



**PENGEMBANGAN VAKSIN MATRIKS *NECROTIC ENTERITIS* MENGGUNAKAN KOMPLEK PROTEIN A *Staphylococcus aureus* DAN IMUNOGLOBULIN G ASAL DOMBA**

**VIVIN AULIA RAHMI**



**PROGRAM STUDI ILMU BIOMEDIS HEWAN  
PEMINATAN MIKROBIOLOGI MEDIK  
SEKOLAH KEDOKTERAN HEWAN DAN BIOMEDIS  
INSTITUT PERTANIAN BOGOR  
BOGOR  
2024**



*@Hak cipta milik IPB University*

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
  - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
  - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

## PERNYATAAN MENGENAI TESIS DAN SUMBER INFORMASI SERTA PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis berjudul “Pengembangan Vaksin Matriks *Necrotic Enteritis* Menggunakan Komplek Protein A *Staphylococcus aureus* dan Imunoglobulin G Asal Domba” adalah karya Saya dengan arahan dari komisi pembimbing dan belum diajukan dalam bentuk apapun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka di bagian akhir tesis ini.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta dari karya tulis saya kepada Institut Pertanian Bogor.

Bogor, Agustus 2024

Vivin Aulia Rahmi  
B3501222041



## RINGKASAN

VIVIN AULIA RAHMI. Pengembangan Vaksin Matriks *Necrotic Enteritis* Menggunakan Komplek Protein A *Staphylococcus aureus* dan Imunoglobulin G Asal Domba. Dibimbing oleh AGUSTIN INDRAWATI, OKTI NADIA POETRI, dan RYAN SEPTA KURNIA.

*Necrotic enteritis* (NE) merupakan salah satu penyakit pencernaan pada unggas yang disebabkan oleh toksin dari bakteri *Clostridium perfringens*. Penyakit NE tidak dapat dikendalikan dengan menggunakan antibiotik, karena yang menyebabkan infeksi adalah toksin yang dihasilkan oleh bakteri *Clostridium perfringens*. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengembangkan prototipe vaksin NE dengan protein A *Staphylococcus aureus* sebagai matriks vaksin.

Penelitian ini diawali dengan menganalisa bahan komplek matriks vaksin yaitu analisa antigen dengan uji haemolisis dan uji konsentrasi protein, selanjutnya menganalisa IgG dengan uji konsentrasi IgG dan uji kekuatan IgG, kemudian dilanjutkan menganalisa *Staphylococcus aureus* dengan kultur dan uji turbiditas, setelah itu dilakukan pencampuran ketiga bahan komplek matriks tersebut. Setelah itu dilakukan pengelompokan terhadap 30 ekor ayam petelur usia 10 minggu yang dibagi menjadi tiga kelompok perlakuan yakni kelompok kontrol negatif yang disuntik PBS (KN), kelompok yang disuntik dengan vaksin NE matriks (MV), Kelompok ayam yang divaksin dengan vaksin NE komersil (KV) sebanyak 0,3 ml pada setiap kelompok ayam.

Pengambilan darah dilakukan sebelum vaksinasi untuk uji elisa melihat titer antibodi, kemudian dilakukan kembali pengambilan darah 12 jam dan 24 jam pasca vaksinasi untuk melihat ekspresi gen CD4, CD8, MHC II dan IFN $\gamma$ , kemudian dilakukan pengambilan darah kembali 4 minggu pasca vaksin ke-1 dan vaksin booster ke 2. Setelah 4 minggu pasca vaksinasi ke 2 diambil darah kembali untuk uji ELISA titer antibodi yang terbentuk.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa proses pembuatan vaksin NE berbasis komplek matriks berhasil dilakukan. Berdasarkan hasil penelitian pada 24 jam pasca vaksinasi ayam dengan menggunakan vaksin tersebut didapatkan peningkatan ekspresi gen penyandi CD4, CD8 dan MHC II yang berperan pada awal masuknya antigen dalam tubuh. Berbeda pada hasil tersebut, ekspresi gen penyandi IFN $\gamma$  cenderung meningkat pada 12 jam pasca vaksinasi. Pemanfaatan vaksin NE berbasis komplek matriks didapatkan mampu menggertak antibodi pada ayam yang divaksin meskipun membutuhkan *booster* dan waktu cukup lama.

Kata Kunci: *Necrotic Enteritis*, Protein A, *Staphylococcus aureus*, Unggas, Vaksin

## SUMMARY

VIVIN AULIA RAHMI. Development of a Matrix Necrotic Enteritis Vaccine Using *Staphylococcus aureus* Protein A Complex and Immunoglobulin G from Sheep. Supervised by AGUSTIN INDRAWATI, OKTI NADIA POETRI, and RYAN SEPTA KURNIA.

