

DISERTASI

**POTENSI *OUTER MEMBRANE* PROTEIN 36 kDa
Brucella abortus ISOLAT LOKAL SEBAGAI KANDIDAT
VAKSIN BRUCELLOSIS MELALUI AKTIVITAS
RESPON IMUN SELULER DAN HUMORAL**



WIWIEK TYASNINGSIH

**PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN JENJANG DOKTOR
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2015**

DISERTASI

**POTENSI *OUTER MEMBRANE* PROTEIN 36 kDa
Brucella abortus ISOLAT LOKAL SEBAGAI KANDIDAT
VAKSIN BRUCELLOSIS MELALUI AKTIVITAS
RESPON IMUN SELULER DAN HUMORAL**



WIWIEK TYASNINGSIH

**PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN JENJANG DOKTOR
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2015**

**POTENSI *OUTER MEMBRANE* PROTEIN 36 kDa
Brucella abortus ISOLAT LOKAL SEBAGAI KANDIDAT
VAKSIN BRUCELLOSIS MELALUI AKTIVITAS
RESPON IMUN SELULER DAN HUMORAL**

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 : 8 September 2015
Pukul : 10.00 – 12.00 WIB**

Oleh :

WIWIEK TYASNINGSIH

091070103

**PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN JENJANG DOKTOR
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2015**

LEMBAR PENGESAHAN

DISERTASI

POTENSI *OUTER MEMBRANE* PROTEIN 36 kDa
Brucella abortus ISOLAT LOKAL
SEBAGAI KANDIDAT VAKSIN BRUCELLOSIS MELALUI
AKTIVITAS RESPON IMUN SELULER DAN HUMORAL

TELAH DISETUJUI

PADA TANGGAL 8 SEPTEMBER 2015

Oleh

Promotor

Prof. Dr. H. Fedik A. Rantam, drh.
NIP. 19591003 198701 1 001

Kopromotor

Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES.
NIP. 19600903 198802 2 001

**Disertasi ini telah diuji dan dinilai
Oleh panitia penguji Ujian Tahap I (Tertutup)
pada Tanggal 13 Agustus 2015**

Panitia penguji:

Ketua : 1. Prof. Dr. Ni Made Mertaniasih, dr., M.S.,Sp. MK (K)

Anggota : 2. Prof. Dr. H. Fedik A. Rantam, drh.

3. Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES

4. Prof. Dr. Sumarno, dr. DMM, Sp. MK (K)

5. Dr. Sri Puji Astuti Wahyuningsih, M.Si.

6. Dr. Suharsono, drh., M.S.

7. Didik Handijatno, drh., M.S., Ph.D.



Ditetapkan dengan Surat Keputusan
Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga
Tentang Panitia Penguji Disertasi
Nomor : 307 / UN3.1.1 / KD / 2015
Tanggal : 13 Agustus 2015

UCAPAN TERIMA KASIH

Alhamdulillahirobbil'alamiin....., segala puji syukur kehadirat Allah SWT yang Maha Pengasih dan Maha Penyayang saya panjatkan atas limpahan rahmat dan hidayahNya sehingga penulisan disertasi ini dapat diselesaikan.

Dengan selesainya disertasi ini, perkenankanlah saya mengucapkan rasa syukur dan terima kasih yang setulusnya kepada yang terhormat:

Prof. Dr. H. Fedik A. Rantam, Drh. yang telah berkenan sebagai Promotor, yang penuh pengertian, perhatian, kesabaran dan menyediakan waktunya untuk membimbing serta senantiasa mendorong dan mengantarkan saya dalam menyelesaikan pendidikan ini. Semoga Allah SWT selalu memberikan kesehatan dan limpahan rahmat kepada beliau dan keluarga.

Prof. Dr. Aulanni'am, Drh., DES yang telah berkenan sebagai Ko-Promotor, beliau yang selalu mendorong dan memberikan semangat saya dalam menyelesaikan jenjang pendidikan tertinggi ini. Sebagai Ko-Promotor, ditengah kesibukan beliau dengan penuh pengertian, perhatian, kesabaran, bimbingan dan memberikan masukan keilmuan untuk menyempurnakan disertasi ini. Semoga Allah SWT selalu memberikan kesehatan dan membalas jasa beliau dengan pahala yang berlipat ganda.

Pemerintah Republik Indonesia melalui Kementerian Pendidikan Nasional yang telah memberikan kesempatan dan bantuan dana Beasiswa Program Pasca Sarjana (BPPS) untuk mengikuti Pendidikan Doktor pada Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.

Rektor Universitas Airlangga Prof. Dr. Moh. Nasih, SE., MT., Ak., dan mantan Rektor Prof. Dr. H. Fasichul Lisan, Apt., atas kesempatan dan fasilitas

yang telah diberikan kepada saya untuk mengikuti pendidikan Doktor pada Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.

Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Prof. Dr. Agung Pranoto, dr., M. Kes, K-EMD FINASIM dan Direktur Sekolah Pascasarjana Universitas Airlangga Prof. Dr. Hj. Sri Hayati, SH., MS. serta seluruh jajaran yang telah memberi kesempatan dan fasilitas kepada saya untuk menyelesaikan pendidikan Jenjang Doktor.

Ketua Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Prof. Dr. Teddy Ontoseno, dr., Sp. A (K), Sp. JP., FIHA dan mantan Ketua Program Studi Ilmu Kedokteran Program Doktor Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Prof. Dr. Harjanto, JM., dr., AIFM yang banyak membantu kelancaran studi saya selama mengikuti pendidikan ini.

Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Prof. Hj. Romziah Sidik, Drh., PhD. atas kesempatan untuk mengikuti dan menyelesaikan pendidikan Doktor pada Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.

Ketua Departemen Mikrobiologi Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Didik Handijatno, Drh., MS., Ph.D., serta para sejawat Dr. Ratih Ratnasari, Drh., SU., Ernie Rosilawati S. I., Drh., MS., Hasutji E.N. Drh., M.P., Suryanie Sarudji Drh., M. Kes., Sri Chusniati, Drh., M. Kes., Prof. Dr. Rahaju Ernawati, Drh., MS., Prof. Dr. Suwarno, Drh., M.Si, Nanik Sianita, Drh., S.U., Adi Priyo Rahardjo, Drh., M. Si dan Dr. Jola Rahmahani, Drh., M.Si yang

dengan penuh pengertian dan persaudaraan dengan tulus banyak membantu selama saya menyelesaikan pendidikan ini.

Ucapan terima kasih juga saya sampaikan kepada para Dosen pengasuh mata kuliah dasar dan mata kuliah penunjang disertasi Prof. Dr. Soehartono Taat Putra, dr., M.S., Prof. Dr. Zainuddin, Apt., Prof. Dr. Juliati Hood Assegaf, dr., MS, SpPA(K), FIAC, Prof. Purnomo Suryohudoyo, dr., SpBK., Prof. Dr. Yoes Priyatna Dachlan, dr., MSc., SpParK., Prof. Kuntoro, dr., MPH., Dr. PH., Prof. Dr. Ni Made Mertaniasih, dr., M.S., Sp. MK (K), Prof. Dr. I Ketut Suidiana, Drs., MSi., Widodo JP, dr., MPH., Dr. PH., Dr. Sunaryo, dr., MS., MSc., Siti Pariani, dr., MS., MSc., PhD., Dr. F. Sustini, dr., MS, yang telah memberikan ilmu pengetahuan dasar dan terapan, wawasan, semangat dan pemikiran sehingga saya dapat memahami keilmuan selama saya mengikuti perkuliahan pada Jenjang Doktor Prodi Ilmu Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.

Para Dosen penguji mulai ujian tahap kualifikasi, proposal sampai ujian akhir tahap I Prof. Dr. Sri Subekti B.S., DES., Drh., Prof. Dr. Sumarno, dr. DMM, Sp. MK (K), Prof. Dr. Ni Made Mertaniasih, dr., M.S., Sp. MK (K), Prof. H. Win Darmanto, Drs., M.Si., Ph.D. , Dr. Hari Basuki Notobroto, dr., M.Kes., Didik Handijatno, drh., M.S., Ph.D., Dr. Suharsono, drh., MS dan Dr. Sri Pujiastuti Wahyuningsih, M.Si atas masukan, saran, dorongan, semangat dan pemikiran sehingga saya dapat memahami keilmuan selama mengikuti pendidikan dan penyelesaian penulisan Disertasi.

Kepala Balai Penelitian Veteriner Maros Sulawesi Selatan Drh. Bagoes Poermadjaja, M.Sc yang telah memberikan isolat *Brucella abortus* untuk penelitian disertasi ini, semoga bermanfaat khususnya bagi pendidikan Veteriner.

Prof. Dr. Fathchiyah, MSc. yang telah mengizinkan dan memberikan fasilitas laboratorium dalam menyelesaikan penelitian di Laboratorium Biosain Universitas Brawijaya, Anita Herawati, S.Si, M.Si dan Ninik Afrizatus Solichah, S.Si, M.Si yang telah banyak meluangkan waktunya untuk membantu saya dalam melakukan pemeriksaan dan menyelesaikan penelitian di Laboratorium Biosain dan Laboratorium Biokimia FMIPA Universitas Brawijaya.

dr. Endang Retnowati, MS, Sp. PK (K) Instalasi Patologi Klinik RSUD Dr. Soetomo Surabaya yang telah membantu melakukan pemeriksaan laboratorium, Mas Eryk Hendriyanto, dik Deny Hindarto, pak Sugiri, pak Pardi yang telah rela meluangkan waktu untuk membantu saya dalam pelaksanaan penelitian di eks. Laboratorium Bakteriologi dan Mikologi Departemen Mikrobiologi Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Sahabat-sahabat saya Dr. Tatik Hernawati., Drh., M.Si., Dr. Erma Safitri, Drh., M.Si., Maslichah Mafruchati, Drh., M. Kes., dan Ari Triwardhani, Drg., M.Kes., serta teman-teman seangkatan **Kempasser 2010**, terima kasih atas kebersamaan, saling mendukung dan menyemangati selalu bersama-sama dalam suka dan duka selama menempuh pendidikan ini, semoga kita semua dapat menyelesaikan pendidikan jenjang Doktor ini. Aamiin.....

