

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Landasan Teori

2.1.1 Sistem imun

Sistem imun mengacu pada kumpulan sel, bahan kimia, dan proses yang berperan untuk melindungi tubuh dari antigen asing, seperti mikroba (bakteri, jamur, dan parasit), virus, dan racun (Marshall et al., 2018). Selain penghalang struktural dan kimia yang melindungi tubuh dari infeksi, sistem kekebalan tubuh secara sederhana memiliki dua “garis pertahanan”, yakni kekebalan bawaan dan kekebalan adaptif.

2.1.1.1 Sistem Imun Bawaan

Sistem imun bawaan mencakup seluruh mekanisme pertahanan yang dikodekan dalam gen *germline* inang (Zimmermann & Curtis, 2019). Hal ini termasuk sel epitel dan mukosa yang menyaring partikel yang terhirup atau tertelan. Protein terlarut serta molekul bioaktif yang terdapat dalam cairan biologis atau yang dilepaskan dari sel saat diaktifkan juga termasuk ke dalam sistem imun ini (termasuk sitokin yang mengatur fungsi sel lain dan kemokin yang menarik leukosit inflamasi) (Chaplin, 2006). Akan tetapi, sistem imun bawaan tidak memiliki memori imunologis, sehingga tidak dapat mengenali patogen yang serupa yang terekspos pada tubuh di masa yang akan datang (Iwasaki & Medzhitov, 2015). Maka dari itu, sistem ini tidak spesifik dan diperlukan proses berikutnya untuk menjadi sistem imun yang lengkap.

2.1.1.2 Sistem Imun Adaptif

Perkembangan imunitas adaptif dibantu oleh sistem imun bawaan, terutama ketika imunitas bawaan tidak efektif dalam mengeliminasi patogen penyebab infeksi. Fungsi utama dari respon imun adaptif adalah pengenalan antigen “*non-self*” yang spesifik dan membedakannya dari antigen “*self*”, lalu eliminasi patogen tertentu atau sel yang terinfeksi patogen dengan sel-sel efektor, serta pembuatan memori imunologis yang

dapat dengan cepat menghilangkan patogen tertentu jika infeksi berikutnya terjadi (Iwasaki & Medzhitov, 2015; Rosales, 2020). Sel-sel sistem kekebalan adaptif meliputi sel limfosit seperti sel T yang diaktifkan melalui sel APC (*antigen presenting cell*), dan sel B yang berdiferensiasi menjadi sel plasma untuk menghasilkan antibodi (Marshall et al., 2018).

2.1.1.3 Imunitas Humoral

Imunitas humoral termasuk ke dalam proses imunitas adaptif yang terbentuk dari produksi antibodi oleh limfosit B. Respons humoral dimulai dari makrofag yang mengenali serta mengikat antigen yang nantinya dapat memicu sel B untuk mensekresikan antibodi. Setelah itu, antibodi akan mengikat antigen pada permukaan patogen untuk dihancurkan melalui opsonisasi, fagositosis, dan eliminasi patogen oleh sel imun efektor. Kaskade komplemen berperan dalam pembersihan kompleks antigen-antibodi setelah proses eliminasi patogen selesai (Marshall et al., 2018).

2.1.1.4 Imunitas Seluler

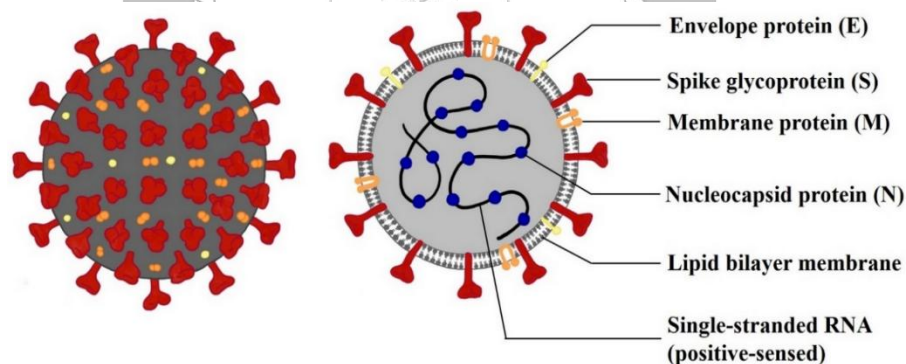
Respons imun seluler melibatkan sel *T helper* (Th) yang mampu mengenali sel terinfeksi melalui APC. Proses pengenalan antigen ini dimulai ketika sel Th melepas sitokin dan kemokin serta menciptakan reaksi yang melibatkan makrofag dan sel NK. Sel tersebut bergerak menuju situs infeksi untuk melisiskan dan menghancurkan sel yang terinfeksi. Tipe respons imun seluler efektif mengeliminasi sel yang terinfeksi virus dan sel kanker (Marshall et al., 2018).

