

DISERTASI

**PROFIL RESPON IMUN SELULER SPESIFIK DAN KARAKTERISTIK
MOLEKULER KOINFEKSI *HUMAN IMMUNODEFICIENCY VIRUS - 1*
(HIV-1) DENGAN *SEVERE ACUTE RESPIRATORY SYNDROME CORONA*
VIRUS-2 (SARS-CoV-2)**



IRINE NORMALINA

**PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN JENJANG DOKTOR
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2022**

DISERTASI

**PROFIL RESPON IMUN SELULER SPESIFIK DAN KARAKTERISTIK
MOLEKULER KOINFEKSI *HUMAN IMMUNODEFICIENCY VIRUS - 1*
(HIV-1) DENGAN *SEVERE ACUTE RESPIRATORY SYNDROME CORONA*
VIRUS-2 (SARS-CoV-2)**



IRINE NORMALINA

**PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN JENJANG DOKTOR
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2022**

DISERTASI

**PROFIL RESPON IMUN SELULER SPESIFIK DAN KARAKTERISTIK
MOLEKULER KOINFEKSI *HUMAN IMMUNODEFICIENCY VIRUS-1*
(HIV-1) DENGAN *SEVERE ACUTE RESPIRATORY SYNDROME CORONA*
VIRUS-2 (SARS-CoV-2)**

IRINE NORMALINA

**PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN JENJANG DOKTOR
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2022**

**PROFIL RESPON IMUN SELULER SPESIFIK DAN KARAKTERISTIK
MOLEKULER KOINFEKSI *HUMAN IMMUNODEFICIENCY VIRUS - 1*
(HIV-1) DENGAN *SEVERE ACUTE RESPIRATORY SYNDROME 2*
(SARS-CoV-2)**

DISERTASI

**Untuk memperoleh Gelar Doktor
dalam Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor
pada Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga
telah dipertahankan di hadapan
Panitia Ujian Doktor Terbuka
Pada hari : Selasa
Tanggal : 11 Januari 2022
Pukul : 10.00 – 12.00 WIB**

Oleh :

**IRINE NORMALINA
011617017314**

**PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN JENJANG DOKTOR
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2022**

LEMBAR PENGESAHAN

DISERTASI

**PROFIL RESPON IMUN SELULER SPESIFIK DAN KARAKTERISTIK
MOLEKULER KOINFEKSI *HUMAN IMMUNODEFICIENCY VIRUS - 1*
(HIV-1) DENGAN *SEVERE ACUTE RESPIRATORY SYNDROME CORONA*
VIRUS-2 (SARS-CoV-2)**

YANG TELAH DISETUJUI

PADA TANGGAL 12 NOVEMBER 2021

Oleh

Promotor



Prof. Dr. Chairul A. Nidom, drh., M.S
NIP. 195803081984031003

Kopromotor 1



Prof. Dr. Yoes Prijatna Dachlan, dr., M.Sc
NIP. 194310281972031001

Kopromotor 2



Dr. Kuncoro Puguh Santoso, drh., M.Kes
NIP. 196612151991031014

**Disertasi ini telah diuji dan dinilai
oleh panitia penguji Ujian Tahap 1 (Tertutup)
pada tanggal 12 November 2021**

Panitia penguji :

Ketua : 1. Prof. Dr. Eddy Bagus Wasito, dr., M.S.,Sp.MK
Anggota : 2. Prof. Dr. Chairul Anwar Nidom, drh., M.S
3. Prof. Dr. Yoes Prijatna Dachlan, dr., M.Sc., Sp.Par(K)
4. Dr. Kuncoro Puguh Santoso, drh., M.Kes
5. Prof. Dr. Tri Wibawa, MD., Sp.MK
6. Dr. Kadek Rachmawati, drh., M.Kes
6. Dr. Muhammad Atoillah Isfandiari, dr., M.Kes
7. Dr. Erwin Astha Triyono, dr., Sp.PD., KPTI-FINASIM

Ditetapkan dengan Surat Keputusan
Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga
Tentang Panitia Penguji Disertasi
Nomor : 609/un3.1.1/hk/2021
Tanggal : 12 November 2021

UCAPAN TERIMA KASIH

Bismillahirrahmanirrahim

Assalamu'alaikum warahmatullahi wabarakatuh

Alhamdulillahirabbil'alamiin. Tidak ada kalimat yang lebih pantas penulis ucapkan selain kalimat syukur, segala puji bagi Allah SWT yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang yang melapangkan segala urusan sehingga disertasi yang berjudul **“Profil Respons Imun Seluler Spesifik dan Karakteristik Molekuler Koinfeksi *Human Immunodeficiency Syndrome 1 (HIV-1)* dengan *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 1 (SARS-CoV-2)*”** dapat saya selesaikan.

Disertasi ini telah melalui proses yang cukup panjang dengan berbagai kendala dalam penyelesaiannya. Berbagai pihak telah banyak memberikan bantuan baik moril maupun materiil demi terselesaikannya proses studi ini. Terima kasih yang tak terhingga dan penghargaan yang setinggi-tingginya penulis sampaikan kepada seluruh pihak yang telah berkontribusi baik secara langsung maupun tidak langsung demi terselesaikannya disertasi ini. Disertasi ini penulis persembahkan untuk para guru, kedua orang tua, keluarga, sahabat, dan teman-teman komunitas ODHA/ODIV di Kota Surabaya.

