

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit *Corona Virus Disease 2019* (COVID-19) merupakan penyakit menular yang disebabkan oleh virus *Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2* (SARS-CoV-2) dan telah menyebabkan kematian lebih dari 7 juta di seluruh dunia (Levani et al., 2021). Transmisi virus SARS-CoV-2 yang dapat terjadi secara langsung maupun tidak langsung membuat virus ini mudah menginfeksi satu individu ke yang lain (Lotfi et al., 2020). Proses transmisi antar manusia secara spesifik disebabkan oleh protein S atau *enveloped spike* pada virus SARS-CoV-2 yang menjadi penentu patogenik invasi sel (Parry et al., 2023). Protein S ini mampu berikatan dengan reseptor angiotensin 2 (ACE-2) di permukaan sel target sehingga terjadi fusi yang kemudian menginduksi masuknya RNA virus (Nugent, 2022). Replikasi virus terjadi setelahnya yang menyebabkan sel imun tubuh mensekresikan molekul berupa sitokin. Sitokin berperan dalam transduksi sinyal pada sel yang berdekatan dan mengirimkan sinyal ke organ yang jauh (Kang et al., 2020). Sitokin juga mengatur regulasi keseimbangan antara respon imun bawaan dan adaptif sekaligus pengatur inflamasi yang menjadi kunci utama dalam patologi rasa sakit pada infeksi penyakit menular, termasuk SARS-CoV-2 (Darif et al., 2021). Maka dari itu, vaksin yang efektif dalam menekan infeksi virus SARS-CoV-2 menjadi hal yang penting dan krusial.

Viana et al., (2022) dalam artikel yang ditulisnya menunjukkan bahwa sudah terhitung lebih dari 10 milyar dosis vaksin COVID-19 yang didistribusikan secara global, di antaranya vaksin mRNA, vaksin vektor virus, hingga vaksin DNA. Salah satu vaksin DNA anti SARS-CoV-2 yakni ZyCoV-D memiliki efisiensi mencapai 67% pada percobaan klinis di India ketika varian Delta sedang dominan (Mallapaty, 2021). Hal tersebut mendukung keunggulan dari vaksin DNA yang memiliki fleksibilitas untuk mengirimkan lebih dari satu antigen sehingga mampu meningkatkan

imunitas humoral dan seluler, bersifat stabil dan aman, hingga produksi skala besar yang cenderung mudah dan cepat (Hayat Khan, 2013; Ledesma-Feliciano et al., 2023; Narayanan et al., 2022; Smith et al., 2020). Meskipun begitu, imunogenitas dari vaksin DNA ketika diinjeksikan ke tubuh cenderung lebih rendah dari varian vaksin lainnya yang disebabkan oleh penyerapan selular yang kurang optimal sekaligus jumlah plasmid pada *antigen presenting cell* (APC) yang sedikit setelah DNA mengalami degradasi (Eusébio et al., 2021), sehingga produksi dan penggunaan vaksin DNA di Indonesia belum terlaksana dengan baik. Hal tersebut dapat diatasi dengan tambahan adjuvan yang mampu meningkatkan imunogenitas dari vaksin berbasis DNA (Narayanan et al., 2022). Adjuvan dapat diartikan sebagai senyawa tambahan pada vaksin untuk meningkatkan dan menstimulasi sistem imun secara efisien (Facciola et al., 2022; Pulendran et al., 2021). Adjuvan berupa sistem penghantar seperti liposom telah berhasil menjadi salah satu adjuvan dalam vaksin mRNA COVID-19 dengan efisiensi mencapai 95% pada vaksin seri BNT162b2 (Fan et al., 2022) sehingga liposom berpotensi menjadi adjuvan vaksin yang aman dan efektif.

Liposom sebagai adjuvan sistem penghantar vaksin memiliki kemampuan induksi respon imun yang baik, toksisitas rendah, biokompatibilitas yang tinggi, serta kemampuan enkapsulasi antigen yang dapat melindungi vaksin DNA dari degradasi oleh DNase (Lu & Qi, 2021; Tretiakova & Vodovozova, 2022). Analisis perbandingan level sitokin pada vaksin DNA formulasi liposom menghasilkan produksi sitokin yang lebih tinggi daripada vaksin DNA saja (Lu & Qi, 2021). Kelemahan dari penggunaan liposom sebagai adjuvan yaitu struktur membran fosfolipid yang rapuh, menyebabkan liposom memiliki kestabilan yang rendah (Pasarini et al., 2023), sehingga diperlukan formulasi liposom dengan polimer.

