

EPIDEMIOLOGI MOLEKULER GENOTIPE *Human Immunodeficiency Virus -1* (HIV-1) PADA ORANG DENGAN HIV/AIDS (*Acquired Immunodeficiency Syndrome*) atau ODHA di JAWA TIMUR DAN DKI JAKARTA

Holy Arif Wibowo, Vivi Setiawaty dan Ervi Salwati

Puslitbang Biomedis dan Farmasi Jakarta, Email: holyarif@litbang.depkes.go.id

Abstract. Human Immunodeficiency Virus is retrovirus that can decrease immune system in human body. There are two types of HIV which could be genetically specified as HIV-1 and HIV-2. HIV-1 consists of three groups: M, N, and O. The 'M' group is further classified as nine subtypes i. e, A, B, C, D, E, F, G, H, and I subtypes. In certain condition, two viruses from different subtypes can mix and form a hybrid virus, called Circulating Recombinant Forms (CRFs). The aim of this research is to map the distribution of HIV subtypes in all of Indonesia's provinces. Sera from HIV patients from hospitals in DKI Jakarta and East Java were taken and examined for genetic analysis. As we may already aware that DKI Jakarta and East Java are provinces that have high prevalence of HIV. All of the specimens were tested and analyzed using RT-PCR technique followed by PCR Nested and sequences confirmation. In East Java Province, HIV-1 AE subtypes was the most dominant with 74% followed by Band E subtypes, each of them 13%. In DKI Jakarta province, HIV-1 E subtype was the most dominant 60%, AE and B subtypes were 35%, and 5% respectively.

Keywords: Genotype of HIV-1, B subtype, E subtype, AE Subtype

PENDAHULUAN

Human Immunodeficiency Virus (HIV) adalah virus yang merusak sistem kekebalan tubuh, dan memiliki materi genetik RNA yang akan diubah dengan enzim *reverse transcriptase* menjadi DNA. Virus ini termasuk genus *Lentivirus* karena memiliki waktu inkubasi (*incubation period*) yang lama (1,2,3,4)

Human Immunodeficiency Virus memiliki material genetik berupa dua buah positif *single-strand* RNA yang mengkode 10 jenis gen (*gag, pol, env, tat, rev, nef, vif, vpr, vpu, dan tev*) yang mengkode 19 protein. Gen *gag, pol, dan env* adalah gen utama yang sering digunakan sebagai dasar penggolongan genotipe dan sub tipe dari HIV. Gen *gag*

berfungsi mengatur proses replikasi virus dan pengkode protein struktural, demikian pula dengan gen *pol* yang berfungsi mengkode enzim -enzim yang dibutuhkan untuk replikasi virus (*transcriptase, integrase, dan protease*), sedangkan gen *env* adalah gen yang berfungsi mengatur pembentukan *envelope* (gliko-protein membran) dari virus HIV. Gengen lainnya juga berfungsi mengatur proses transkripsi HIV. (5)

Berdasarkan tiga buah gen utama yaitu *gag, pol, dan env, Human Immunodeficiency Virus* dapat digolongkan menjadi dua buah genotip yaitu HIV-1 dan HIV -2. Selain itu HIV -1 dapat terbagi lagi atas grup, sub tipe, *circulating recombinant form* (CRF) dan sub-sub tipe. Grup dari HIV -1 terdiri dari tiga kelompok yaitu

kelompok M, N, dan O. Kelompok M adalah kelompok terbesar (*main, major*), sedangkan kelompok lain disebut kelompok O (*Outliner*) dan kelompok N (*New, non M non O*). Selain itu HIV-1 dapat dibagi menurut sub tipe dan memiliki 9 sub tipe yaitu sub tipe A, B, C, D, F, G, H, J, K. Pada keadaan tertentu, 2 virus dari sub tipe berbeda dapat bertemu dalam sel tubuh orang yang terinfeksi dan bahan genetik mereka akan bercampur menjadi virus hibrida baru. Meskipun beberapa jenis virus baru tersebut tidak dapat bertahan lama, tetapi dapat menginfeksi lebih dari satu orang dan disebut sebagai *Circulating Recombinant Forms* (CRF) dan sampai saat ini telah ditemukan sebanyak 34 CRF. Sebagai contoh CRF01_AE adalah campuran sub tipe A dan sub tipe E. Sub tipe ini paling banyak dijumpai di kawasan Asia Tenggara ^(5,6,7).

Richman *et. al* ⁽⁵⁾ menyatakan bahwa sub tipe B sub tipe yang kebanyakan ditemukan dari penderita yang melakukan kontak homoseksual dan kelompok pengguna narkoba suntik. Sedangkan sub tipe C dan CRF01_AE sering dijumpai pada penderita heteroseksual. Sehingga diduga terdapat hubungan antara cara penularan dengan jenis sub tipe HIV yang menginfeksi penderita. Penderita HIV terbanyak adalah berasal dari IDU (*Injection Drugs Use*).