Kepada Prof. Dr. Moh. Nasih, SE., MT., Ak., Rektor Universitas Airlangga yang telah menerima penulis selaku peserta didik Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Prof. Dr. Budi Santoso, dr., Sp. OG(K) selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga dan Prof. Dr. Soetojo, dr., Sp. U selaku mantan Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga yang telah memberikan kesempatan dan fasilitas kepada penulis sebagai peserta didik Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.

Kepada Prof. Dr. Hendy Hendarto, dr., Sp. OG(K) selaku Ketua Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk mengikuti dan menyelesaikan pendidikan doktoral, beserta seluruh Dosen pengajar dan staf administrasi pada Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, yang telah banyak membantu membimbing dan mengarahkan penulis selama proses penyelesaian pendidikan doktoral.

Kepada sosok guru dan pembimbing : Prof. Dr. C.A. Nidom, drh., MS selaku Promotor yang telah banyak membimbing, mengarahkan dan memberikan fasilitas selama penulis menempuh pendidikan doktoral; Prof. Dr. Yoes Prijatna Dachlan, dr., M.Sc., Sp. Par(K) dan Dr. Kuncoro Puguh Santoso, drh., M.Kes selaku ko-Promotor yang telah membimbing, mengarahkan dan memberikan ilmu yang bermanfaat kepada penulis.

Kepada para dosen penguji yaitu Prof. Dr. H. Eddy Bagus Wasito, dr., MS., Sp. MK selaku Ketua Tim Penguji yang telah banyak memberikan arahan dan masukan, Dr. Kadek Rachmawati, drh., M.Kes, Dr. Erwin Astha Triyono, dr., Sp. PD., K-PTI-FINASIM, Dr. Muhammad Atoillah Isfandiari, dr., M.Kes, Prof. Dr. Tri Wibawa, MD., Sp. MK selaku Penguji Tamu Ujian Tertutup dari

Departemen Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada, Dr. Muhammad Miftahussurur, Sp.PD., M.Kes., Ph.D., FINASIM., Dr. Yetti Hernaningsih, dr., Sp.PK(K)., Dr. Alpha Fardah Athiyyah, dr., Sp.A(K)., dan Dr. Abu Tholib Aman, M.Sc., Sp.MK(K)., PhD selaku penguji Tamu Ujian Terbuka dari Departemen Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada; yang telah banyak berkontribusi memberikan masukan yang berarti bagi terselesaikannya disertasi ini.

Kepada jajaran pimpinan dan staf Professor Nidom Foundation (PNF), tempat dimana saya menghabiskan sebagian besar waktu untuk bekerja dan melakukan penelitian : Ibu Achmamiek Hariati selaku Ketua Yayasan PNF, Dr. Reviany Vibriaanita, Dr. Yusuf Alamudi, Dr. Setyarina Indrasari, Valdy Lazuardi, S.Psi., dr. Astria Novitasari., Arif Nur Muhammad Ansori, M.Si., Khaliim Jatikusala, M.Si., Bp.Hendro Sutrisno, beserta rekan-rekan yang senantiasa membantu dan memberikan semangat : Dian, Zandy, Dea, Tika, Novi, Angel, Adi Priyo, Irwan, Ditra, Yana, Ela, Shinta, Eko, Jhon, Arif, Dhani, Pak Thohir, Pak Tjipang, dan yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu, terima kasih atas dorongan semangat dan kebersamaannya.

Kepada para sahabat dan rekan yang telah banyak membantu dan memberikan waktu, tenaga, pemikiran serta semangat kepada penulis dalam menyelesaikan disertasi ini : Ni Wayan Widya Astuti, S.Pi., M.Si., Priyo Budi Purwono, dr., M.Si., M.Ked.Klin., Sp.MK; Dr. Citrawati Dyah Kencono Wungu, dr., M.Si., Dr. Arif Rahman Nurdianto dr., M.Imun., Siti Qamariyah Khairunnisa, S.Si., M.Si., Nurul Fatimah, S.Si., Alfian Nur Rosyid, dr., Sp.P., Anis Fidiah, M.Si., Rahmalia, drh., M.Si; Almira Lahay, S.Pi., M.Si; Elsa Bahar, drh., beserta seluruh rekan S3 Ilmu Kedokteran Angkatan 2016, terima kasih telah menjadi salah satu bagian penyempurna perjalanan studi ini.

Kepada kedua Orangtua dan keluarga terkasih ; Bapak Ganjar Susilo, SH., M.Hum, Ibu Yun Iriani, suami Gin gin Ginanjar, SP; beserta adik-adikku Pindho Galang Susilo, SH dan Maulina Sukmawati., ST., M.Arch., atas segala doa terbaik dan support yang diberikan; dan anakku Airlangga Rakanindra Ginanjar, semoga pencapaian ini menjadi penyemangatmu agar tak kenal lelah dalam menuntut ilmu setinggi mungkin.