Polimer *polyethylenimine* (PEI) merupakan polimer kationik yang telah banyak digunakan sebagai pembawa gen karena strukturnya yang kaya amino dapat memberikan kepadatan muatan positif yang tinggi serta berpotensi meningkatkan stabilitas dan memperkuat struktur dari liposom

(Dai et al., 2020; Liang et al., 2019; Sriwidodo et al., 2022). Kekurangan dari polimer PEI25k ini terbukti terlalu beracun untuk aplikasi terapeutik, sehingga perlu adanya konjugasi kolesterol (Jia et al., 2013; Song et al., 2012). Kolesterol sebagai lipid netral memiliki kemampuan dalam mengeliminasi rantai bebas PEI25k yang berlebih dan memberikan pengaruh ketika kompleks PEI25K/kolesterol berinteraksi dengan membran sel sehingga dapat mengurangi kerusakan membran sekaligus menekan sitotoksitas dari polimer PEI25k (Song et al., 2012). Penambahan lipid kationik seperti 1,2-dioleoyl-3-trimethylammonium propane (DOTAP) dapat meningkatkan efisiensi serta stabilitas liposom dengan aktivitas elektrostatis DNA. Konsentrasi DOTAP yang tinggi mampu menghasilkan ukuran liposom yang kecil dan berpengaruh untuk peningkatan efisiensi penghantaran DNA pada vaksin SARS-CoV-2 sehingga dapat memengaruhi level sitokin untuk dianalisis efektivitas vaksin tersebut (Miatmoko et al., 2023).

Tiyo et al., (2021) menyampaikan bahwa imunitas tubuh yang terinduksi setelah injeksi vaksin SARS-CoV-2 ini ditandai dengan adanya sel limfosit yang terbentuk seperti T CD4+ yang dapat menghasilkan sitokin yang memengaruhi aktivasi dan diferensiasi sel imun lainnya, serta sel-T CD8+ yang menunjukkan profil sitotoksitas, melepaskan perforin dan granzim untuk menginduksi apoptosis sel target yang terinfeksi. Vaksin SARS-CoV-2 ini juga memicu sel imun bawaan yang terdiri dari makrofag, sel dendritik, neutrophil, dan sel NK untuk kemudian berlanjut ke sel imun adaptif. Sel-sel leukosit tersebut menampilkan molekul pada permukaannya (Kalina et al., 2019). Molekul ini seringkali digunakan sebagai penanda sel (*cell surface marker*) yang mengidentifikasi keberadaan dan proporsi populasi sel leukosit serta subset limfosit tertentu yang terkait dengan fungsi seluler tertentu menggunakan kombinasi antibodi berlabel fluorokrom dan *flow cytometry*. Maka dari itu, keberadaan sel leukosit ini sangat krusial dalam penelitian untuk mengidentifikasi respon imun setelah injeksi vaksin.

Berdasarkan hal-hal tersebut, respon imun spesifik seperti level

ekspresi sitokin dan pendeteksian leukosit setelah injeksi vaksin perlu dianalisis lebih lanjut. Penelitian terkait pengaruh level ekspresi sitokin proinflamasi yang dalam hal ini ialah interleukin-6 (IL-6) dan *tumor necrosis factor- α* (TNF- α) terhadap keefektifan vaksin DNA SARS-CoV-2 dengan formulasi ajuvan liposom belum ada yang melakukan. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terkait respon imunologi yakni ekspresi sitokin dan pengaruhnya dalam menghasilkan vaksin COVID-19 yang aman serta efektif dalam rangka mendukung kesehatan nasional.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, maka permasalahan penelitian dapat dirumuskan dalam pertanyaan penelitian sebagai berikut :

- 1) Formulasi vaksin ajuvan liposom apa yang dapat mengekspresikan sitokin interleukin-6 (IL-6) dan *tumor necrosis factor- α* (TNF- α) yang rendah pada mencit BALB/c?
- 2) Formulasi vaksin ajuvan liposom apa yang dapat menginduksi terbentuknya sel leukosit dan limfosit pada mencit BALB/c?

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah di atas, maka tujuan penelitian dapat difokuskan dalam pernyataan penelitian sebagai berikut :

- 1) Menganalisis formulasi vaksin ajuvan liposom yang dapat mengekspresikan ekspresi sitokin interleukin-6 (IL-6) dan *tumor necrosis factor- α* (TNF- α) yang rendah pada mencit BALB/c.
- 2) Menganalisis formulasi vaksin ajuvan liposom yang dapat menginduksi terbentuknya sel leukosit dan limfosit pada mencit BALB/c.

1.4 Manfaat Penelitian

A. Manfaat teoritis

Manfaat penelitian ini secara teoritis adalah untuk menghasilkan sumber informasi di bidang imunologi, biomedis, serta farmasi terkait

pengembangan vaksin SARS-CoV-2 dengan ajuvan liposom yang ditinjau dari level ekspresi sitokin interleukin-6 (IL-6) dan *tumor necrosis factor- α* (TNF- α) dan uji analisis leukosit dengan *cell surface marker* setelah diinjeksikan ke mencit BALB/c.

B. Manfaat praktis

Manfaat penelitian secara praktis yakni hasil penelitian diharapkan dapat menjadi landasan praktis serta referensi untuk uji klinis vaksin DNA protein S ajuvan liposom dari SARS-CoV-2 di masa yang akan datang.

