

TESIS

**Profil Immunoglobulin G (IgG) dan IFN Gamma (IFN- γ)
Pada Mencit (*Mus musculus*) Setelah Vaksinasi
COVID-19 Secara Lengkap**



OLEH

BALQIS AFIFAH

NIM 061924453001

**PROGAM STUDI MAGISTER
VAKSINOLOGI DAN IMUNOTERAPETIKA
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2022**

**Profil Immunoglobulin G (IgG) dan IFN Gamma (IFN γ)
Pada Mencit (*Mus musculus*) Setelah Vaksinasi
COVID-19 Secara Lengkap**

PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIS

TESIS

**Untuk memperoleh gelar Magister
Dalam Program Studi Vaksinologi dan Imunoterapetika
Pada Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga
Surabaya**

**BALQIS AFIFAH
061924453001**

**PROGAM STUDI MAGISTER
VAKSINOLOGI DAN IMUNOTERAPETIKA
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2022**

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam Tesis berjudul :

**Profil Immunoglobulin G (IgG) dan IFN Gamma (IFN γ)
Pada Mencit (*Mus musculus*) Setelah Vaksinasi
COVID-19 Secara Lengkap**

Tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar Magister di suatu perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka

Surabaya, 15 Juli 2022



Balqis Afifah
NIM 061924453001

Lembar Pengesahan

TESIS INI TELAH DISETUJUI
Tanggal, 15 Juli 2022

Oleh:

Pembimbing Ketua



Prof. Dr. Chairul Anwar Nidom, MS.,drh.
NIP. 19580308194031003

Pembimbing



Dr. Kuncoro Puguh S, M.Kes.,drh.
NIP. 196612151992031014

Mengetahui,
Ketua Program Studi Vaksinologi dan Imunoterapetika
Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga



Dr. Jola Rahmahani, M.Kes.,drh.
NIP. 195807131986012001

Usulan Penelitian Tesis ini telah diuji dan dinilai pada

Tanggal : Rabu, 01 Desember 2021

PANITIA PENGUJI USULAN PENELITIAN TESIS

Pembimbing I : Prof. Dr. Chairul Anwar Nidom, MS.,drh.

Pembimbing II : Dr. Kuncoro Puguh S, M.Kes.,drh.

Ketua Penguji : Dr. Jola Rahmahani, M.Kes.,drh.

Anggota : Prof. Imam Mustofa, drh., M.Kes

Anggota : Dr. Soeharsono, drh., M.Si

Tesis ini telah diuji dan dinilai pada

Tanggal : Senin, 18 Juli 2022

PANITIA PENGUJI TESIS

Pembimbing I : Prof. Dr. Chairul Anwar Nidom, MS.,drh.

Pembimbing II : Dr. Kuncoro Puguh S, M.Kes.,drh.

Ketua Penguji : Dr. Jola Rahmahani, M.Kes.,drh.

Anggota : Prof. Imam Mustofa, drh., M.Kes

Anggota : Dr. Soeharsono, drh., M.Si

Surabaya, 21 Juli 2022
Fakultas Kedokteran Hewan
Universitas Airlangga
Dekan,



Prof. Dr. Mirni Lamid, drh., M.P.
NIP. 1962011819920

UCAPAN TERIMA KASIH

Alhamdulillah, puji syukur rahmat dan hidayah Allah SWT, sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan skripsi dengan judul “**Profil Immunoglobulin G (IgG) dan IFN Gamma (IFN- γ) Pada Mencit (*Mus musculus*) Setelah Vaksinasi COVID-19 Secara Lengkap**”

Pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada:

Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya Prof. Dr. Mirni Lamid, drh., M.P dan Ketua Program Studi S2 Vaksinologi dan Imunoterapetika Dr. Jola Rahmahani, M.Kes.,drh. atas kesempatan mengikuti pendidikan di Program Studi S2 Vaksinologi dan Imunoterapetika di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga

Prof. Dr. Chairul Anwar Nidom, MS., drh. dan Dr. Kuncoro Puguh S, M.Kes., drh. selaku pembimbing atas saran, bimbingan dan motivasinya hingga penulis mampu menyelesaikan penelitian dan penyusunan Tesis ini.

