

**DISERTASI**

**PENGARUH INDUKSI VAKSIN INFLUENZA TRIVALENT TERHADAP  
RESPONS ANTIBODI, IMUNOGLOBULIN G DAN INTERLEUKIN 4  
PADA FERRET (*MUSTELA PUTORIUS FURO*)**



**LESTARI DEWI**

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

**PENGARUH INDUKSI VAKSIN INFLUENZA TRIVALENT TERHADAP  
RESPONS ANTIBODI, IMUNOGLOBULIN G DAN INTERLEUKIN 4  
PADA FERRET (*MUSTELA PUTORIUS FURO*)**

**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)

Hari : Senin  
Tanggal : 29 Juli 2019  
Pukul : 10.00 – 12.00 WIB

**Oleh :**

**LESTARI DEWI  
011217017310**

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

**LEMBAR PENGESAHAN**

**PENGARUH INDUKSI VAKSIN INFLUENZA TRIVALENT TERHADAP  
RESPONS ANTIBODI, IMUNOGLOBULIN G DAN INTERLEUKIN 4  
PADA FERRET (*MUSTELA PUTORIUS FURO*)**

YANG TELAH DISETUJUI  
PADA TANGGAL 29 JULI 2019

Oleh :

**Promotor**



Prof. Sri Agus Sudjarwo, drh., MS., PhD.  
NIP. 1956.0904198403.1.004

**Kopromotor**



Prof. Dr. Harianto Notopuro, dr., MS.  
NIP. 1949.1213197603.1.001

**Disertasi ini telah diuji dan dinilai  
oleh panitia penguji Ujian Tahap 1 (Tertutup)  
pada Tanggal 28 Juni 2019**

**Panitia Penguji**

- Ketua : 1. Prof. Dr. Chairul Anwar Nidhom, drh., MS  
Anggota : 2. Prof. Sri Agus Sudjarwo, drh., MS., PhD.  
3. Prof. Dr. Harianto Notopuro, dr., MS.  
4. Prof. Dr. Jusak Nugraha, dr., MS., Sp.PK(K)  
5. Dr. Hari Basuki Notobroto, dr., M.Kes  
6. Dr. Hariyanto, drs., M.Si  
7. Dr. Rochmah Kurnijasanti, drh. M.Si

Ditetapkan dengan Surat Keputusan  
Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga  
Tentang Panitia Penguji Disertasi  
Nomor : 193/UN3.1.1/KD/2019  
Tanggal : 2 Juli 2019

## UCAPAN TERIMA KASIH

Bismillahirrahmanirrahim

Assalamu'alaikum warahmatullahi wabarakatuh

Alhamdulillah rabbil'alamiin. Tidak ada kalimat yang lebih pantas saya ucapkan selain kalimat syukur, segala puji bagi Allah SWT yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang yang melapangkan segala urusan sehingga disertasi ini dapat saya selesaikan.

Dengan izin Allah SWT, disertasi ini dapat saya selesaikan melalui dorongan, bimbingan, arahan, saran dan koreksi dari Tim Promotor dan Ko-Promotor, oleh karena itu perkenankan saya menghaturkan rasa terima kasih yang tulus serta penghargaan yang setinggi-tingginya kepada yang terhormat:

Prof. Sri Agus Sudjarwo, drh., MS., PhD, guru besar di bidang Farmakologi, sebagai penasehat akademik dan Promotor yang telah dengan penuh pengertian, dan kesabaran, telah meluangkan waktu untuk berdiskusi dan memberi masukan, serta senantiasa memberikan semangat kepada saya untuk berusaha segera menyelesaikan disertasi ini. Saya ucapkan terima kasih yang tak terhingga, semoga Allah Swt melimpahkan rahmat dan hidayahNya untuk beliau.

Dr Prof. Dr. Harianto Notopuro, dr., MS., sebagai Ko-Promotor, yang meluangkan waktu diantara kesibukan beliau, memberi arahan dan bimbingan dalam pelaksanaan penelitian, penyusunan disertasi, mengajarkan cara berpikir ilmiah, memberikan dorongan dan semangat, bahwa saya mampu menyelesaikan disertasi ini. Saya ucapkan terima kasih yang sedalam-dalamnya.

Kemenristek DIKTI yang telah memberikan bantuan Beasiswa Pendidikan Dalam Negeri (BPDN), para pimpinan dan staf bagian pendidikan Universitas Airlangga, khususnya Ibu Diah dan Bapak Adi, yang telah memfasilitasi dan membantu pengurusan BPDN.