Di Indonesia diperkirakan terdapat 53.000-180.000 orang yang hidup dengan *Human Immunodeficiency Virus* Acquired Immune Deficiency Syndrome (HIV/AIDS) ⁽⁸⁾. Pada tahun 2005 dilakukan program pemberian Antiretroviral (ARV) kepada 10.000 orang dengan HIV/AIDS (ODHA) dari perkiraan 15.000 ODHA. Prevalensi kasus AIDS di Indonesia menurut Departemen Kesehatan RI sampai dengan tanggal 31 Maret 2009 adalah 7,50 per 100.000 orang.

Prevalensi tertinggi di provinsi Papua yaitu 135,70 per 100.000 orang, Bali sebesar 36,21 per 100.000 orang, Jakarta 30,81 per 100.000 orang, dan Jawa Timur terdapat 7,15 per 100.000 orang yang HIV positif ⁽⁹⁾. Seluruh provinsi di Indonesia telah melaporkan adanya kasus HIV / AIDS. Banyaknya sub tipe HIV yang ditemukan di Indonesia, Mendorong perlunya disusun program intervensi yang lebih baik untuk mendukung program penanggulangan nasional HIV / AIDS.

Telah diketahui bahwa HIV dapat ditularkan melalui hubungan kelamin dan hubungan seks oral, atau melalui anus, transfusi darah, penggunaan bersama jarum suntik yang terkontaminasi, melalui injeksi obat dalam perawatan kesehatan, dan antara ibu dan bayinya selama masa kehamilan, kelahiran, dan masa menyusui ⁽⁵⁾. Oleh sebab itu perlu dilakukan analisis hubungan faktor resiko terinfeksi HIV dengan subtipenya. Atas dasar pemikiran tersebut di atas maka masalah yang dihadapi adalah jenis sub tipe virus HIV-1 pada ODHA. Apakah ada hubungan antara sub tipe dengan penularan virus HIV pada ODHA di Jawa Timur dan DKI Jakarta. Jawa Timur mewakili metode penularan dengan cara seksual, sedangkan DKI Jakarta mewakili metode penularan dengan cara IDU untuk mengidentifikasi apakah ada hubungan antara perbedaan sub tipe HIV dengan metode penularan virus HIY.

Dengan mengetahui jenis sub tipe virus HIV yang terdapat di Indonesia diharapkan dapat memberikan masukan bagi program penanggulangan HIV IAIDS, menyediakan data dasar bagi program pengembangan vaksin HIV / AIDS di Indonesia. Selain itu hasil penelitian ini diharapkan juga memberikan informasi terhadap pengembangan anti retroviral di Indonesia.

BAHAN DAN CARA

Penelitian ini dilakukan pada penderita HIV / AIDS di Klinik *Voluntary Counseling Testing* (VCT) di Jawa Timur (RS Dr Soetomo, Surabaya dan RS Saiful Anwar, Malang) dan DKI Jakarta (RS Dharmais dan RS Ketergantungan Obat). Pemeriksaan laboratorium dilakukan di Laboratorium Virologi dan Biologi Molekuler Pusat Penelitian dan Pengembangan Biomedis dan Farmasi Depkes RI pada bulan Januari - Desember 2008.

Penelitian ini merupakan studi *cross sectional analytic* dengan serosurvei untuk melihat genotip dan subtipe HIV. Penelitian dilaksanakan dengan menggunakan teknik Polymerase Chain Reaction dan sequencing untuk melihat hubungan antara subtipe HIV -1 dengan cara transmisi virus HIY.

Populasi sampel

Populasi sampel adalah penderita ODHA di Jawa Timur dan DKI Jakarta yang mengunjungi klinik VCT. Sampel dipilih secara non *probability sampling* dari penderita yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi yang telah ditentukan. Kriteria inklusi adalah penderita HIV / AIDS yang sudah melaksanakan VCT di rumah sakit atau tempat VCT lainnya (semua umur) dan Kriteria Eksklusi adalah orang sehat, penderita (responden) menolak dan menderita sakit berat.

Besar Sampel

Subyek yang diambil secara purposif. Besar sampel, menurut rumus sebagai berikut:

$$n = \{ Z^2 (1-u / 2) \times P (1-P) \} / d^2$$

$$P = 0,84; Z = 1,96; d = 0,1; n =$$

$$80 \text{ (WHO, 2008)}$$

Jumlah total sample yang diambil ada 80 spesimen atau 20 spesimen dari

tiap rumah sakit (lokasi pengambilan). Objek yang dipilih sudah dipastikan positif HIV dengan metode rapid test dan *Enzyme Link Absorbance Assay* (Elisa). Objek yang diteliti diminta menandatangani *informed consent* (surat persetujuan kesediaan mengikuti penelitian setelah mendapat penjelasan). Proses cara penuluran penderita juga akan dicatat dengan menggunakan kuesioner untuk mengetahui hubungan metode penuluran dengan subtipe virus HIV.