Dr. Jola Rahmahani, drh., M.Kes, Prof. Imam Mustofa, drh., M.Kes, Dr. Soeharsono, drh., M.Si selaku penguji atas kesediaan waktunya untuk menguji, menilai, dan memberikan saran pada Tesis ini.

Seluruh Staf Pengajar Program Studi S2 Vaksinologi dan Imunoterapetika Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga atas wawasan keilmuan selama mengikuti pendidikan di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya.

Seluruh staf *Professor Nidom Foundation* (PNF) atas kerjasama, nasehat, dan segala bantuan dalam teknis penelitian ini.

Papa, Mama, Ayah, Ibu, Adik, dan Suami yang tak pernah henti memberikan bantuan doa, semangat, motivasi, nasihat, dan fasilitas pendukung pada Penulis.

Penulis menyadari bahwa masih banyak terdapat kekurangan dan kesalahan sehingga saran dan kritik yang membangun sangat dibutuhkan demi kesempurnaan penyusunan selanjutnya. Semoga tesis ini dapat dijadikan referensi dan menambah pengetahuan bagi yang memanfaatkannya, aamiin.

Surabaya, 29 Juni 2022

Penulis

RINGKASAN

Profil Immunoglobulin G (IgG) dan IFN Gamma (IFN- γ) Pada Mencit (*Mus musculus*) Setelah Vaksinasi COVID-19 Secara Lengkap

Penyakit menular *Severe Acute Respiratory Syndrome Corona Virus 2* (SARSCoV-2) dideklarasikan sebagai ancaman global diseluruh dunia pada tanggal 30 Januari 2020. *World Health Organisation* (WHO) telah menetapkan keadaan darurat yang disebabkan oleh SARS-CoV-2 sebagai wabah pandemik pada 11 Maret 2020 (Nidom R. *et al.*, 2021). Pertimbangan WHO, disebabkan oleh progresifitas penyakit ini sangat cepat dan jumlah pasien yang terpapar semakin banyak (Qin *et al.*, 2020).

Keberhasilan pencegahan dan pengendalian penyakit Covid-19, salah satunya dengan menggunakan vaksin yang efektif dan efisien. Mengacu pada peraturan dan standarisasi dari WHO tahun 2003 bahwa vaksin termasuk dari jenis obat, sehingga vaksin harus melewati uji imunogenisitas. Parameter Uji Imunogenisitas, antara lain meliputi pengujian sel imun humoral (titer antibodi), selular (sitokin) dan daya protektifitas antibodi terhadap virus alam (PRNT). Pengujian respon imun selular, salah satunya meliputi pengujian profil IFN- γ . Pengukuran profil IFN- γ tubuh dapat memberikan informasi penting mengenai mekanisme respon imun dari vaksinasi. Pengujian respon imun humoral, salah satunya meliputi pengujian profil antibodi IgG merupakan respon imun tubuh yang paling mudah dideteksi sebagai salah satu bentuk pemantauan ketahanan sistem imun terhadap antigen yang masuk. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas pemberian formulasi vaksin COVID-19 pada mencit (*Mus musculus*). Efektivitas dinilai berdasarkan profil IgG dan IFN- γ pasca vaksinasi COVID-19. Penelitian ini menggunakan mencit betina dengan berat 20-30 gram. Mencit diinjeksi dengan formulasi vaksin COVID-19 sebanyak 0,1 ml secara subkutan pada hari ke-0, sebagai vaksinasi pertama dan *booster* (ulangan) pada hari ke-21, sebagai vaksinasi ke dua. Adapun rincian perlakuan yang diberikan pada tiap kelompok uji meliputi: Kelompok Perlakuan 1 diinjeksi PBS; Perlakuan 2 diinjeksi adjuvant 1; Perlakuan 3 diinjeksi adjuvant 2; Perlakuan 4 diinjeksi VLPs SARS-CoV-2 dosis 1 (10 μ g); Perlakuan 5 diinjeksi VLPs SARS-CoV-2 dosis 2 (50 μ g); Perlakuan 6 diinjeksi VLPs SARS-CoV-2 dosis 1 + adjuvant 1; Perlakuan 7 diinjeksi VLPs SARS-CoV-2 dosis 1 + adjuvant 2; Perlakuan 8 : diinjeksi VLPs SARS-CoV-2 dosis 2 + adjuvant 1; dan Perlakuan 9 diinjeksi VLPs SARS-CoV-2 dosis 2 + adjuvant 2.