Prof. Dr. Moh. Nasih, S.E., M.T., Ak. selaku Rektor Universitas Airlangga dan Prof. Dr. Fasichul Lisan, Apt. selaku mantan Rektor Universitas Airlangga yang telah menerima saya sebagai peserta didik Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.

Prof. Dr. Soetojo, dr., Sp. U selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga dan Prof. Dr. Agung Pranoto, dr., M. Kes., Sp. PD, K-EMD, FINASIM selaku mantan Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga yang telah memberi kesempatan dan fasilitas kepada saya sebagai peserta didik Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.

Prof. Dr. H. Joewono Soeroso, dr., M.Sc., Sp. PD-KR selaku Ketua Program Studi Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga dan Prof. Dr. Teddy Ontoseno, dr., Sp. A (K), Sp. JP, AKK.FIHA selaku mantan Ketua Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga yang telah memberikan kesempatan kepada saya untuk mengikuti dan menyelesaikan pendidikan doctoral saya.

Laksamana Muda TNI (purn) Dr. Sudirman Ir., S.IP., S.E., M. AP. selaku Rektor Universitas Hang Tuah dan Sutarno, dr., Sp. THT-KL, S.H., M.H. selaku

mantan Rektor Universitas Hang Tuah beserta jajarannya, atas ijin dan segala fasilitas yang diberikan kepada saya selama menjalani pendidikan doctoral saya.

Sakti Hoetama, dr., Sp. U selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Hang Tuah serta Janto Poernomo Hadi, dr., Sp. P, Sp. KL dan A. Sareh A. Tjandra, dr., Sp. PK selaku mantan Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Hang Tuah beserta jajarannya, yang telah memberikan ijin, toleransi dan fasilitas kepada saya selama menjalani pendidikan doctoral.

Terimakasih yang tak terhingga kepada Prof. Dr. Chairul Anwar Nidhom, drh., MS, selaku pembimbing dan penguji, yang telah memberikan segala fasilitas, bimbingan dan membantu semua proses yang diperlukan dalam penelitian dan selalu memberikan semangat untuk menyelesaikan disertasi.

Terimakasih sebesar-besarnya kepada PT Bio Farma (Persero) yang telah memberikan bantuan dan sarana dalam terselenggaranya penelitian.

Terimakasih tak terhingga kepada Dr.Reviany V.Nidom, S.Farm, Apt. dan Dr. Ema Qurnianingsih yang sangat membantu saya dalam proses penelitian, Dr. M.Yusuf Alamudi, B.Sc.,M.Trop.Med., dan segenap rekan staf peneliti di Yayasan Profesor Nidom yang telah memberikan dorongan, motivasi, kerjasama dan semangat dalam menyelesaikan disertasi ini dengan penuh kekeluargaan. Semoga semuanya sukses dan penuh berkah Allah SWT.

Dr. Hari Basuki Notobroto, dr., M.Kes. selaku dosen Pasca Sarjana dan penguji statistik, yang telah meluangkan waktu untuk memberikan bimbingan dan saran yang sangat berharga dalam metode penelitian serta analisis data dan interpretasinya.

Ucapan terima kasih sebesar-besarnya juga saya sampaikan kepada seluruh staf pengajar Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga yang telah memberikan ilmu dasar maupun terapan yang sangat bermanfaat sebagai dasar penyusunan disertasi saya.

Ucapan terima kasih yang tak terhingga saya sampaikan kepada guru dan dosen yang pernah mengajar saya sejak sekolah dasar hingga pendidikan magister yang telah memberikan landasan keilmuan, yang tidak mungkin saya sebutkan satu persatu.

Segenap rekan sejawat dosen dan staf Fakultas Kedokteran Universitas Hang Tuah yang telah memberikan dorongan, motivasi, kerjasama dan semangat dalam menyelesaikan pendidikan program doktor ini

Seluruh rekan seangkatan peserta Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor Universitas Airlangga Angkatan 2012, yang telah saling memberi semangat dan motivasi untuk menyelesaikan pendidikan doctoral, saya ucapkan terima kasih atas segala suka duka yang telah kita lalui bersama.

Rasa hormat, terima kasih dan kasih sayang yang sangat dalam saya sampaikan pada kesempatan ini kepada: orangtua saya tercinta, Harsono, dan ibu Koestningsih, yang telah mengasuh, mendidik, memberi tauladan, serta melimpahi saya dengan kasih sayang dan perhatian hingga saat ini. Semoga saya dapat menjadi anak yang sesuai dengan harapan mereka, yang senantiasa mendoakan agar Allah SWT menyayangi mereka melebihi kasih sayang mereka kepada saya.