Cara Kerja

Sample berupa *whole blood* sebanyak 10 ml dimasukkan kedalam tabung *venoject*, setiap sampel darah yang diambil kemudian akan diberi *barcode*, untuk melindungi identitas penderita. Sampel darah di *centrifuge*, bagian supernatant berupa serum dikumpulkan dan disimpan pada suhu 80°C sampai pemeriksaan dilakukan. Pada spesimen dilakukan ekstraksi RNA dengan Qiamp Viral RNA minikit (Qiagen). Hasil ekstraksi berupa RNA di *amplifikasi* dengan tehnik realtime (Reverse Transcriptase) RT-PCR. Proses *amplifikasi* menggunakan SuperScript III one-step RT -PCR with Platinum Taq (Invitrogen). RT -PCR dilakukan dengan kondisi *thermal cyclers* sebagai berikut Pre-denaturasi pada suhu 50°C selama 30 menit; *Hot start* 94°C selama 2 menit; Denaturasi 94°C selama 30 detik; Aneling 56°C selama 30 detik; Perpanjangan 72°C selama 30 detik; Perpanjangan terakhir 72°C selama 7 menit

Primer yang digunakan adalah Primer GP40 (5'TCTTAGGAGCAGCA GGAAGCACTATGGG3') dan GP41 (5' AACGACAAAGGTGAGTATCCCTG CCTAA3') dan Nested PCR dengan primer GP46 (5'ACAATTATTGTCTG GTATAGTGCAACAGCA3') dan GP47 (5 'TT AAACCT ATCAAGCCTCCT ACTA

TCATTA5') (10). Daerah yang akan di-amplifikasi pada penelitian ini adalah gen pengkode glikoprotein 41 pada *envelope* virus HIV. Hasil dilanjutkan dielektroforesis dengan menggunakan agarose gel 2%. Hasil elektroforesis yang positif dilanjutkan dengan sekuensing menggunakan *Genetic Analyzer* (GA3130, *Applied Biosytem*) yang ber-tujuan untuk melihat urutan nucleotida pada gen *envelope* virus HIV. Setelah itu dilakukan analisis filogenetik dengan menggunakan Software *Mega4*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

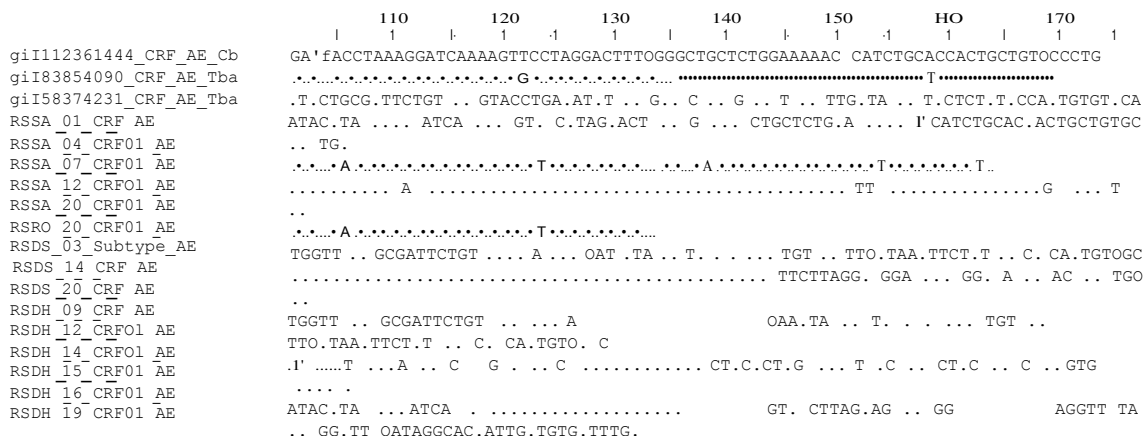
Analisis Genotipe dan Subtipe Virus HIV

Virus HIV dapat digolongkan menjadi dua buah genotip yaitu HIV-1 dan HIV-25. Setelah dilakukan analisis terhadap 80 spesimen asal Jakarta dan Jawa Timur, didapatkan hasil bahwa semua spesimen merupakan virus HIV genotype 1 (HIV-1). Kemudian dilakukan analisis lanjutan bahwa semua tergolong kedalam Kelompok M, sehingga perlu identifikasi lebih dalam tentang subtipe dari Virus HIY. HIV -1 kelompok M memiliki banyak subtipe dan terdapat