Berdasarkan hasil pengujian respon imun humoral didapatkan pengaruh dari pemberian vaksin COVID-19 yang berupa peningkatan IgG dibandingkan dengan profil IgG sebelum divaksin pada kelompok 2 hingga kelompok 9. Berdasarkan hasil pengujian respon imun selular dengan ELISpot didapatkan pengaruh dari pemberian vaksin COVID-19 yang berupa peningkatan IFN- γ kelompok 2 hingga kelompok 9 dibandingkan kelompok A yang merupakan kontrol perlakuan.

Kesimpulan, pemberian formulasi vaksin COVID-19 efektif untuk menstimulasi respon imun humoral dan selular pada mencit pada kelompok 2 hingga kelompok 9, dengan rerata tertinggi IgG didapatkan pada formulasi vaksin 4 yaitu yang diinjeksi VLPs SARS-CoV-2 dosis 10 μg dan rerata IFN Gamma tertinggi pada kelompok 5 diinjeksi VLPs SARS-CoV-2 dosis 50 μg .

Kata Kunci: COVID-19, VLPs, adjuvant, IFN- γ , IgG.

Profiles Immunoglobulin G (IgG) and IFN Gamma (IFN γ) in Mice (*Mus musculus*) After Complete COVID-19 Vaccination

Balqis Afifah

ABSTRACT

Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) infection and the resulting coronavirus disease 2019 (COVID-19) have afflicted millions of people in a worldwide pandemic. Several vaccines have been developed to prevent infection and illness. The success of preventing and controlling the Covid-19 disease by using an effective and efficient vaccine. This study aimed to find out the profile of IFN- γ and immunoglobulin G (IgG) after COVID-19 Vaccination. This study conducted at Animal Laboratory Professor Nidom Foundation (ABSL-3) start from December 2021 until February 2022 . The present study is an experimental study with a post test only control group design using 90 mice (*Mus musculus*). The test group consisted of mice injected subcutan with 0.1 mL PBS (P1), 0.1 mL adjuvant 1 (P2), 0.1 mL adjuvant 2 (P3), 0.1 mL VLPs SARS-CoV-2 dose 1 (10 μ g) (P4), 0.1 mL VLPs SARS-CoV-2 dose 2 (50 μ g) (P5), 0.1 mL VLPs SARS-CoV-2 dose 1 + adjuvant 1 (P6), 0.1 mL VLPs SARS-CoV-2 dose 1 + adjuvant 2 (P7), 0.1 mL VLPs SARS-CoV-2 dose 2 + adjuvant 1 (P8), and 0.1 mL VLPs SARS-CoV-2 dose 2 + adjuvant 2 (P9). The data analysed by using ANOVA. The result showed that there was a significant difference between all test group and based on the results of the specific humoral immune response test, the effect of the COVID-19 vaccine was found in the form of an increase in IgG and IFN- γ profile from group 2 to group 9. In summary, this study successfully concluded that formulation COVID-19 vaccine can proceed to next step.

Key words : COVID-19, virus-like particles, adjuvant, IFN- γ , IgG.

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL DALAM	ii
PERNYATAAN.....	iii
PERSETUJUAN	iv
PENETAPAN PANITIA PENGUJI	v
UCAPAN TERIMA KASIH.....	vii
RINGKASAN	ix
ABSTRACT.....	xi
DAFTAR ISI.....	xii
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xvii
SINGKATAN DAN ARTI LAMBANG	xviii
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Mencit (<i>Mus musculus</i>).....	5
2.1.1 Taksonomi Mencit (<i>Mus musculus</i>)	5
2.1.2 Mencit (<i>Mus musculus</i>) sebagai hewan coba.....	6
2.2 SARS-CoV-2 (COVID-19).....	7
2.2.1 Struktur Genom SARS-CoV-2 (COVID-19).....	8
2.2.2 Transmisi Virus SARS-CoV-2 (COVID19).....	8
2.2.3 Mekanisme invasi SARS-CoV-2 ke dalam sel.....	9
2.2.4 Patogenesis infeksi SARS-CoV-2	11
2.3 Sistem Imun	12
2.3.1 Sistem Imun Non Spesifik (natural/innate/native)	13