2.1.2 Virus SARS-CoV-2

Penyakit *Corona Virus Disease 2019* (COVID-19) merupakan penyakit menular yang disebabkan oleh virus *Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2* (SARS-CoV-2) (Gambar 2.1) dan telah menyebabkan kematian lebih dari 7 juta di seluruh dunia (Levani et al., 2021). SARS-CoV-2 bersifat *enveloped*, *positif-sense*, dan termasuk ke dalam beta-coronavirus dengan RNA beruntai tunggal (Lotfi et al., 2020).

Transmisi virus SARS-CoV-2 yang dapat terjadi secara langsung

(antar manusia dan droplet) maupun tidak langsung (objek atau udara yang terkontaminasi) 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). Protein S berperan penting dalam masuknya virus ke dalam sel inang, sehingga glikoprotein ini menjadi target utama dalam pengembangan vaksin karena antibodi terhadap protein menghalangi masuknya virus, sehingga menghambat replikasi virus (Martínez-Flores et al., 2021).



Gambar 2.1 Ilustrasi ragam protein pada virus SARS-CoV-2

Sumber: Khan et al., (2022)

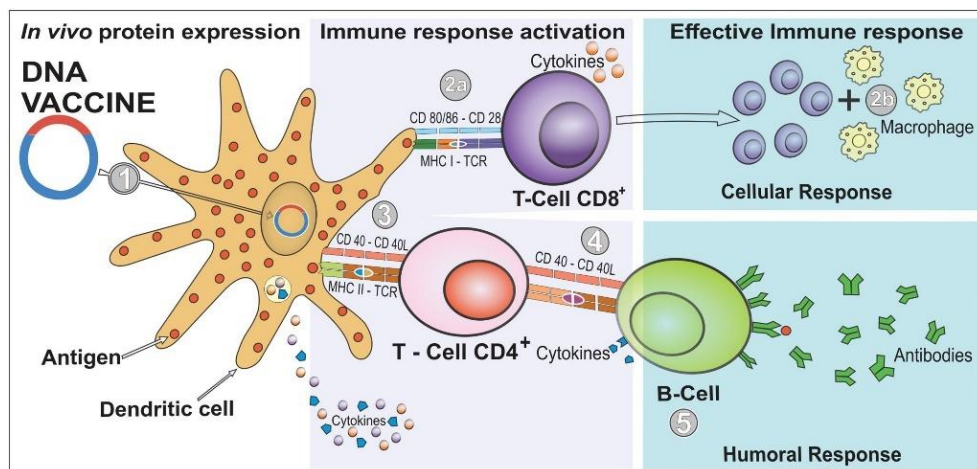
2.1.3 Vaksin

Vaksin merupakan agen biologis yang menimbulkan respons imun tubuh terhadap antigen spesifik dari patogen penyebab penyakit menular (Czohor et al., 2014). Vaksin sebagai produk biologi dapat secara aman dimanfaatkan untuk menginduksi respon imun karena kemampuannya dalam membawa antigen yang berasal dari patogen atau dengan produksi sintesis dari komponen patogen tersebut ke dalam sel tubuh (Pollard & Bijker, 2021). Perkembangan vaksin berupa munculnya vaksin konjugat, vaksin subunit, hingga *virus-like particles* (VLPs) menimbulkan efek yang

besar dalam kemajuan dunia kesehatan. Beberapa contoh dari vaksin ini adalah vaksin TBC, Hepatitis B, polio, hingga herpes zoster (Kallerup & Foged, 2015).

Vaksin RNA dan DNA sebagai vaksin yang berbasis asam nukleat termasuk ke dalam vaksin generasi baru yang menarik karena kesederhanaannya serta beberapa keunggulan lain yang dimiliki dibandingkan vaksin konvensional. Vaksin mRNA memanfaatkan molekul mRNA sebagai imunogen dan bahan pembantu akibat sifat imunostimulator intrinsik mRNA (Gote et al., 2023). Perbedaan vaksin mRNA dan vaksin DNA terletak pada asam nukleat yang digunakan, yakni mRNA pada vaksin mRNA, sedangkan vaksin DNA memanfaatkan DNA.