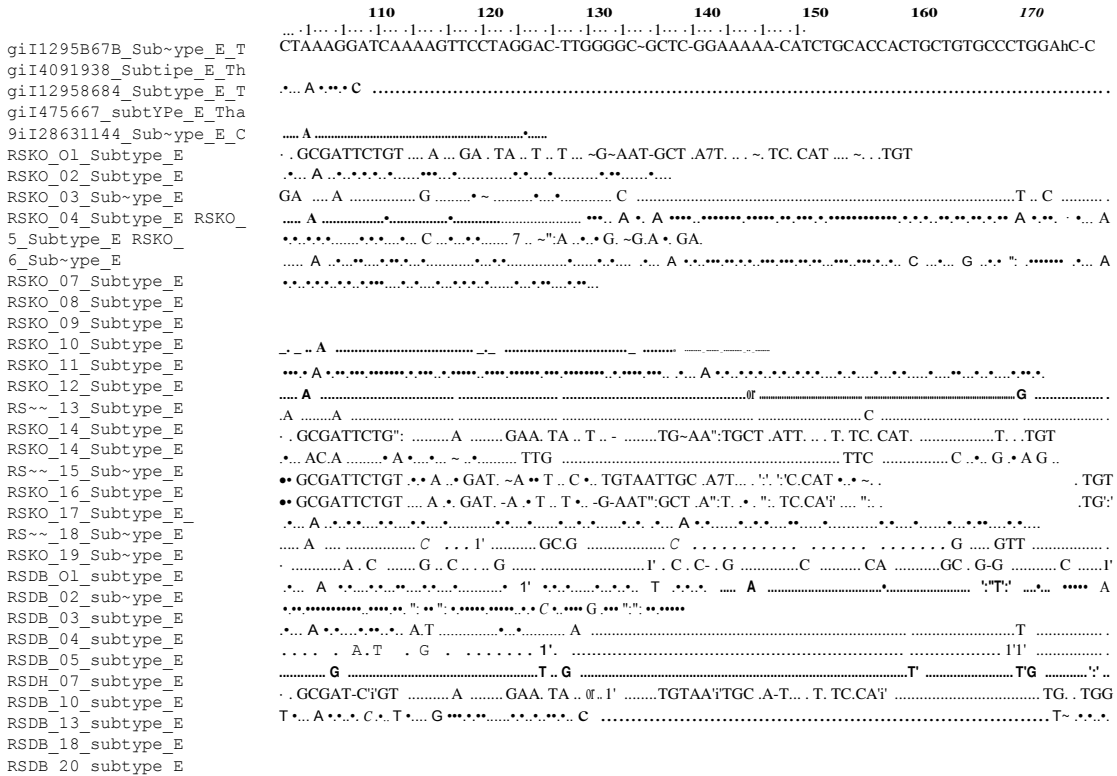
kemungkinan terbentuk rekombinasi membentuk *Circulating Recombinant Forms* (CRFs) (6,7).

Subtipe HIV -1 dapat ditentukan dengan melakukan analisis sekuens nukleotida dari gen selubung luar HIV-1 yaitu glikoprotein, dengan mengekstraksi RNA proviral dari sample pasien, dan memakainya dalam PCR khusus untuk *envelope* HIV -1. Urutan Nukleotida hasil dari proses sekuensing dilanjutkan dengan proses BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*) yaitu menganalisis dari rujukan *gene bank* NCBI (*National Center for Biotechnology Information*) untuk konfirmasi genotipe dan menentukan subtipe virus HIV.

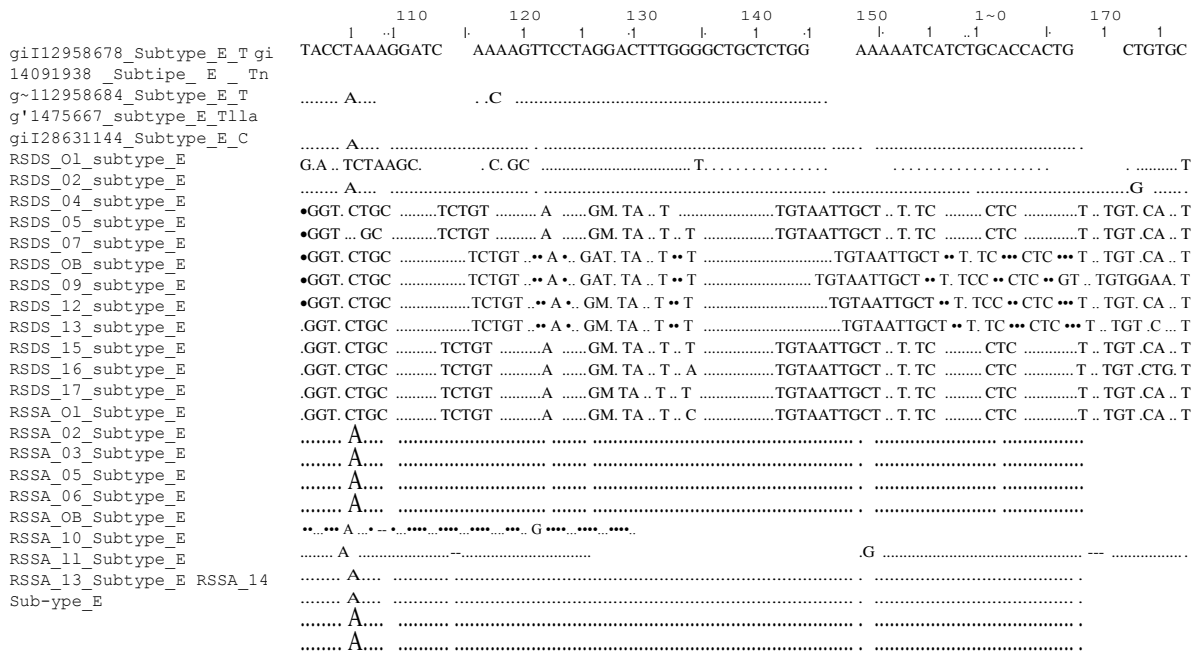
Responden keseluruhan diambil dan dua buah propinsi yaitu Jawa Timur dan DKI Jakarta, dengan prosentase Lakilaki 59 (73,75%) dan Wanita 21 (26,25%). Penelitian ini mendapatkan hasil tiga jenis subtype HIV-1, yaitu Subtipe B (8,75%), Subtipe E (36,25), dan CRF01_ AE (55%) dari 80 responden. Karakteristik responden yang lebih terinci terdapat dalam publikasi yang lain. Hasil sekuensing dan analisis menggunakan software *Mega4* (Gambar 1-4).