Semua pihak tanpa mengurangi rasa hormat, yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu yang telah banyak membantu baik moril maupun materiil untuk penyelesaian disertasi ini, semoga Allah SWT senantiasa memberikan hidayahNya kepada kita semua.

Kepada ayahanda S. Tomagi (almarhum), ibunda tercinta S. Kismijanti yang dengan penuh kasih sayang beliau membesarkan dan mendidik saya serta

adik-adik Nunuk Dwi Hartini, S.Pd., Setyo Puguh S.T. dan Wahyudi Hartono S.T., serta ibu mertua Nursani Siregar terima kasih atas dukungan, semangat dan do'a-do'anya sehingga saya dapat menyelesaikan pendidikan tertinggi di Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Semoga amal ibadah beliau diterima Allah SWT dan menjadikannya amalan yang terbaik. Aamiin YRA.

Akhirnya ucapan terima kasih dan penghargaan yang tak terhingga saya sampaikan kepada suami Dr. Amrin Batubara, S. Pd., M.Pd. serta putra-putri tercinta Wieka Rafelina Batubara, S. Farm., Apt., Riska Widiyanita Batubara, S. Hum. dan Yusuf Ferdiansyah Batubara terimakasih atas semua pengertian, pengorbanan dan do'a yang diberikan kepada saya , kalian semua yang menjadikan semangat saya untuk menyelesaikan pendidikan ini, semoga Allah SWT selalu memberikan petunjuk dan membimbing kita di jalan yang benar.

Aamiin yaa robbal alamiin.

Billahitaufiq wal hidayah...

Surabaya, Agustus 2015

Penulis

SUMMARY

The Potential of *Outer Membrane Protein 36 kDa Brucella abortus* Local Isolate as Brucellosis Vaccine Candidates through the Activity of Cellular and Humoral Immune Responses

Wiwiek Tyasningsih

The government has set several infectious animal diseases into the national strategic priorities for the control and eradication of brucellosis. Brucellosis is caused by *Brucella*, Gram negative and facultative intracellular bacteria. Brucellosis causes economic losses amounting to Rp 385 billion per, due to miscarriage, calf mortality, sterility, infertility and decreased of milk production. Brucellosis control to do with the vaccination, but vaccination to date have not provided optimal results, so the development of a vaccine against brucellosis continues to be developed.

The using of local isolate *Brucella abortus* often get an attention because have several advantages at antigenicity and specificity. *Brucella* is a facultative, intracellular pathogen that causes severe disease in animal and human. Immunity against Brucellosis both humoral and cellular responses. OMP 36 kDa of local isolate *Brucella abortus* has been known to have antigenic so it was developed as a vaccine candidate against Brucellosis disease.

This research was conducted in three phases, the first phase of exploratory laboratory aims to isolate outer membrane protein (OMP) 36 kDa that are antigenic, the second phase is experimental research aims to determine the cellular and humoral immune response resulting in strain Wistar rats were treated vaccination with OMP 36 kDa of local isolate *Brucella abortus* and *Brucella abortus* S19 and third phase all of rats was challenge test with local

isolate *Brucella abortus*. TCD4+ cells and TCD8+ cells amount in the blood were measured by Flow cytometry and Brucella specific IgG respon in the sera of rats were detected by ELISA.

The results indicate vaccination using OMP 36 kDa of local isolate *Brucella abortus* produce an immune response in the form of TCD4+ cell, TCD8+ cells count and IgG were higher ($p < 0.05$), as well challenged with local isolate *Brucella abortus* results showed an immune response in the form of TCD4+ cell, cell TCD8+ and IgG were higher than *Brucella abortus* S19 ($p < 0.05$). The result of the prediction of the antigenic epitopes on the 36 kDa OMP gene encoding *Brucella abortus* S19 are AYGAGYFYIP that site between the amino acids 13 to 22 and TETCLR VHGYVRYD the amino acids 24 to 37 , and on local isolate *Brucella abortus* are MSRVCDAYGAGYFYIP the amino acid of 8 to 23 and TETCLR VHGYVRYD the amino acids 25 to 38.

The conclusions of this study are: (1) there are genotypic character differences between *Brucella abortus* S19 with local isolates *Brucella abortus*, (2) there are antigenic epitopes predictions in OMP 36 kDa local isolates *Brucella abortus*, and (3) the cellular and humoral immune responses OMP 36 kDa local isolates *Brucella abortus* are better than the OMP 36 kDa *Brucella abortus* S19 ($p < 0.05$).