Prinsip vaksin DNA adalah untuk menginduksi kekebalan dengan mentransfeksi sel inang dengan DNA (Gambar 2.2). Setelah vaksinasi DNA, protein (antigen) yang dikodekan oleh DNA tersebut dapat memicu kekebalan tubuh (Kallerup & Foged, 2015). Keuntungan besar yang terkait dengan vaksin DNA adalah produksinya relatif mudah dengan biaya rendah, serta mampu menginduksi respon imun humoral maupun respon imun seluler dengan baik (Hayat Khan, 2013; Ledesma-Feliciano et al., 2023; Narayanan et al., 2022; Smith et al., 2020).



Gambar 2.2 Mekanisme kerja vaksin DNA

Sumber: Silveira et al., (2021)

2.1.4 Ajuvan

Ajuvan merupakan sebagai senyawa tambahan pada vaksin untuk meningkatkan dan menstimulasi sistem imun secara efisien (Facciola et al., 2022; Pulendran et al., 2021). Klasifikasi ajuvan berdasarkan mekanisme kerjanya terdiri dari imunostimulan dan sistem penghantar (Zhao et al., 2023). *Toll-like receptors* (TLRs) dan *cyclic guanosine monophosphate-adenosine monophosphate synthase-stimulator of interferon genes* (cGAS-STING) termasuk ke dalam imunostimulan yang berperan sebagai inisiator dalam respon imun adaptif melalui aktivasi *antigen presenting cell* (APC) dari *pattern recognition receptor* (PRRs) (Zhao et al., 2023). Sistem penghantar memiliki cara kerja dengan mempresentasikan antigen pada *antigen presenting cell* (APC) sehingga dapat meningkatkan respon imun adaptif (Zhao et al., 2023). Baik imunostimulan maupun sistem penghantar, kedua jenis ajuvan ini telah berkembang pesat dalam kemampuannya menginduksi respon imun tubuh dari vaksin. Meskipun demikian, efektivitas dan keamanan dari ajuvan imunostimulan menghadapi beberapa tantangan. Berdasarkan penelitian Fan et al., (2022), imunostimulan berupa TLR sendiri tidak disarankan untuk menjadi ajuvan bagi vaksin penyakit menular akibat potensinya dalam meningkatkan risiko kerentanan tubuh terhadap tumor, sedangkan sistem penghantar seperti liposom telah berhasil menjadi salah satu ajuvan dalam vaksin mRNA COVID-19 dengan efisiensi mencapai 95% pada vaksin seri BNT162b2 (Fan et al., 2022) sehingga liposom berpotensi menjadi ajuvan vaksin yang aman dan efektif.

2.1.4.1 Liposom

Liposom sebagai ajuvan sistem penghantar vaksin memiliki kemampuan induksi respon imun yang baik, toksisitas rendah, biokompabilitas yang tinggi, serta kemampuan enkapsulasi antigen yang dapat melindungi vaksin DNA dari degradasi oleh DNase (Lu & Qi., 2021; Tretiakova & Vodovozova, 2022). Liposom sebagai sistem penghantar antigen membuat senyawa yang larut dengan air seperti peptida dan asam nukleat akan terperangkap di bagian dalam liposom, sedangkan senyawa

lipofilik terletak di lapisan bilayer lipid. Liposom seringkali digunakan untuk menargetkan situs seluler tertentu, melepaskan antigen ke situs inflamasi, dan sebagai hasilnya, telah digunakan dalam banyak jalur vaksinasi (misalnya oral, mukosa, kulit, dan topikal) (Fan et al., 2022). Berdasarkan studi imunisasi yang dilakukan oleh (Lu & Qi, 2021) menunjukkan bahwa liposom meningkatkan respon imun humoral dan limfosit T sitotoksik yang jauh lebih besar terhadap antigen yang dikodekan oleh vaksin DNA. Selain itu, analisis perbandingan level sitokin pada vaksin DNA formulasi liposom menghasilkan produksi sitokin yang lebih tinggi daripada vaksin DNA saja (Lu & Qi, 2021).

2.1.4.2 Kompleks DOTAP/PEI25k/kolesterol

Polimer polyethylenimin (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). Berdasarkan Jia et al., (2013), polimer PEI dengan berat molekul tinggi seperti PEI25k termasuk ke dalam reagen transfeksi in vitro dan in vivo yang efektif sebab memiliki efisiensi transfeksi yang tinggi. 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 (Song et al., 2012). Hal tersebut berpengaruh ketika kompleks PEI25K/kolesterol berinteraksi dengan membran sel yang dapat mengurangi kerusakan membran sekaligus menekan sitotoksitas dari polimer PEI25k (Song et al., 2012). Selain itu, 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 (Miatmoko et

al., 2023).