Akhirnya, dengan segala kerendahan hati dan harapan yang tersirat, agar disertasi ini dapat memberikan manfaat dan sumbangan bagi pengembangan ilmu pengetahuan mengenai dinamika pengakit infeksi, khususnya sebagai pengingat bahwa kita telah berjuang di masa PANDEMI COVID-19 sesuai dengan kapasitas dan jalur masing-masing. Semoga Allah SWT melimpahkan taufik dan hidayahNya kepada semua pihak yang telah berkontribusi dalam bentuk apapun dalam penyelesaian disertasi ini.

Aamiin ya rabbal'alamin

Billahitaufiq wal hidayah

Wassalamu'alaikum warahmatullohi wabarakatuh

Surabaya, Januari 2022

Penulis

RINGKASAN

**PROFIL RESPON IMUN SELULER SPESIFIK DAN KARAKTERISTIK
MOLEKULER KOINFEKSI *HUMAN IMMUNODEFICIENCY VIRUS - 1*
(HIV-1) DENGAN *SEVERE ACUTE RESPIRATORY SYNDROME 2*
(SARS-CoV-2)**

Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) yang disebabkan oleh virus SARS-CoV-2 telah ditetapkan sebagai Pandemi sejak 11 Maret 2020 oleh *World Health Organization* (WHO). WHO dan *Centers of Disease Control and Prevention* (CDC) telah mengeluarkan peringatan kesehatan dan pedoman pencegahan bagi orang-orang yang berisiko tinggi mengalami gangguan kesehatan dan kematian akibat COVID-19. Komorbiditas penyakit kronis, terutama multimorbiditas, turut menjadi faktor pendorong kematian COVID-19. Faktor komorbid tersebut antara lain : asma, penyakit paru-paru kronis, diabetes, penyakit kardiovaskular, penyakit ginjal kronis, obesitas, penyakit hati kronis, penyakit autoimun dan imunokompromais (HIV/AIDS). Kekhawatiran atas peningkatan risiko penyakit yang parah akibat paparan SARS-CoV-2 pada Orang Dengan HIV/AIDS (ODHA) didasarkan pada teori bahwa ODHA lebih mungkin mengalami penekanan sistem imun. Infeksi HIV-1 dikaitkan dengan respon imun humoral dan abnormalitas sel T limfosit yang mengakibatkan peningkatan kerentanan terhadap berbagai infeksi oportunistik, (Chang *et al*, 2013). Hal ini dapat terjadi sebaliknya, pada ODHA yang mendapat terapi obat antiretroviral (ARV) dimungkinkan memperoleh manfaat dari ARV yaitu adanya proteksi sistem imun sehingga memberikan perlindungan terhadap infeksi SARS-CoV-2 atau derajat keparahan penyakit yang lebih ringan bila dibandingkan dengan individu yang tidak mendapat terapi obat ARV (Hu *et al*, 2020).

Sejauh ini belum ada penelitian yang secara khusus menganalisis respon imun dan karakteristik virus pada pasien koinfeksi HIV-1 dan SARS-CoV-2. Selain itu, juga tidak diketahui apakah ODHA yang secara klinis dan virologis stabil akan mengalami risiko lebih besar untuk komplikasi COVID-19 dibandingkan populasi tanpa infeksi HIV-1. Kerentanan terhadap infeksi SARS-CoV-2 yang parah dan risiko kematian di antara ODHA sebagian besar tidak diketahui. Mengingat urgensi pandemi COVID-19 dan informasi yang berubah dengan cepat tentang penyakit tersebut, diperlukan kewaspadaan yang tinggi terhadap perjalanan penularan COVID-19 di antara ODHA.

Virus HIV-1 dan SARS-CoV-2 keduanya memiliki karakteristik yang unik. Pada masing-masing virus tersebut, telah banyak dilakukan analisis molekuler guna mengetahui asal usul, subtype/varian beserta struktur protein pembentuknya. Namun, masih sangat sedikit informasi mengenai bagaimana karakteristik molekuler koinfeksi kedua virus tersebut, baik dari analisis struktur protein, dan tingkat homologi sekuen genom HIV-1 dan SARS-CoV-2. Dalam penelitian ini dilakukan analisis karakteristik molekuler dan parameter respons imun spesifik koinfeksi HIV-1 dengan SARS-CoV-2.