Kepada mertua saya, H. Maskoer (alm) dan ibu Fatimah Raisi yang telah memberikan semangat dan kasih sayang yang tidak putus-putusnya. Saya

sampaikan terima kasih yang mendalam dan tulus. Semoga Allah SWT senantiasa melimpahi ridlo dan lindungannya.

Rasa kasih sayang dan terima kasih setulus-tulusnya saya sampaikan kepada suami saya Mukhlis, Ir., yang dengan kesabarannya selalu mendampingi saya menjalani kehidupan dan selama menempuh proses pendidikan ini, memberikan waktu, kesempatan dan toleransi, mendengarkan keluh kesah, memberikan semangat, dorongan dan doa agar disertasi ini dapat diselesaikan, serta kepada anak-anak saya Dani, Adit, dan Raven yang menjadi pemberi semangat dan pendorong agar saya segera menyelesaikan disertasi ini. Semoga Allah SWT senantiasa meridhoi, memberkahi dan menjaga mereka.

Kepada saudara-saudara saya tercinta, saudara-saudara ipar, yang saling mendoakan, saling menjaga, saling mengingatkan dan saling membantu dalam menjalani kehidupan. Saya ucapkan terima kasih yang tiada terkira.

Terimakasih saya sampaikan kepada semua pihak yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu, yang telah memotivasi, mendukung dan membantu hingga disertasi ini dapat saya selesaikan. Semoga Tuhan Yang Maha Esa membalas budi baik mereka.

Saya sangat menyadari bahwa tulisan ini sangat jauh dari sempurna, oleh karena itu saya menerima saran dan kritik demi perbaikan dan kesempurnaan naskah disertasi ini.

Semoga hasil penelitian ini bermanfaat bagi kemajuan ilmu kedokteran dan bagi umat manusia. Semoga Allah SWT melimpahkan taufik dan hidayahNya kepada semua pihak yang telah membantu dalam bentuk apapun dalam penyelesaian disertasi ini.

Aamiin ya rabbal'amin

Billahitaufiq wal hidayah

Wassalamu'alaikum warahmatullohi wabarokatuh

Surabaya, 22 Juli 2019

Penulis

**RINGKASAN****PENGARUH INDUKSI VAKSIN INFLUENZA TRIVALENT TERHADAP  
RESPONS ANTIBODI, IMUNOGLOBULIN G DAN INTERLEUKIN 4  
PADA FERRET (*MUSTELA PUTORIUS FURO*)****Lestari Dewi**

Virus seasonal influenza telah menginfeksi 5-15% populasi manusia setiap tahun, yang mengakibatkan 250.000 - 500.000 kematian di seluruh dunia (Kuan Ying A. *et al.*, 2017; Kathryn A.R., *et al.* 2018 ). Infeksi virus seasonal influenza menyebabkan epidemi tahunan yang merupakan sumber beban kesehatan masyarakat yang signifikan di seluruh dunia ( Kathryn *et al.*, 2018). Influenza juga mengakibatkan kerugian di bidang ekonomi yang signifikan ( Adoracion *et al.*, 2019). Infeksi virus influenza menyebabkan penyakit pernapasan yang sangat menular. Gejalanya mungkin ringan hingga berat, sering kali mengarah ke rawat inap dan kematian ( Adoracion *et al.*, 2019). Pneumonia adalah komplikasi yang paling sering menyebabkan kematian saat wabah influenza (Majed *et al.*, 2016). Virus influenza adalah termasuk *Orthomyxoviridae* family dan memiliki genom berisi delapan segmen *single stranded, negative sense* RNA. Subtipe virus influenza A yang saat ini beredar di antara manusia sebagai seasonal influenza adalah influenza A (H1N1) dan A (H3N2) ( Adoracion , *et al.*, 2019 ; Kathryn *et al.*, 2018). Virus influenza B dapat dipilah menjadi 2 kelompok utama atau garis keturunan, B / Yamagata dan B / Victoria ( Adoracion *et al.*, 2019).

Epidemi *seasonal influenza* yang terjadi setiap tahun disebabkan oleh evolusi virus *seasonal influenza* yang terus-menerus, yang memungkinkan mereka untuk menghindari imunitas tubuh akibat infeksi atau vaksinasi sebelumnya, dan



kemampuan dari virus-virus tersebut yang bisa ditransmisikan secara efisien dari manusia ke manusia melalui pernafasan, kontak langsung, dan melalui barang-barang yang pernah disentuh penderita *seasonal influenza* ( Velislava *et al.*, 2017). Oleh karena itu, obat antiviral dan vaksinasi merupakan solusi yang lebih prospektif untuk mengontrol wabah influenza ( Babak *et al.*, 2010).