Necrotic enteritis (NE) is one of the digestive diseases in poultry caused by toxins from the bacterium *Clostridium perfringens*. NE cannot be controlled by using antibiotics because the infection is caused by toxins produced by *Clostridium perfringens* bacteria. The aim of this research is to develop a prototype vaccine for NE using *Staphylococcus aureus* Protein A as the vaksin matrix.

The research begins by analyzing the complex vaccine matrix materials, including antigen analysis using the haemolysis test and protein concentration test, followed by IgG analysis with IgG concentration test and IgG strength test. Next, *Staphylococcus aureus* is analyzed using culture and turbidity test, followed by mixing the three complex matrix materials. Then, a grouped test is performed on 30 week old laying hens divided into three treatment groups: a negative control group onjected with PBS (NC), a group injected with NE matrix vaccine (MV), and a group injected with commercial NE vaccine (CV) with 0.3 ml injection given to each group of chicken. Blood samples are taken before vaccination for ELISA test to observe antibody titers, then blood samples are taken again at 12 and 24 hours post vaccination to observe the expression of CD4, CD8, MHC II and IFN  $\gamma$  genes. Blood is then taken again 4 weeks after first vaccination and the second bosster vaccination. After 4 weeks post- second vaccination, blood is taken again post-second vaccination, blood is taken again to elisa test for antibody titer.

The result show that the process of making NE vaccine based on matrix complex was successful. Based on the research results, a 24-hour post-vaccination increase in the expression of CD4, CD8, and MHC II encoding genes, which play a role in the initial entry of antigens into the body, was observed when using this vaccine. However, the expression of the IFN $\gamma$  encoding gene tended to increase at 12 hours post-vaccination. The use of NE vaccine based on the matrix complex was found to be able to stimulate antibodies in vaccinated chickens, although it requires a booster and a relatively long time.

Keywords: Necrotic Enteritis, Poultry, Protein A *Staphylococcus aureus*, Vaccine



- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
    - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
    - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
  2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

**© Hak Cipta Milik IPB, Tahun 2024**  
**Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang**

*Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan atau menyebutkan sumbernya. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik, atau tinjauan suatu masalah; dan pengutipan tersebut tidak merugikan kepentingan IPB.*

*Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apa pun tanpa izin IPB.*



**PENGEMBANGAN VAKSIN MATRIKS *NECROTIC ENTERITIS* MENGGUNAKAN KOMPLEK PROTEIN A *Staphylococcus aureus* DAN IMUNOGLOBULIN G ASAL DOMBA**

**VIVIN AULIA RAHMI**

Tesis  
sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar  
Magister Sains pada  
Program Studi Ilmu Biomedis Hewan

**PROGRAM STUDI ILMU BIOMEDIS HEWAN  
PEMINATAN MIKROBIOLOGI MEDIK  
SEKOLAH KEDOKTERAN HEWAN DAN BIOMEDIS  
INSTITUT PERTANIAN BOGOR  
BOGOR  
2024**



*@Hak cipta milik IPB University*

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
  - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
  - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

**Tim Penguji pada Ujian Tesis:**

1. Prof. Dr. drh. I Wayan Teguh Wibawan, MS



Judul Tesis : Pengembangan Vaksin Matriks *Necrotic Enteritis*  
Menggunakan Komplek Protein A *Staphylococcus aureus*  
dan Immunoglobulin G Asal Domba

Nama : Vivin Aulia Rahmi  
NIM : B3501222041

Disetujui Oleh

Pembimbing 1:  
Prof. Dr. drh. Agustin Indrawati, M.Biomed



Pembimbing 2:  
Dr. drh. Okti Nadia Poetri, M.Si., M.Sc



Pembimbing 3:  
Dr. drh. Ryan Septa Kurnia, M.Si

Diketahui oleh

Ketua Program Studi:  
Prof. Drh. Bambang Pontjo Priosoeryanto, M.S., Ph.D.,  
ApVet, DACCM  
NIP. 196002281986011001



Dekan Sekolah Kedokteran Hewan dan Biomedis:  
Drh. Amrozi, Ph.D  
NIP.197007211995121001



Tanggal Ujian : 5 Agustus 2024

Tanggal Lulus:



## PRAKATA

Alhamdulillah, puji dan syukur penulis ucapkan kepada Allah subhanaahu wa ta'ala atas segala nikmat dan karunia-Nya sehingga penulisan tesis dalam rangka memperoleh gelar magister sains ini dapat diselesaikan dengan baik. Penelitian ini dilaksanakan sejak bulan Desember 2023 hingga Maret 2024 dengan judul penelitian “Pengembangan Vaksin Matriks *Necrotic Enteritis* Menggunakan Komplek Protein A *Staphylococcus aureus* dan Imunoglobulin G Asal Domba”.