Pengambilan sampel darah dan swab nasofaring-orofaring pada komunitas ODHA di Surabaya dilakukan mulai bulan November 2020 sampai dengan April 2021 dan didapatkan sejumlah 74 sampel ODHA. Analisis sampel dilakukan di laboratorium Professor Nidom Foundation, Surabaya. Karakterisasi molekuler virus HIV-1 dan SARS-CoV-2 dimulai dengan analisis qRT-PCR untuk mengetahui adanya infeksi SARS-CoV-2. Sampel positif SARS-CoV-2 dilanjutkan ke analisis PCR kualitatif untuk mendeteksi gen *pol* dan *env* HIV-1, kemudian dilakukan sekuensing untuk mengetahui subtype HIV dan tingkat homologi dengan virus SARS-CoV-2. Analisis parameter imun dilakukan dengan metode ELISA untuk mengetahui kadar sitokin pada masing-masing sampel uji. Sampel uji terdiri dari 5 bagian : sampel A1 adalah penderita koinfeksi HIV-1 dan SARS-CoV-2 yang tidak diterapi dengan ARV, sampel A2 dan A3 merupakan penderita koinfeksi HIV-1 dan SARS-CoV-2 yang diterapi dengan ARV, sampel B penderita *single infection* HIV-1, dan sampel C penderita *single infection* SARS-CoV-2.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa prevalensi koinfeksi HIV-1 dengan SARS-CoV-2 di Kota Surabaya pada bulan November 2020 sampai dengan April 2021 adalah sebesar 4%. Subtipe HIV-1 yang didapatkan dari penderita koinfeksi HIV-1 dengan SARS-CoV2 adalah CRF01_AE yang merupakan subtype dominan HIV-1 yang bersirkulasi di Indonesia. Analisis karakteristik molekuler sampel koinfeksi menunjukkan adanya kekerabatan paling dekat dengan sekuen pengkode protein *spike* pada SARS-CoV-2, yaitu pada sampel A1 dan A2. Selain itu, sampel ini juga terbukti mempertahankan *secondary structure* berupa *beta sheet* yang merupakan *binding site* atau situs pengikatan dari protein spike SARS-CoV-2 pada hasil pemodelan homologi protein 3D.

Hasil analisis parameter imun dengan menggunakan metode ELISA menunjukkan konsistensi peningkatan kadar sitokin pada sampel koinfeksi HIV-1 dengan SARS-CoV-2. Peningkatan sitokin pro-inflamasi yang ditandai dengan meningkatnya kadar TNF- α (nilai tertinggi pada sampel A1 yaitu 406.364 pg/ml), dan beberapa sitokin lainnya yaitu IL-2 (360.111 pg/ml), IL-6 (98.013 pg/ml), IFN- γ (55.5172 pg/ml) dan sitokin anti-inflamasi IL-10 (120.913 pg/ml). Selain itu juga dilakukan pengukuran jumlah sel T limfosit CD4 absolut pada sampel A1, A2 dan A3, dimana sampel A1 memiliki jumlah sel T limfosit CD4 absolut terendah yaitu 90 sel/ μ l, diikuti dengan sampel A2 sebesar 343 sel/ μ l dan sampel A3 sebesar 469 sel/ μ l.

Kesimpulan yang dapat diambil dari penelitian ini bahwa prevalensi kasus koinfeksi HIV-1 dengan SARS-CoV-2 di kota Surabaya adalah sebesar 4% (populasi sampel 74). Berdasarkan analisis filogenetik terhadap sekuens HIV-1 diketahui bahwa sampel A1 dan A2 merupakan subtype HIV-1 CRF01_AE dan memiliki kekerabatan paling dekat dengan SARS-CoV-2 (berdasarkan nilai *TM-score very high* dan superimpose struktur protein). Hasil analisis parameter imun menunjukan adanya konsistensi peningkatan kadar sitokin pro-inflamasi dan anti-inflamasi pada seluruh sampel koinfeksi (A1, A2, dan A3). Fenomena peningkatan kadar sitokin (TNF- α , IL-6, IFN- γ) pada koinfeksi HIV-1 dengan SARS-CoV2 dapat dijadikan sebagai biomarker prognosis progresifitas penyakit. Pemberian terapi ARV pada penderita HIV-1 dapat memberikan proteksi terhadap progresifitas penyakit yang disebabkan oleh koinfeksi SARS-CoV-2. Analisis

repurposing ARV menunjukkan bahwa dari 5 ARV yang diuji, zidovudine merupakan obat paling potensial karena memiliki *binding affinity* yang paling mendekati -7 kcal/mol. Selain itu, berdasarkan hasil *molecular docking* menunjukkan bahwa bentuk *prodrug* tenofovir yaitu, tenofovir disoproxil fumarate harus dimetabolisme sebelum berinteraksi dengan protein target agar *promoiety* terlepas dari gugus drug-nya yaitu tenofovir disoproxil untuk dapat berikatan dengan lebih stabil dengan M^{pro}.

Studi ini memiliki beberapa keterbatasan, salah satu diantaranya adalah jumlah subyek studi yang terbatas sehingga hasil hanya didasarkan pada tiga sampel yang memenuhi kriteria studi. Diperlukan studi observasional dengan jumlah subyek yang lebih besar dan penelitian lebih lanjut untuk memverifikasi hasil yang peneliti peroleh. Dalam studi ini, karakteristik respons imun koinfeksi HIV-1 dengan SARS-CoV-2 pada berbagai tingkat keparahan penyakit tidak terwakili karena keterbatasan waktu dan jumlah subyek yang sesuai dengan kriteria penelitian.