Gambar 1. Hasil Analisis Sekuensing Genotipe HIV -1 dan Subtipe CRF01_ AE dari Rumah Sakit RSSA (RS Saiful Anwar), RSKO^G (RS Ketergantungan Obat), RSDSTM (RS Dr. Soetomo), dan RSDH (RS Dharmais)



Gambar 2. Hasil analisis sekuensing untuk genotipe HIV-1 dan sub tipe _E dari RSKO (RS Ketergantungan Obat) dan RSDH (Rumah sakit Dharmais) Jakarta



Gambar 3. Hasil Analisis Sekuensing untuk Genotipe HIV -1 dan Subtipe _E yang Berasal dari RSDS (RS Dr Soetomo) dan RSSA (RS Saiful Anwar) Jawa Timur

Dari wilayah Propinsi DKI Jakarta didapatkan bahwa subtype E lebih dominan dengan jumlah penderita sebanyak 24 orang atau 60% dari total 40 responden. Kemudian disusul oleh subtype CRF01_AE yaitu 14 responden (35%), dan terakhir adalah subtype B yaitu dengan 2 responden (5%). Propinsi Jawa Timur didapatkan bahwa seluruh responden positif HIV -1 subtype CRFO 1_AE merupakan penderita terbanyak yaitu 30 responden (74%) kemudian disusul oleh subtype B dan E dengan komposisi yang sama yaitu 5 responden (13%). Seperti yang disajikan pada Gambar 5 dan 6.

Analisis secara molekuler dengan menggunakan *software Mega 4* dan BLAST pada NCBI didapatkan adanya hubungan yang erat antara sekuens