Terima kasih yang mendalam penulis ucapkan kepada Prof.Dr.drh. Agustin Indrawati, M.Biomed, Dr. drh. Okti Nadia Poetri, M.Si, M.Sc dan Dr. Drh. Ryan Septa Kurnia, M.Si selaku pembimbing. Di samping itu ungkapan terima kasih yang luar biasa penulis sampaikan kepada Dr.drh.Christian Marco Hadi N, M.Si atas segala support dan bantuannya dan juga tak lupa kepada Muhammad Ade Putra, M.Si atas dukungannya.

Ucapan terima kasih juga disampaikan dengan penuh ketulusan hati dan cinta kasih kepada Suami tercinta Drh. Arnaldo Darma, anak-anak hebatku Muhammad Fattah Darma, Muhammad Auda Darma, Muhammad Syauqi Darma dan Anugerah Allah yang terlahir dimasa kuliah yaitu Tahniah Aulia Darma yang sentiasa menjadi motivasi untuk penulis dalam setiap langkah. Tak lupa juga terima kasih atas peran besar dari Muhammad Reza Ad Walni serta ibuk Reni Basa yang mendampingi perjalanan hidup penulis.

Semoga karya ilmiah ini bermanfaat bagi kemajuan ilmu pengetahuan.

Bogor, Agustus 2024

Vivin Aulia Rahmi

## DAFTAR ISI

|                                                                                                                                         |      |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| DAFTAR TABEL                                                                                                                            | xiii |
| DAFTAR GAMBAR                                                                                                                           | xiii |
| DAFTAR LAMPIRAN                                                                                                                         | xiv  |
| I PENDAHULUAN                                                                                                                           |      |
| 1.1 Latar Belakang                                                                                                                      | 1    |
| 1.2 Rumusan Masalah                                                                                                                     | 2    |
| 1.3 Tujuan Penelitian                                                                                                                   | 2    |
| 1.4 Manfaat Penelitian                                                                                                                  | 2    |
| 1.5 Hipotesis                                                                                                                           | 2    |
| 1.6 Kebaruan ( <i>Novelty</i> )                                                                                                         | 3    |
| II TINJAUAN PUSTAKA                                                                                                                     |      |
| 2.1 <i>Necrotic Enteritis</i>                                                                                                           | 4    |
| 2.2 <i>Clostridium perfringens</i>                                                                                                      | 4    |
| 2.3 Protein A <i>Staphylococcus aureus</i>                                                                                              | 6    |
| 2.4 Mekanisme Pembentukan Antibodi oleh Vaksin                                                                                          | 6    |
| III METODE                                                                                                                              |      |
| 3.1 Desain Penelitian                                                                                                                   | 8    |
| 3.2 Waktu dan Tempat Penelitian                                                                                                         | 9    |
| 3.3 Bahan, Hewan Model, dan Etik Penelitian                                                                                             | 9    |
| 3.4 Prosedur Penelitian                                                                                                                 | 9    |
| 3.4.1 Analisis Antigen Hasil pemurnian Toksin <i>Clostridium perfringens</i>                                                            | 9    |
| 3.4.2 Produksi Immunoglobulin G (IgG) Anti Toksin <i>Clostridium perfringens</i>                                                        | 10   |
| 3.4.3 Deteksi dan Produksi <i>Staphylococcus aureus</i>                                                                                 | 10   |
| 3.4.4 Pembuatan Vaksin dengan Komplek Matriks Protein A <i>Staphylococcus aureus</i>                                                    | 11   |
| 3.4.5 Perlakuan Hewan Coba                                                                                                              | 11   |
| 3.4.6 Pengujian Ekspresi Gen Penyandi CD4, CD8, MHC II dan IFN $\gamma$                                                                 | 11   |
| 3.4.7 Pengujian ELISA Antibodi terhadap Toksin <i>Necrotic enteritis</i>                                                                | 13   |
| 3.5 Analisis Data                                                                                                                       | 13   |
| IV HASIL DAN PEMBAHASAN                                                                                                                 |      |
| 4.1 Antigen Hasil Pemurnian Toksin <i>Clostridium perfringens</i>                                                                       | 14   |
| 4.2 Antibodi terhadap Toksin <i>Clostridium perfringens</i>                                                                             | 15   |
| 4.3 Karakter <i>Staphylococcus aureus</i>                                                                                               | 17   |
| 4.4 Vaksin Toksin <i>Clostridium perfringens</i> Berbasis Matriks Protein A <i>Staphylococcus aureus</i>                                | 19   |
| 4.5 Ekspresi Gen Penyandi CD4 dan CD8                                                                                                   | 20   |
| 4.6 Ekspresi Gen Penyandi MHC II                                                                                                        | 23   |
| 4.7 Ekspresi Gen Penyandi IFN $\gamma$                                                                                                  | 24   |
| 4.8 Respon Antibodi Terhadap Toksin <i>Clostridium perfringens</i>                                                                      | 25   |
| 4.9 <i>Pathway</i> Vaksin Komplek Matriks Protein A <i>Staphylococcus aureus</i> dan Immunoglobulin Domba serta pembentukan antibodinya | 29   |