2.3.2.	Sistem Imun Spesifik (adaptive).....	13
2.3.2.1.	Sistem Imun Humoral.....	13
2.3.2.2.	Sistem Imun Seluler.....	13
2.3.3.	Interferon Gamma (IFN- γ)	14
2.3.4.	Imunoglobulin G (IgG).....	18
2.4	Vaksin Partikel Mirip Virus (VLPs)	20
2.5	ELISpot	23
2.6	Indirect ELISA.....	23
BAB 3	KERANGKA KONSEPTUAL PENELITIAN	25
3.1	Kerangka Konsep Penelitian.....	25
3.2	Pembahasan Kerangka Konsep Penelitian.....	26
BAB 4	METODE PENELITIAN.....	29
4.1	Jenis dan Rancangan Penelitian	29
4.2	Besar Sampel dan Teknik Pengambilan Sampel	30
4.2.1	Populasi Sampel.....	30
4.2.2	Besar Sampel	30
4.3	Variabel Penelitian.....	30
4.3.1	Variabel Bebas.....	30
4.3.2	Variabel Gantung.....	30
4.3.3	Variabel Kendali.....	31
4.4	Bahan dan Materi Penelitian.....	31
4.4.1	Bahan Penelitian	31
4.4.2	Alat Penelitian	32
4.4.3	Hewan Percobaan	33
4.5	Lokasi dan Waktu Penelitian	33
4.6	Prosedur Pengambilan dan Pengumpulan Data	34
4.6.1	Adaptasi Hewan Coba	34
4.6.2	Pre-Perlakuan.....	34
4.6.3	Perlakuan Penyuntikan Formula Vaksin COVID19.....	34
4.6.4	Pengambilan Sampel Darah.....	35
4.6.5	Preparasi PBMC	35
4.6.6	Pemeriksaan <i>Enzyme-Linked Immunosorbent Spot</i> (ELISpot).....	36
4.6.7	Teknik ELISA <i>indirect</i>	39
4.7	Bagan Kerangka Operasional	40
4.8	Analisis Data.....	41
BAB 5	HASIL PENELITIAN	42
5.1.	Analisis Perbandingan Formulasi Vaksin SARS-CoV-2 Berdasarkan Profil IgG Mencit (<i>Mus musculus</i>) Setelah Vaksinasi COVID-19 Secara Lengkap.....	42
5.2.	Analisis Perbandingan Formulasi Vaksin SARS-CoV-2 Berdasarkan Profil IFN Gamma (IFN- γ) Pada Mencit (<i>Mus musculus</i>) Setelah Vaksinasi COVID-19 Secara Lengkap	45

BAB 6 PEMBAHASAN	49
BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN	54
7.1. Kesimpulan	54
7.2. Saran	54
DAFTAR PUSTAKA	55
LAMPIRAN	62

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Visualisasi struktur 3D dari ketiga protein struktural isolat SARS- CoV-2 Indonesia.....	7
Gambar 2.2 Peplomer dari SARS-CoV-2.....	8
Gambar 2.3 Transmisi dan siklus hidup SARS-CoV-2.....	9
Gambar 3.1 Kerangka Konsep Penelitian	25
Gambar 4.7 Bagan Kerangka Operasional	40
Gambar 5.1 Grafik Interaksi Formulasi Vaksin COVID-19 terhadap Profil IgG Mencit (<i>Mus musculus</i>) Setelah Vaksinasi COVID-19 Secara lengkap	43
Gambar 5.2 Grafik rerata Profil IgG Mencit (<i>Mus musculus</i>) Setelah Vaksinasi COVID-19 Secara lengkap	43
Gambar 5.3 Grafik Interaksi Formulasi Vaksin COVID-19 terhadap Profil IFN- γ Mencit (<i>Mus musculus</i>) Setelah Vaksinasi COVID-19 Secara lengkap	46
Gambar 5.4 Grafik rerata Profil IFN- γ Mencit (<i>Mus musculus</i>) Setelah Vaksinasi COVID-19 Secara lengkap	46
Gambar 5.5 Capture Plate ELISpot All Well Profil IFN- γ Mencit (<i>Mus musculus</i>) Setelah Vaksinasi COVID-19 Secara lengkap....	47
Gambar 5.6 ELISpot Well Kontrol Sel 1.6 Mencit (<i>Mus musculus</i>) Setelah Vaksinasi COVID-19 Secara lengkap	48
Gambar 5.7 ELISpot Well Kontrol Sel 1.6 Mencit (<i>Mus musculus</i>) Setelah Vaksinasi COVID-19 Secara lengkap	48