SUMMARY

PROFILE OF SPECIFIC CELLULAR IMMUNE RESPONSE AND MOLECULAR CHARACTERISTICS CO-INFECTION OF HUMAN IMMUNODEFICIENCY VIRUS - 1 (HIV-1) AND SEVERE ACUTE RESPIRATORY SYNDROME 2 (SARS-CoV-2)

Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) caused by the SARS-CoV-2 virus has been designated as a Pandemic since March 11, 2020 by the World Health Organization (WHO). WHO and the Centers for Disease Control and Prevention (CDC) have issued health warnings and prevention guidelines for people who are at high risk of experiencing health problems and death from COVID-19. Chronic disease comorbidities, especially multimorbidities, are a driving factor to COVID-19 deaths. These comorbid factors include: asthma, pneumonia, diabetes, cardiovascular disease, chronic kidney disease, obesity, chronic liver disease, autoimmune and immunocompromised diseases (HIV/AIDS). Concerns over the increased risk of severe disease due to SARS-CoV-2 exposure in people living with HIV/AIDS (PLWHA) are based on the theory that people living with HIV are more likely to experience suppressed immune systems. HIV-1 infection is associated with a humoral immune response and T lymphocyte abnormalities that result in increased susceptibility to various opportunistic infections (Chang *et al*, 2013). This can happen the other way around, it is possible for PLWHA who receive antiretroviral drug therapy (ARV) to benefit from ARVs, namely the protection of the immune system so as to provide protection against SARS-CoV-2 infection or a milder degree of disease severity when compared to individuals who do not receive ARV drug therapy (Hu *et al*, 2020).

So far, there is no studies that have specifically analyzed the immune response and viral characteristics in HIV-1 and SARS-CoV-2 coinfecting patients. In addition, it is also not known whether PLWHA who are clinically and virologically stable are at greater risk for complications of COVID-19 than the population without HIV-1 infection. The susceptibility to severe SARS-CoV-2 infection and the risk of death among PLWHA are largely unknown. Given the urgency of the COVID-19 pandemic and rapidly changing information about the disease, high vigilance is needed against the course of COVID-19 transmission among PLWHA.

The HIV-1 and SARS-CoV-2 viruses both have unique characteristics. In each of these viruses, many molecular analyzes have been carried out to determine the origin, subtype/variant and the structure of the protein that forms it. However, there is still very little information about the molecular characteristics of the coinfection of the two viruses, both from the analysis of protein structure, and the level of homology of the HIV-1 and SARS-CoV-2 genome sequences. In this study, analysis of the molecular characteristics and parameters of the specific immune response of HIV-1 coinfection with SARS-CoV-2 was carried out.

Blood sampling and nasopharyngeal-orpharyngeal swabs in the PLWHA community in Surabaya were carried out from November 2020 to April 2021 and obtained a total of 74 samples of PLWHA. Sample analysis was carried out in the laboratory of the Professor Nidom Foundation, Surabaya. Molecular characterization of the HIV-1 and SARS-CoV-2 viruses began with qRT-PCR analysis to determine the presence of SARS-CoV-2 infection. Positive samples of SARS-CoV-2 were continued for qualitative PCR analysis to detect HIV-1 pol and env genes, then sequencing was carried out to determine the HIV subtype and level of homology with the SARS-CoV-2 virus. Analysis of immune parameters was carried out using the ELISA method to determine the levels of cytokines in each test sample. The test sample consisted of 5 parts: sample A1 was HIV-1 and SARS-CoV-2 coinfecting patients who were not treated with ARVs, samples A2 and A3 were HIV-1 and SARS-CoV-2 coinfecting patients who were treated with ARVs, sample B patients with single infection with HIV-1, and sample C with single infection with SARS-CoV-2.

The results showed that the prevalence of HIV-1 coinfection with SARS-CoV-2 in the city of Surabaya from November 2020 to April 2021 was 4%. The HIV-1 subtype obtained from HIV-1 coinfecting patients with SARS-CoV2 is CRF01_AE which is the dominant subtype of circulating HIV-1 in Indonesia. Analysis of the molecular characteristics of the coinfecting samples showed that there was the closest relationship to the spike protein coding sequence in SARS-CoV-2, namely in samples A1 and A2. In addition, this sample was also shown to maintain a secondary structure in the form of a beta sheet which is the binding site of the SARS-CoV-2 spike protein in the 3D protein homology modeling results.

The results of the analysis of immune parameters using the ELISA method showed a consistent increase in cytokine levels in samples of HIV-1 coinfection with SARS-CoV-2. The increase in pro-inflammatory cytokines was characterized by increased levels of TNF- (the highest value in sample A1 was 406.364 pg/ml), and several other cytokines, namely IL-2 (360.111 pg/ml), IL-6 (98.013 pg/ml), IFN- γ (55.5172 pg/ml) and the anti-inflammatory cytokine IL-10 (120.913 pg/ml). In addition, absolute CD4 T-cell counts were measured in samples A1, A2 and A3, where sample A1 had the lowest absolute CD4 T-cell count of 90 cells/ μ l, followed by sample A2 of 343 cells/ μ l and sample A3 of 469 cell/ μ l.