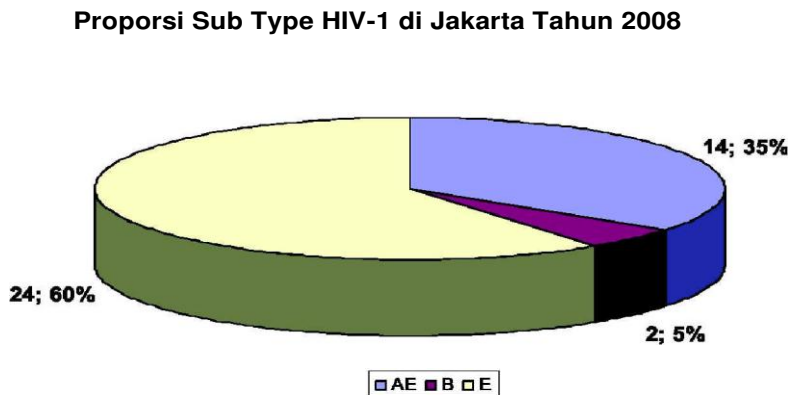
CRFO 1_AE tersebut dengan sekuens dari negara - negara Asia Tenggara lain, seperti Thailand, Cambodia, dan China (Gambar 1). Berdasarkan hal tersebut, kemungkinan subtype CRFO 1 AE di Indonesia berasal dari negara lain di wilayah Asia Tenggara tersebut. Virus HIV strain Indonesia walaupun memiliki kedekatan secara genotype dengan virus HIV asal Asia tenggara namun jika dilihat lebih lanjut virus strain Indonesia memiliki banyak mutasi pada nukleotidanya, hal ini dikarenakan oleh tingginya kecepatan mutasi pada virus HIV atau kemungkinan Virus HIV-1 CRFO 1 AE strain Indonesia memiliki karakteristik yang berbeda dengan Virus genotype dan subtype yang sama pada virus negara lain. Hal ini masih harus dibuktikan dengan penelitian lebih lanjut.

```

      10      20      30      40      50      60      70      80
gill14860909_Cbiliala  GCTATkGAGGCGkGCAGCATATGTTGCAACTCACTGTCTGGGGCATTAAACAGCTCCKGGCAAGkGTCCTGGCTGTGGAAAC
RSDS_02_subtype_B    GCTATkGAGGCGkGCAGCATATGTTGCAACTCACTGTCTGGGGCATTAAACAGCTCCKGGCAAGkGTCCTGGCTGTGGAAAC
RSDS_03_Subtype_B    GCTATkGAGGCGCAACAGCATCTGTTGCAACTCACTGTCTGGGGCATTAAACAGCTCCKGGCAAGkGTCCTGGCTGTGGAAAC
RSDS_14_sub .ype_B   GTCA ACCGGTTCCTCAGATTTGGCCGTTTATCCAATTCCAGGAATC TTTTCGTTCTTGTCTGATGTTCTGTCG

      110     120     130     140     150     160     170     180
gill14860909_Cbiliala  AGTTTCTAGGACTTTGGGGCTGCTCTGGAAAAATCATCTGCACCACTGCTGTGCCCTGGAACCTCACTTGGAGTAATAAATC1
RSDS_02_subtype_B    AGTTTCTAGGACTTTGGGGCTGCTCTGGAAAAATCATCTGCACCACTGCTGTGCCCTGGAACCTCACTTGGAGTAATAAATC1
RSDS_03_Subtype_B    AGTTTCTAGGACTTTGGGGCTGCTCTGGAAAAATCATCTGCACCACTGCTGTGCCCTGGAACCTCCGCTTGGAGTAATAGATOC
RSDS_14_subtype_B    AATATTT GGTCTGTGTAATTGCT AATTTCCCTCTCCCATTTGTGCCATGTCATGTTGTTCCAAATCTCTTCATAAGAAL
    
```

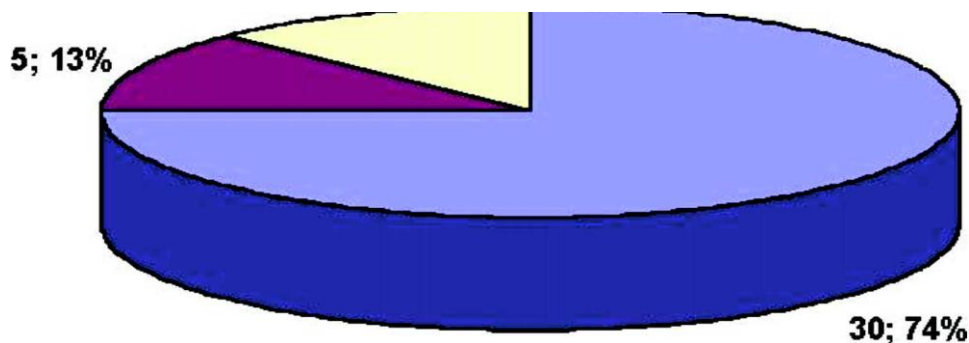
Gambar 4. Hasil Analisis Sekuensing untuk Genotipe HIV-1 dan Subtipe_B yang Berasal dari RSDS (RS Dr Soetomo) Jawa Timur.



Gambar 5. Diagram distribusi subtype HIV-1 di RS Ketergantungan Obat dan RS Dharmais (Jakarta)

1.

Proporsi Sub Type HIV-1 di Jawa Timur Tahun 2008 5; 13%



Gambar 6. Diagram Distribusi Subtype HIV-1 di RS Saiful Anwar Malang dan RS Dr. Soetomo Surabaya (Jawa Timur)

Human Immunodeficiency Virus subtype E pada penelitian ini secara molekular memiliki kedekatan dengan Subtype E pada negara Thailand dan China (Gambar 3). HIV-1 subtype E hasil sekuens yang sama pada umumnya sama pada penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Porter *et al* (11). Namun pada beberapa spesimen asal RS Dr Soetomo (Jawa Timur) pada gambar 1 c (1 00-17 5 nucleotida) didapatkan hasil yang cukup berbeda dari strain Thailand dan China. Dari hasil analisis tersebut dapat dilakukan uji lanjutan untuk memastikan strain baru HIV -1 subtype E asal Indonesia.

Subtype B umumnya banyak pada wilayah dataran Eropa dan Amerika seperti Eropa Barat, Amerika Latin, Jepang, Australia, dan Selandia Baru (5). Secara molekular subtype B dari penelitian ini kemungkinan didapatkan dari China (Gambar 4), hal ini dikarenakan strain HIV -1 subtype B memiliki kedekatan secara genetik dengan strain asal China.