## V SIMPULAN DAN SARAN

|     |          |    |
|-----|----------|----|
| 5.1 | Simpulan | 30 |
| 5.2 | Saran    | 30 |

|                |    |
|----------------|----|
| DAFTAR PUSTAKA | 31 |
|----------------|----|

|          |    |
|----------|----|
| LAMPIRAN | 37 |
|----------|----|

@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
  - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
  - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

## DAFTAR TABEL

|   |                                                                                                           |    |
|---|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1 | Primer yang digunakan ekspresi gen penyandi CD4, CD8, MHC II, IFN $\gamma$                                | 12 |
| 2 | Hasil purifikasi toksin <i>Clostridium perfringens</i> dengan <i>ion exchange chromatography</i>          | 14 |
| 3 | Hasil penghitungan konsentrasi IgG pada serum dan hasil pemurnian IgG asal domba yang dilakukan hiperimun | 16 |
| 4 | <i>Fold Change</i> ekspresi gen penyandi CD4 dan MHC II                                                   | 20 |
| 5 | <i>Fold Change</i> ekspresi gen penyandi MHC II                                                           | 23 |
| 6 | <i>Fold Change</i> ekspresi gen penyandi IFN $\gamma$                                                     | 24 |
| 7 | Rataan nilai S/P rasio hasil uji ELISA untuk deteksi antibodi NE                                          | 26 |

## DAFTAR GAMBAR

|    |                                                                                                                                             |    |
|----|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1  | Pewarnaan gram bakteri <i>Clostridium perfringens</i>                                                                                       | 5  |
| 2  | Regulasi aktivasi gen virulensi dan produksi toksin oleh sistem regulasi VirS – VirR pada <i>Clostridium perfringens</i>                    | 5  |
| 3  | Respon imunitas bawaan dan imunitas adaptif terhadap patogen                                                                                | 7  |
| 4  | Alur penelitian                                                                                                                             | 8  |
| 5  | Hasil SDS-PAGE                                                                                                                              | 15 |
| 6  | Hasil pengujian antibodi dan IgG <i>Clostridium perfringens</i> dengan menggunakan metode AGPT. A: antibodi (serum); B: IgG hasil pemurnian | 16 |
| 7  | Identifikasi <i>Staphylococcus aureus</i>                                                                                                   | 18 |
| 8  | Pengamatan di bawah mikroskop (perbesaran 100x) vaksin hasil pencampuran bahan aktif dengan dua tipe basis <i>adjuvant</i> yang berbeda     | 19 |
| 9  | Pengamatan ekspresi gen CD4 pada 12 dan 24 jam post vaksin menggunakan dua tipe basis vaksin                                                | 20 |
| 10 | Pengamatan ekspresi gen CD8 pada 12 dan 24 jam post vaksin menggunakan dua tipe basis vaksin                                                | 21 |
| 11 | Pengamatan ekspresi gen MHCII pada 12 dan 24 jam post vaksin menggunakan dua tipe basis vaksin                                              | 23 |
| 12 | Pengamatan ekspresi gen IFN $\gamma$ pada 12 dan 24 jam post vaksin menggunakan dua tipe basis vaksin                                       | 25 |
| 13 | Titer antibodi terhadap toksin pada waktu pengambilan sebelum vaksinasi, post vaksin 1, dan post vaksin 2                                   | 26 |
| 14 | Persebaran dan persentase titer antibodi terhadap toksin pada waktu pengambilan sebelum vaksinasi, post vaksin 1, dan post vaksin 2         | 27 |
| 15 | <i>Pathway</i> vaksin matriks dan mekanisme terbentuknya antibodi                                                                           | 29 |



## DAFTAR LAMPIRAN

|                                                         |    |
|---------------------------------------------------------|----|
| 1 Analisis Statistik Ekspresi Gen Penyandi CD4          | 37 |
| 2 Analisis Statistik Ekspresi Gen Penyandi CD8          | 38 |
| 3 Analisis Statistik Ekspresi Gen Penyandi MHCII        | 39 |
| 4 Analisis Statistik Ekspresi Gen Penyandi IFN $\gamma$ | 40 |
| 5 Analisis Statistik Titer Antibodi                     | 41 |