The conclusion that can be drawn from this study is that the prevalence of HIV-1 coinfection with SARS-CoV-2 in the city of Surabaya is 4% (sample population 74). Based on the phylogenetic analysis of the HIV-1 sequence, it was found that samples A1 and A2 were HIV-1 subtypes CRF01_AE and had the closest kinship with SARS-CoV-2 (based on very high TM-score values and superimposed protein structure). The results of the analysis of immune parameters showed that there was a consistent increase in the levels of pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines in all coinfecting samples (A1, A2, and A3). The phenomenon of increased levels of cytokines (TNF- α , IL-6, IFN- γ) in HIV-1 coinfection with SARS-CoV2 can be used as a biomarker for the prognosis of disease progression. Giving ARV therapy to HIV-1 patients can provide protection against disease progression caused by SARS-CoV-2 coinfection. The analysis of repurposing ARVs showed that of the 5 ARVs tested, zidovudine was the most

potent drug because it had a binding affinity closest to -7 kcal/mol. In addition, based on molecular docking results, it was shown that the prodrug form of tenofovir, namely, tenofovir disoproxil fumarate must be metabolized before interacting with the target protein so that the promoiety is separated from its drug group, namely tenofovir disoproxil to bind more stably to Mpro. This study has several limitations, one of which is the limited number of study subjects so that the results are only based on three samples that meet the study criteria. Observational studies with a larger number of subjects are needed and further research is needed to verify the results obtained by the researchers. In this study, the characteristics of the immune response of HIV-1 coinfection with SARS-CoV-2 at various disease severity levels were not represented due to time constraints and the number of subjects who met the study criteria.

ABSTRACT**PROFILE OF SPECIFIC CELLULAR IMMUNE RESPONSE AND MOLECULAR CHARACTERISTICS CO-INFECTION OF HUMAN IMMUNODEFICIENCY VIRUS - 1 (HIV-1) AND SEVERE ACUTE RESPIRATORY SYNDROME 2 (SARS-CoV-2)**

Irine Normalina

Chronic disease comorbidities are also a driving factor for COVID-19 deaths, one of them HIV/AIDS is characterized by an abnormality of the immune system. Analysis of immune parameters is needed to find out how the immune system responds to HIV-1 and SARS-CoV-2 co-infection. In addition, analysis of the molecular characteristics of the HIV and SARS-CoV-2 virus is also needed to determine whether there is a tendency for susceptibility of certain HIV subtypes that are more sensitive response to SARS-CoV-2 infection. Immune response analysis using ELISA method with TNF- α , IFN- γ , IL-2, IL-6, and IL-10 test parameters. Examination of the number of CD4⁺ lymphocytes was also carried out for samples coinfecting with HIV-1 and SARS-CoV-2. Molecular analysis of HIV-1 and SARS-CoV-2 coinfecting samples using qualitative and quantitative PCR, followed by sequencing, then processed *in silico* sequences for modeling the 3D structure of HIV-1 and SARS-CoV-2 proteins. A total of 74 blood samples and nasopharyngeal-oro-pharyngeal swabs of HIV-1 patients were analyzed to detect the SARS-CoV-2 virus. The results of the analysis obtained as many as 3 (4%) positive samples of SARS-CoV-2. Analysis of immune parameters showed that the increase in levels of pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines exceeding the normal threshold was found in A1 sample which was an individual with HIV-1 and SARS-CoV-2 coinfection without ARV therapy. An increase in cytokine levels also occurred in A1 and A2 samples, both of which were coinfecting individuals with HIV-1 and SARS-CoV-2 who were treated with ARV, but the cytokine levels in both samples were still below A1 sample. Molecular analysis showed that the HIV-1 virus found was a subtype of CRF01_AE and had the closest sequence homology to the SARS-CoV-2 *spike* protein. Molecular docking analysis of the combination of ARV used by the two samples coinfecting with HIV-1 and SARS-CoV-2 with Mpro SARS-CoV-2 showed that zidovudine was the ARV with the strongest binding affinity compared to the other four ARV.

Keywords : *coinfection, HIV-1, SARS-CoV-2, cytokine*

DAFTAR ISI

SAMPUL DEPAN	i
SAMPUL DALAM	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
PENETAPAN PANITIA PENGUJI	iv
UCAPAN TERIMA KASIH	v
RINGKASAN	vii
SUMMARY	x
ABSTRACT	xiii
DAFTAR ISI	xiv
DAFTAR TABEL	xvii
DAFTAR GAMBAR	xviii
DAFTAR LAMPIRAN	xx
SINGKATAN DAN ARTI LAMBANG	xxi
BAB 1 PENDAHULUAN	
1.1 Latar belakang	1
1.2 Rumusan masalah	4
1.3 Tujuan penelitian	5
1.3.1 Tujuan umum	5
1.3.2 Tujuan khusus	5
1.4 Manfaat penelitian	5
1.4.1 Manfaat penelitian teoritis	5
1.4.2 Manfaat penelitian praktis	6
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 <i>Human Immunodeficiency Virus (HIV)</i>	7
2.1.1 Klasifikasi HIV	10
2.1.2 Siklus hidup HIV	11
2.1.3 Patogenesis dan penularan HIV	13
2.2 <i>Severe Acute Respiratory Syndrom Corona Virus 2 (SARS-CoV-2)</i>	14
2.2.1 Struktur genom SARS-CoV-2	14
2.2.2 Patogenesis dan penularan SARS-CoV-2	17
2.3 Koinfeksi HIV-1 dan SARS-CoV-2	18
2.3.1 Persamaan dan perbedaan HIV-1 dan SARS-CoV-2	21
2.4 Bioinformatika dan Pemodelan Struktur HIV-1 dan SARS-CoV-2	26
BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL	
3.1 Skema kerangka konseptual	29
3.2 Penjelasan kerangka konseptual	29
BAB 4 METODE PENELITIAN	
4.1 Jenis dan rancangan penelitian	33
4.2 Penelitian tahap pertama	34
4.2.1 Rancangan penelitian	34
4.2.2 Unit eksperimen penelitian	35