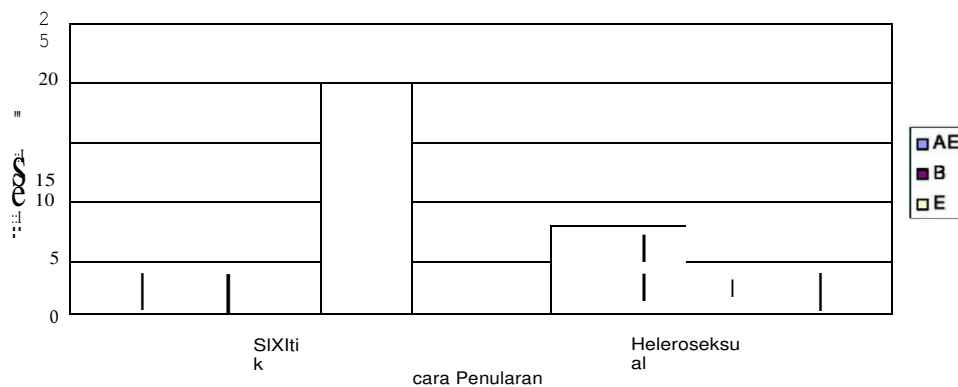
Hubungan Variasi Metode Penularan Virus dengan Subtype Virus HIV

Hasil analisis data hasil wawancara dengan ODHA di Propinsi DKI Jakarta

menunjukkan bahwa pola penyebaran HIV pada responden adalah melalui jarum suntik dan hubungan seks (heteroseksual). *Human Immunodeficiency Virus* (HIV-1) subtype E dominan pada metode penularan dengan jarum suntik, kemudian disusul oleh subtype CRFOI_AE, dan subtype B. Pada penularan dengan cara seksual di Jakarta subtype CRFOI_AE lebih dominan disusul oleh Subtype E dan B. Berdasarkan data tersebut dapat dilihat bahwa perbedaan metode penularan dapat menghasilkan perbedaan subtype yang dominan. Hasil dari analisis tersebut dapat dilihat pada Gambar 7.

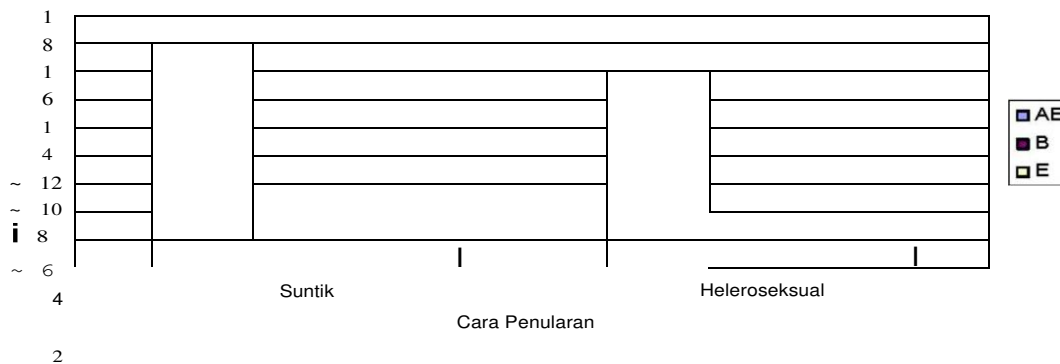
Responden dari Propinsi Jawa Timur memiliki pola penyebaran HIV melalui jarum suntik dan hubungan seks yaitu heteroseksual. Pada Gambar 8 dapat dilihat bahwa HIV -1 subtype CRFO 1_ AE dominan pada metode penularan dengan jarum suntik, kemudian disusul oleh subtype E, dan B. Pada penularan dengan cara seksual di Jawa Timur subtype CRFO 1_ AE lebih dominan disusul oleh Subtype E dan B. Berdasarkan data tersebut dapat dilihat bahwa perbedaan metode penularan dapat menghasilkan perbedaan subtype yang dominan.

Hubungan Sub type HIV-1 dengan Cara Penularan di Jakarta



Gambar 7. Hubungan Subtype *HN-1* dengan Metode Penularan pada DKI Jakarta.

Hubungan Antara Sub Type HIV-1 dengan Cara Penularan 01 Propinsi Jawa Timur



Gambar 8. Hubungan Subtype *HN-1* dengan Metode Penularan pada Jawa Timur

Propinsi Jakarta dan Jawa Timur memiliki metode penularan yang terbesar yaitu dengan IDU. Propinsi Jakarta pengguna IDU memiliki subtype virus dominan yang berbeda dengan pengguna IDU propinsi Jawa Timur, yaitu untuk propinsi Jakarta subtype virus yang dominan adalah subtype E sedangkan Jawa timur subtype CRF01_AE. Berdasarkan data tersebut dapat dilihat bahwa penggunaan jarum suntik yang tidak steril merupakan faktor resiko yang sangat besar terhadap metode penularan. Dan setiap propinsi memiliki karakteristik virus yang berbeda, dan secara tidak

langsung tidak dapat ditarik sebuah kesimpulan bahwa metode penularan berhubungan dengan subtype virus.

