bovine Serum Albumin
C	: constanta, Complement
CCR5	: Chemokine Receptor 5
CD4	: Cluster of Differentiation 4
CDC	: Center for Disease Control and Prevention
CRF	: Circulating Recombinant Form
CXCR4	: C-X-C Chemokine Receptor Type 4
DBS	: Dried Blood Spot
DMSO	: Dimetilsulfoksida
Ditjen PP&PL	: Direktorat Jenderal Pengendalian Penyakit dan Penyehatan
DTG	: Dolutegravir
EFV	: Efavirenz
EIA	: Enzyme Linked Immunoassay
ELISA	: Enzyme Linked Immunosorbent Assay
Env	: Envelope
Fab	: Fragment Antigen Binding
Fc	: Fragment Crystallizable
FCA	: Freund's complete adjuvant
FIA	: Freund's incomplete adjuvant
FTC	: Emtricitabine
Gp 120	: Glikoprotein 120

Gp 160	: <i>Glikoprotein 160</i>
Gp 41	: <i>Glikoprotein 41</i>
HAART	: <i>Highly Active Anti-Retroviral Therapy</i>
HIV-1	: <i>Human Immunodeficiency Virus</i>
HTLV-III	: <i>Human T-Cell Leukemia Virus III</i>
IFA	: <i>Indirect Immunofluorescence Assays</i>
IFN	: <i>Interferon</i>
Ig A	: <i>Immunoglobulin A</i>
Ig G	: <i>Immunoglobulin G</i>
Ig M	: <i>Immunoglobulin M</i>
Ig Y	: <i>Immunoglobulin Y</i>
IL	: <i>Interleukin</i>
IRIS	: <i>Immune Reconstitution Inflammatory Syndrome</i>
kDa	: <i>Kilo Dalton</i>
KDT	: <i>Kombinasi Dosis Terapi</i>
LAV	: <i>Lymphadenopathy-Associated Virus</i>
LSL	: <i>Lelaki Seks dengan Lelaki</i>
LTNP	: <i>Long Term Non Progressor</i>
LTR	: <i>Long Terminal Repeats</i>
MALT	: <i>Mucosal Associated Lymphoid Tissue</i>
MHC	: <i>Major Histocompatibility Complex</i>
MIP	: <i>Macrophage inflammatory protein</i>
mRNA	: <i>Messenger RNA</i>
NF- κ B	: <i>Nuclear Factor κB</i>
NASBA	: <i>Nucleic acid sequence-based amplification</i>
NK	: <i>Natural Killer</i>
NNRTI	: <i>Non Nucleosida reverse transcriptase inhibitors</i>
NSI	: <i>Non-syncitium-inducing</i>
NsRTI	: <i>Nucleosida reverse transcriptase inhibitors</i>
NVP	: <i>Nevirapine</i>
OD	: <i>Optical Density</i>
ODHA	: <i>orang dengan HIV-1/AIDS</i>
P24	: <i>Protein in Capsid HIV-1</i>
PBMC	: <i>Peripheral blood mononuclear cells</i>
PCR	: <i>Polymerase Chain Reaction</i>
PEG	: <i>Polietilen Glikol</i>
PGL	: <i>Persistent Generalized Lymphadenopathy</i>
PHBS	: <i>Perilaku Hidup Bersih dan Sehat</i>
PI	: <i>protease inhibitor</i>
PPVE	: <i>Pruritic papulovesicular eruption</i>
RAL	: <i>Raltegravir</i>
RANTES	: <i>Regulated on activation, normal T expressed and secreted</i>
RE	: <i>Retikulum Endoplasma</i>
RIPA	: <i>Radio Immunoprecipitation Assay</i>
RISC	: <i>RNAi-induced silencing complex</i>
RNA	: <i>Ribonucleic Acid</i>
SDF	: <i>Sel Dendritik Folikuler</i>
SDF-1	: <i>Stromal cell Derived Factor 1</i>

SDS-PAGE	: <i>Sodium Dodecyl Sulfate- Polyacrylamide Gel Elektrophoresis</i>
SLE	: <i>Systemic lupus erythematosus</i>
SI	: <i>Syncytium-inducing</i>
SsRNA	: <i>single strand Ribonucleic Acid</i>
Sitokin IL-2	: <i>Sitokinin Interleukin-2</i>
TB	: <i>Tuberculosis</i>
TCR	: <i>T cell reseptor</i>
TDF	: <i>Tenovir disoproxil fumarate</i>
TLR	: <i>Toll Like Receptor</i>
TNF	: <i>Tumor Necrosis Factor</i>
UNAIDS	: <i>United Nation Programme on HIV-1 and AIDS</i>
V	: <i>variable</i>
WB	: <i>Western Blot</i>
WHO	: <i>World Health Organization</i>
WSSV	: <i>White Spot Syndrome Virus</i>
ZDV	: <i>Zidovudine</i>

LAMBANG

>	: lebih dari
<	: Kurang dari
°	: Derajat
C	: Celcius
%	: Persen
μl	: Miuliter
mm ³	: Milimeter kubik
υ	: Upsilon
α	: Alfa
κ	: Kappa
β	: Beta
λ	: Lamda
ε	: Epsilon
δ	: Delta
γ	: Gamma