4.2.3	Pengambilan sampel darah vena dan swab nasofaring-orofaring	35
4.2.4	Preparasi Plasma, PBMC dan swab nasofaring-orofaring	35
4.2.5	Ekstraksi DNA dan RNA	36
4.2.6	Analisis PCR dan <i>real-time</i> PCR (qRT-PCR)	37
4.2.6.1	Analisis PCR HIV-1	37
4.2.6.2	Analisis Sekuensing	37
4.2.6.3	Analisis qRT-PCR SARS-CoV-2	38
4.2.7	Alignment, Translasi Sekuen, dan Konstruksi Pohon Filogeni	39
4.2.8	Analisis Conserve Region	40
4.2.9	Pemodelan Struktur 3D Target Protein	40
4.2.10	Analisis <i>Molecular Docking</i> Obat Antiretroviral	40
4.3	Penelitian tahap ke dua	41
4.3.1	Rancangan penelitian	41
4.3.2	Unit eksperimen penelitian	41
4.3.3	Analisis parameter imun	41
4.3.3.1	<i>Enzyme-linked Immunosorbent Assay</i> (ELISA)	41
4.3.3.2	Analisis Flowcytometry	42
4.4	Lokasi dan waktu penelitian	43
4.5	Kerangka Operasional Penelitian	43
BAB 5	HASIL PENELITIAN	
5.1	Prevalensi Koinfeksi HIV-1 dan SARS-CoV-2	44
5.2	Analisis Karakteristik Molekuler Koinfeksi HIV-1 dengan SARS-CoV-2	44
5.2.1	Amplifikasi <i>quantitative real-time</i> PCR (qRT-PCR)	45
5.2.2	Amplifikasi PCR HIV-1	47
5.2.3	Analisis BLAST Hasil Sekuensing HIV-1 dan SARS-CoV-2	48
5.2.4	Alignment Sekuen Gen	49
5.2.5	Konstruksi Pohon Filogenetik	51
5.2.6	Karakteristik Molekuler Koinfeksi HIV-1 dan SARS-CoV-2	52
5.2.7	Analisis Molekuler <i>Docking</i> Potensi Terapi Antiretroviral dalam Menekan Infeksi SARS-CoV-2	53
5.3	Analisis Parameter Immunologi	57
BAB 6	PEMBAHASAN	
6.1	Prevalensi Kejadian Koinfeksi HIV-1 dengan SARS-CoV-2	60
6.2	Karakteristik Molekuler Koinfeksi HIV-1 dengan SARS-CoV-2	62
6.2.1	Amplifikasi qRT-PCR SARS-CoV-2	63
6.2.2	Analisis Similaritas Sekuens Genom HIV-1 dengan SARS-CoV-2	65
6.2.3	Karakteristik Molekuler HIV-1 dan SARS-CoV-2	69
6.3	Efektivitas Protease Inhibitor HIV pada Koinfeksi HIV-1 dengan SARS-CoV-2 dan Pengaruhnya Terhadap Respons Imun Tubuh	70
6.4	Respon Imun Spesifik Koinfeksi HIV-1 dengan SARS-CoV-2	78

6.4.1	Interleukin 2 (IL-2)	79
6.4.2	Interleukin 6 (IL-6)	82
6.4.3	Interleukin 10 (IL-10)	86
6.4.4	Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF- α)	92
6.4.5	Interferon Gamma (IFN- γ)	94
6.5	Nilai Kebaruan Penelitian (<i>Novelty</i>)	97
6.6	Keterbatasan Penelitian	98
BAB 7 PENUTUP		
7.1	Kesimpulan	99
7.2	Saran	100
DAFTAR PUSTAKA		101
LAMPIRAN		110

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Perbedaan HIV-1 dan SARS-CoV-2 (Alvarez et al., 2021)	22
Tabel 4.1	Interpretasi hasil analisis qPCR SARS-CoV-2	38
Tabel 4.2	Primer spike (S) glycoprotein SARS-CoV-2 (Moore et al., 2020)	39
Tabel 5.1	Interpretasi hasil analisis qRT-PCR	46
Tabel 5.2	Identifikasi Sekuens Sampel	48
Tabel 5.3	Kombinasi terapi ARV	53
Tabel 5.4	<i>Binding affinity</i> antara protein M ^{pro} dengan ligan obat antiretroviral	54
Tabel 5.5	Interaksi residu asam amino yang dihasilkan pada protein M ^{pro} dengan obat ARV	55
Tabel 5.6	Hasil analisis ELISA parameter imun	59