Vaksin seasonal influenza trivalent mengandung tiga virus influenza yang berbeda, A H1N1, A H3N2 dan strain B. Antibodi terhadap haemagglutinin virus (HA) berkorelasi penting dengan perlindungan, dan komposisi vaksin biasanya distandarisasi menurut titer HA (Claudia *et al.*, 2016). Hemagglutinin (HA), glikoprotein di permukaan virus influenza adalah target utama proteksi dari respon imun ( Colin *et al.*, 2008). Vaksinasi yang efektif pada penyakit manusia tergantung pada kapasitas vaksin untuk menstimulasi respon imun protektif terhadap pathogen dan dapat memproduksi imunitas humoral dan imunitas seluler. Dalam imunitas humoral, limfosit B mensekresi antibodi yang bertanggungjawab untuk *specific recognition and neutralization* pathogen yang berasal dari antigen. (Paul *et al.*, 2009). Perubahan di tingkat sitokin selama vaksinasi dapat memiliki efek yang besar terhadap efikasi vaksin (Paul *et al.*, 2009). Interleukin 4 adalah salah satu sitokin paling berpengaruh dari sistem kekebalan tubuh yang paling banyak dipelajari. Fungsi awal interleukin 4 adalah sebagai faktor stimulasi sel B, namun sekarang diketahui bahwa sitokin ini mengatur segudang fungsi kekebalan tubuh termasuk *switching* Ig isotipe, ekspresi MHC kelas II oleh sel B, dan peran diferensiasi subset sel T dari Th0 menjadi Th 2 (Melissa, 2008; William *et al.*, 1996; Luh *et al.*, 2018). Perubahan di tingkat sitokin selama vaksinasi dapat memiliki efek yang besar terhadap efikasi vaksin (Paul *et al.*, 2009). Meskipun

penggunaan vaksin telah meluas dan vaksinasi telah berhasil memberantas penyakit menular yang mematikan, akan tetapi bagaimana vaksin bekerja dan mengapa vaksin gagal, masih menjadi misteri. Oleh karena itu, memahami mekanisme dari respon vaksin adalah merupakan tujuan penting bagi imunologi dasar dan kesehatan masyarakat (Shai *et al.*, 2013).

Tujuan penelitian ini adalah membuktikan bahwa vaksinasi influenza trivalent mempengaruhi respon antibodi, IL-4 dan IgG pada ferret. Rancangan penelitian yang digunakan adalah jenis penelitian eksperimental laboratorik. Unit eksperimen penelitian adalah hewan coba ferret (*Mustela putorius furo*), betina, umur 4-6 bulan, berat badan 800-900 gram. Penelitian dilakukan di *unit Animal Bio Safety Level 3* Universitas Airlangga pada bulan Januari 2017 dan Institut Medical Science University of Tokyo, pada bulan September 2017.

Hasil penelitian ini adalah terdapat peningkatan respon antibodi pada ferret (*Mustela putorius furo*) yang divaksinasi influenza trivalent pada semua dosis vaksinasi yang diberikan, pada metode *one shot* maupun *two shot*, terdapat peningkatan kadar imunoglobulin G pada ferret (*Mustela putorius furo*) yang divaksinasi influenza trivalent pada dosis 3,8 µg dan 7,5 µg metode *one shot*, tidak didapatkan peningkatan kadar interleukin 4 pada ferret (*Mustela putorius furo*) yang divaksinasi influenza trivalent, tidak didapatkan perubahan berat badan tubuh ferret (*Mustela putorius furo*) yang divaksinasi influenza trivalent, tidak didapatkan perubahan suhu tubuh ferret (*Mustela putorius furo*) yang divaksinasi influenza trivalent, terdapat hubungan linier antara dosis vaksin 3,8 µg metode *one shot* dengan pembentukan titer antibodi terhadap antigen H1 dan H3, dan antara titer antibodi antigen H1 dan H3 dengan kadar IgG yang spesifik antigen H1 dan H3.