Metode penularan dengan cara heteroseksual pada propinsi Jakarta memiliki subtype virus yang dominan adalah CRF01_AE, hasil yang sama juga ditunjukkan pada propinsi Jawa Timur.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian diatas dapat disimpulkan bahwa propinsi Jakarta dan Jawa Timur hanya didapatkan 1 buah genotipe HIV yaitu HIV tipe 1 (HIV -1) dan ditemukan 2 buah subtype yaitu HIV-

1 Subtipe B dan subtipe E serta 1 buah virus rekombinan yaitu CRF01_AB. Subtipe *CRF01_AB* adalah subtipe yang paling banyak dijumpai dalam penelitian ini dan tersebar di beberapa daerah propinsi Jawa Timur dan DKI Jakarta dengan total 44 orang kemudian disusul oleh subtipe E yaitu sebanyak 29 orang dan subtipe B sebanyak 7 orang penderita yang tersebar pada populasi propinsi Jakarta dan Jawa Timur.

Pada penelitian ini tidak ditemukan hubungan variasi genotipe dan subtipe virus dengan metode penularan. Hal ini dibuktikan dengan penularan melalui jarum suntik pada propinsi Jakarta dominan HIV -1 subtipe E sedangkan dengan metode penularan yang sama pada propinsi Jawa Timur memiliki dominan virus yang berbeda yaitu HIV-1 subtipe CRFO 1_AB.

UCAPAN TERIMA KASIH

Kami mengucapkan terima kasih kepada dokter dan perawat di RS. Dr. Soetomo, RS. Syaiful Anwar, RS. Ketergantungan Obat dan RS. Dharmais yang sangat membantu kelancaran penelitian ini. Terima kasih juga kami sampaikan kepada Bapak Eko Rahardjo yang merupakan Peneliti Utama dari penelitian ini yang memberikan kesempatan kepada kami untuk menuliskan hasil penelitian ini. Dan tidak terlupa kepada seluruh anggota tim peneliti pusat maupun daerah serta teman sejawat di laboratorium virology dan biologi molekuler Puslitbang Biomedis dan Farmasi yang telah bekerjasama dalam melaksanakan penelitian ini, kami haturkan terima kasih yang sebesar-besarnya.

DAFTAR RUJUKAN

1. Levy, Jay A, Hoffman, Anthony D. Kramer, Susan M, Susan, M. Landis, Jill A. Shimabukura, Joni M. Oshiro, Lyndon S.

Isolation of lymphocytopathic retro-viruses from San Francisco patients with AIDS. *Science* 1984 : 25:840-842.

2. Myers GL. HIV: Between past and future. *AIDS Res. Hum. retroviruses* 1994: 10:1317-1325.
3. Sharp PM, Robertson DL, Gao F, Hahn B. 1994. Origins and diversity of Human Immunodeficiency Viruses. *AIDS* 4 (suppl) 1994: S27-42.
4. Barre-Sinoussi F. HIV as the cause of AIDS. *The Lancet* 1996:348:31-35.
5. Richman, Douglas D., Richard J. Whitley, and Frederick G. Hayden (ed.). *Clinical Virology*. ASM Press, Washington DC.2002:685-716.
6. Korber BTM, Allen EE, Farmer AD, Myers GL. Heterogeneity of HIV-1 and HIV-2. *AIDS* 9 (supplA) 1995: S5-18.
7. Peeters M. Review. Recombinant HIV sequences: their role in the global epidemic. HIV sequences Database, Los Alamos 2001.
8. Depkes RI. Statistik kasus HIV/AIDS di Indonesia. 15 April 2008. 5hlm. <http://www.aids-ina.org/files/datakasus/mar2008.pdf>. Diakses pada tanggal 10 Februari 2009. pk 21.00
9. Ditjen PPM&PL Depkes RI. Statistik kasus HIV/AIDS di Indonesia. 31 Maret 2009. <http://spiritia.or.id/Stats/StatCurr.pdf>. Diakses pada tanggal 12009 Juni 8. pk 19.00
10. Pieniazek Damita, Chunfu Yang, and Renu B. Lal. 2009. Phylogenetic Analysis of GP 41 envelope of HIV-1 Groups M, N, and O Strain provide al alternate region for Subtype Determination. www.hiv.lanl.gov/content/sequence/HIV/..GP41RENU.pdf Diakses pada tanggal 19 June 2009 pk 07.00
11. Porter KR, Mascola JR, Hupudio H, Ewing D, VanCott TC, Anthony RL, Corwin AL, Widodo S, Ertono S, McCutchan FE, Burke DS, Hayes CG, Wignall FS, Graham RR. 1997. Genetic, antigenic and serologic characterization of human immunodeficiency virus type 1 from Indonesia. *JAIDS* 1997:14:1-6.