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 5.1	Nilai Rerata dan simpangan baku Profil IgG mencit (<i>Mus musculus</i>) Setelah Vaksinasi COVID-19 Secara Lengkap 42
Tabel 5.2	Nilai Rerata dan simpangan baku Profil IFN- γ mencit (<i>Mus musculus</i>) Setelah Vaksinasi COVID-19 Secara Lengkap 45

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1	Persetujuan Protokol IACUC Balqis Afifah 62
Lampiran 2	Prosedur Pembuatan PBMC Darah 63
Lampiran 3	Prosedur ELISpot 64
Lampiran 4	Perhitungan Sample PBMC Mencit (<i>Mus musculus</i>) Setelah Vaksinasi SARS-CoV-2 Secara Lengkap... 67
Lampiran 5	Prosedur ELISA Antibodi SARS-CoV-2 68
Lampiran 6	Perhitungan Dosis Xylazine dan Ketamin untuk Anastesi (Euthanasi) Mencit 69
Lampiran 7	Alat dan Bahan Penelitian 70
Lampiran 8	Dokumentasi Kegiatan Laboratorium 73
Lampiran 9	Dokumentasi Alat dan bahan penelitian 74
Lampiran 10	Data Hasil Uji Profil IgG Mencit (<i>Mus musculus</i>) Setelah Vaksinasi COVID-19 Secara Lengkap menggunakan SPSS Versi 26..... 76
Lampiran 11	Data Hasil Uji Profil IFN- γ Mencit (<i>Mus musculus</i>) Setelah Vaksinasi COVID-19 Secara Lengkap menggunakan SPSS Versi 26..... 83

SINGKATAN DAN ARTI LAMBANG

ABSL 3	:	<i>Animal Biosafety Level 3</i>
ACE2	:	<i>Angiotensin-Converting Enzyme 2</i>
ARDS	:	<i>Acute Respiratory Distress Syndrome</i>
β coronaviruses	:	<i>Beta coronaviruses</i>
BSC	:	<i>Bio Safety Cabinet</i>
COVID 19	:	<i>Corona Virus Disease 2019</i>
CS	:	<i>Cytokine Storms</i>
CRP	:	<i>C-Reactive Protein</i>
DC	:	<i>Dendritic Cell</i>
E	:	<i>Envelope</i>
EDTA	:	<i>Ethylene Diamine Tetraacetic acid</i>
ESR	:	<i>Erytrocyt Sedimentation Rate</i>
ELISpot	:	<i>Enzyme-Linked Immunosorbent Spot</i>
FBS	:	<i>Fetal bovine serum</i>
FcγRI	:	<i>Fc-gamma Receptor I</i>
ICAM-1	:	<i>Intercellular Adhesion Molecule-1</i>
IFN	:	Interferon
IFN-γ	:	Interferon Gamma
Ig	:	Imunoglobulin
IL	:	Interleukin
JAK	:	Janus kinase
Kg	:	Kilogram
M	:	Membran

MAS	:	<i>Macrophage Activation Syndrome</i>
Mg`	:	Milligram
MHC	:	<i>Major Histocompatibility Complex</i>
mm Hg	:	Milimeter Merkuri (Hydrargyrum)
MERS-CoV	:	<i>Middle East respiratory syndrome coronavirus</i>
MCP-1	:	<i>Monocyte Chemoattractant Protein-1</i>
N	:	Nucleocapsid
NK	:	<i>Natural Killer</i>
NF-kB	:	<i>Nuclear Factor-kappa B</i>
ORF	:	<i>Open Reading Frame</i>
PBMC	:	<i>Peripheral Blood Mononuclear Cell</i>
RNA	:	<i>Ribonucleic Acid</i>
PAMP	:	<i>Pathogenic Molecular Patterns</i>
PBS	:	<i>Phosphate-Buffered Saline</i>
PRRs	:	<i>Pattern Recognition Receptors</i>
RPMI	:	<i>Roswell Park Memorial Institute</i>
SARS-CoV-2	:	<i>Severe Acute Respiratory Syndrome Corona Virus 2</i>
WHO	:	<i>World Health Organization</i>
⁰ C	:	Derajat celsius