**SUMMARY****THE EFFECT OF TRIVALENT INFLUENZA VACCINES INDUCTION ON THE ANTIBODY RESPONSE, IMMUNOGLOBULIN G AND INTERLEUKIN 4 IN FERRET (*MUSTELA PUTORIUS FURO*)****Lestari Dewi**

The seasonal influenza virus has infected 5-15% of human population annually causing 250,000 - 500,000 deaths worldwide (Kuan *et al.*, 2017; Kathryn *et al.*, 2018). Its infection leads to the annual epidemics which are the significant source of public health burden throughout the world (Kathryn *et al.*, 2018). Influenza also emerges significant economic losses (Adoracion *et al.*, 2019). Influenza virus infections trigger respiratory diseases that are highly contagious. The symptoms may be mild to severe and often lead to hospitalization and death (Adoracion *et al.*, 2019). Furthermore, pneumonia is a complication that mostly causes death during influenza outbreaks (Majed *et al.*, 2016). Influenza viruses which include Orthomyxoviridae family have genomes containing eight single stranded and negative sense RNA segments. Subtype A influenza virus currently circulates among humans as seasonal influenza is influenza A (H1N1) and A (H3N2) (Adoracion *et al.*, 2019; Kathryn *et al.*, 2018). Meanwhile, subtype B influenza viruses can be divided into 2 main groups or lineages, they are B/Yamagata and B/Victoria (Adoracion *et al.*, 2019).

The seasonal influenza epidemic that occurs every year is caused by the continuous evolution of seasonal influenza viruses which allows them to avoid the body immunity due to the previous infection or vaccination and provide them with the ability to be transmitted efficiently from human to human through breathing, direct contact, and through items that have been touched by patients with seasonal

influenza (Velislava *et al.*, 2017). Therefore, antiviral drugs and vaccinations are more prospective solutions for controlling the influenza outbreaks (Babak *et al.*, 2010).

The seasonal influenza vaccine, trivalent, contains three different influenza viruses, they are A H1N1, A H3N2 and strained B. Antibodies of haemagglutinin virus (HA) are significantly correlated with protection and the composition of vaccines is usually standardized according to HA titer (Claudia *et al.*, 2016 ) Hemagglutinin (HA), and glycoprotein on the surface of influenza viruses which are the main target of protection from the immune response (Colin *et al.*, 2008).

An effective vaccination in human diseases depends on the capacity of vaccine to stimulate a protective immune response to pathogens and to produce humoral immunity and cellular immunity. In humoral immunity, B lymphocytes secrete antibodies which are responsible for the specific recognition and the neutralization pathogens derived from antigens. Changes in cytokine levels during vaccination can have a large effect on the vaccine's efficacy (Paul *et al.*, 2009). Interleukin 4 is one of the most influential cytokines of the most studied immune system. The initial function of interleukin 4 is a B cell stimulation factor, but it is now known that these cytokines regulate a myriad of immune functions including switching Ig isotype, MHC class II expression by B cells, and the role of T cell subset differentiation to Th 2 (Melissa , 2008; William *et al.*, 1996; Luh *et al.*, 2018). Although the vaccine's uses have expanded, vaccinations have succeeded in eradicating the lethal infectious diseases. However, how vaccines work and why vaccines fail is still a mystery. Therefore, understanding the mechanism of vaccine response is an important goal for basic immunology and public health (Shai *et al.*, 2013).

The study aimed to prove that trivalent vaccination of influenza affects the responses of antibody, IL-4 and IgG on ferret. The research design used was a type of laboratory experimental research. The experimental unit was ferret (*Mustela putorius furo*), female, aged 4-6 months and weighted 800-1400 grams. The study was conducted at the Animal Bio Safety Level 3 unit of Airlangga University in January 2017 and University of Tokyo's Medical Science Institute, in September 2017. The results of this study were not found change in ferret body weight (*Mustela putorius furo*) vaccinated with trivalent influenza, no changes in ferret (*Mustela putorius furo*) dawn temperature were vaccinated with trivalent influenza, there was an increase in antibody response titer against H1, H3 and By antigens to ferret (*Mustela putorius furo*) vaccinated with trivalent influenza at all given vaccination at doses of 3,8 µg, 7,5 µg, 15 µg and 30 µg, in one shot and two shot methods, increased levels of specific immunoglobulin G against H1 and H3 antigens in ferret (*Mustela putorius furo*) were vaccinated with trivalent influenza at doses of 3.8 µg and 7.5 µg of one shot method, increase in levels of interleukin 4 in ferret (*Mustela putorius furo*) vaccinated with trivalent influenza at doses of 3.8 µg and 30 µg of two shot method, and there is a positive correlation between the vaccine dose of 3.8 µg one shot method and the formation of antibody titers against H1 and By antigens, and there is a positive correlation between antibody titers against H1 and By antigen with specific IgG levels against H1 and By antigens.