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Struktur virus HIV (Abbas, 2016)	8
Gambar 2.2	Organisasi struktur genom virus HIV (Suzuki, 2011)	9
Gambar 2.3	Klasifikasi HIV (Fillipone <i>et al</i> , 2017)	10
Gambar 2.4	Siklus hidup HIV (Abbas, 2016)	12
Gambar 2.5	Visualisasi struktur 3D dari ketiga protein struktural isolat SARS-CoV-2 Indonesia (JKT-EIJK0317). A: membran protein, B: envelope protein, dan C: Nukleokapsid fosfoprotein (Ansori <i>et al.</i> , 2020)	15
Gambar 2.6	Representasi skematis SARS-CoV-2 (kiri) dan HIV (kanan) (Evanz <i>et al.</i> , 2020)	22
Gambar 2.7	Representasi komparatif pengikatan reseptor HIV (kiri) dan SARS-CoV-2 (kanan) (Evanz <i>et al.</i> , 2020)	25
Gambar 3.1	Skema kerangka konseptual	29
Gambar 4.1	Skema penelitian	33
Gambar 4.2	Kerangka operasional penelitian	43
Gambar 5.1	Diagram pie koinfeksi HIV-1 dengan SARS-CoV-2 pada populasi ODHA	44
Gambar 5.2	Grafik amplifikasi qRT-PCR. Sampel (A1), sampel (A2), dan sampel (A3)	45
Gambar 5.3	Hasil elektroforesis gen <i>pol</i> (A) dan <i>env</i> (B) HIV. (K+) sebagai kontrol positif	48
Gambar 5.4	Hasil <i>alignment</i> sekuens gen <i>pol</i> dan <i>env</i> HIV-1 serta SARS-CoV-2 (NC, kontrol)	50
Gambar 5.5	Hasil alignment sekuens asam amino. HIV-1 dan SARS-CoV-2	51
Gambar 5.6	Hasil konstruksi pohon filogeni menggunakan prinsip permodelan NJ dengan nilai <i>bootstrap</i> 1000	52
Gambar 5.7	Superimpose protein spike SARS COV-2 dengan (a) A, (b) B, (c) A01_C1, (d) C01_C2, (e) E01_D, dan (f) G01_D dimana kontrol (hijau) dan protein HIV (merah)	53
Gambar 5.8	Visualisasi hasil docking, a) Protein M ^{pro} -Kontrol, b) Protein M ^{pro} -Tenofovir Disoproxil Fumarate, c) Protein M ^{pro} -Tenofovir Disoproxil, d) Protein M ^{pro} -Zidovudine, e) Protein M ^{pro} -Efavirenz, dan d) Protein M ^{pro} -Lamivudine.	56

Gambar 5.9	Kurva standart IL-2, IL-6, IL-10, TNF- α , IFN- γ	57
Gambar 5.10	Diagram konsentrasi IL-2, IL-6, IL-10, TNF- α , IFN- γ	58
Gambar 6.1	Diagram skematik resistensi IL-10 dan IL-10 anti-inflamasi	90

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Informasi individual	110
Lampiran 2.	Formulir Deteksi Dini Coronavirus (COVID-19)	111
Lampiran 3.	Penjelasan penelitian bagi responden	112
Lampiran 4.	Pernyataan Persetujuan (<i>Informed consent</i>)	118
Lampiran 5.	Konsentrasi Standard ELISA	119
Lampiran 6.	Protokol Ekstraksi DNA	120
Lampiran 7.	Protokol Ekstraksi RNA	121
Lampiran 8.	Prosedur ELISA	123
Lampiran 9.	Aktifitas Pengambilan Sampel pada Subyek Penelitian	125
Lampiran 10.	Dokumentasi Laboratorium	126
Lampiran 11.	Inform Consent	128

SINGKATAN DAN ARTI LAMBANG

ACE2	: Angiotensin Converting Enzyme 2
AIDS	: Acquired Immunodeficiency Syndrome
ARDS	: Acute Respiratory Distress Syndrome
ARV	: Antiretroviral
BLAST	: Basic Local Alignment Search Tool
CDC	: Centers of Disease Control and Prevention
COVID-19	: Coronavirus Disease 2019
CRF	: Circulating Recombinant Forms
CT	: Cycle Threshold
DAMPs	: Damage-associated Molecular Patterns
DNA	: Deoxyribonucleic acid
FDA	: Food and Drug Administration
HAART	: Highly Active Antiretroviral Therapy
HIV-1	: Human Immunodeficiency Virus 1
HTLV III	: Human T cell Lymphotropic Virus III
IFN- γ	: Interferon – gamma
IL	: Interleukin
MERS	: Middle East Respiratory Syndrome
Mpro	: Main Protease
NCBI	: National Center for Biotechnology Information
NETS	: Neutrophil extracellular traps
NF- κ B	: Nuclear Factor Kappa B
NK	: Natural Killer
NLRP3	: NOD-, LRR- and pyrin domain-containing protein 3
NRTI	: Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitor
PAMPs	: Pathogen-associated Molecular Patterns
qRT-PCR	: Real-Time Quantitative Reverse Transcription <i>PCR</i>
RNA	: Ribonucleic Acid
SARS-CoV-2	: Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2
TNF- α	: Tumor Necrosis Factor - Alpha

ODHA : Orang Dengan HIV AIDS
WHO : World Health Organization
 α : alpha
 β : beta
 γ : gamma