2.1.5 Sitokin

Sitokin termasuk ke dalam protein larut berukuran kecil (15-20 kD) yang 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). Sejumlah penelitian telah menyelidiki sindrom pelepasan sitokin, yang umumnya ditemukan pada pasien SARS-CoV-2 dan ditandai dengan sekresi TNF- α , IL-6, dan sitokin inflamasi lainnya yang berlebihan (Darif et al., 2021; Rabaan et al., 2021; Scheller et al., 2011; Silva et al., 2019). Sitokin ini berhubungan dengan fungsi penting yang mengaktifkan dan membedakan respon inflamasi serta imun pada pasien dengan COVID-19.

2.1.5.1 Sitokin Interleukin-6 (IL-6)

Interleukin-6 (IL-6) adalah sitokin yang tidak hanya terlibat dalam respons peradangan dan infeksi tetapi juga dalam regulasi proses metabolisme, regeneratif, saraf, dan hematopoiesis (Scheller et al., 2011). Selain itu, menurut Tanaka et al., (2014), IL-6 juga bekerja dalam menghubungkan respon imun bawaan ke respon imun adaptif dengan peningkatan diferensiasi khusus sel T CD4⁺ naif serta diferensiasi sel T CD8⁺ menjadi sel T sitotoksik. IL-6 memainkan peran penting dalam regulasi metabolisme sel otot dan lemak dengan meningkatkan suhu tubuh ketika patogen menyerang (Korn & Hiltensperger, 2021; Li et al., 2018).

2.1.5.2 Sitokin Tumor Necrosis Factor- α (TNF- α)

Tumor necrosis factor- α (TNF- α) diketahui menjadi sitokin yang juga terlibat dalam integrasi imunitas bawaan dan imunitas adaptif (Schultheiß et al., 2022). TNF- α berperan dalam aktivasi sel limfosit T dan B, yang juga dipengaruhi oleh makrofag dan sel *natural killer* (NK) yang merupakan *Antigen Presenting Cells* (APC) dan termasuk dalam imunitas bawaan

(Iwasaki & Medzhitov, 2015). Interaksi tersebut menyebabkan serangkaian respon imun yang merangsang imunitas adaptif untuk berinteraksi, terutama dari sel limfosit T dan B yang bertanggungjawab untuk produksi antibodi (Newton & Dixit, 2012).

TNF- α juga memicu produksi prostaglandin (PG), meningkatkan induksi demam, serta aktivasi sel endotel yang berkontribusi signifikan terhadap perubahan vaskular untuk meningkatkan aliran darah di lokasi cedera (Silva et al., 2019). TNF- α menjadi komponen yang penting dalam respon imun normal, namun pelepasan TNF- α yang berlebih di dalam tubuh bisa menyebabkan penyakit seperti lesi periapikal, arthritis rheumatoid, hingga penyakit *inflammatory bowel* dan kanker (Silva et al., 2019).

2.1.6 Mencit (*Mus musculus* L.)

Mencit (*Mus musculus* L.) merupakan salah satu hewan uji yang sering digunakan untuk penelitian di laboratorium. Mencit termasuk ke dalam genus *Mus*, subfamili murinae, famili muridae, dan ordo Rodentia (Frohlich, 2020). Penelitian terkait imunologi terhadap mencit telah beberapa kali dilakukan untuk menemukan ciri-ciri utama respon imun bawaan dan adaptif. Sistem imun mencit secara umum menyerupai sistem imun manusia, dengan mediator dan tipe sel serupa yang terlibat dalam respon imun bawaan seperti makrofag, neutrofil, dan sel *natural killer*, serta respon imun adaptif yang diinduksi oleh sel *antigen-presenting dendritic* dan dieksekusi oleh sel B dan T (Rydell-Törmänen & Johnson, 2019). Adapun galur mencit yang digunakan adalah galur BALB/c. Mencit BALB/c merupakan mencit albino dengan warna mata merah muda, dan berbulu putih. Kemampuan inisiasi sekresi sitokin pada mencit BALB/c cenderung lebih tinggi dibandingkan mencit galur C57BL/6 (Fornes et al., 2018). Berdasarkan hasil penelitian Li et al., (2024), mencit BALB/c betina dapat menginduksi antibodi dan respons sel T yang lebih tinggi daripada mencit jantan, sehingga direkomendasikan untuk penelitian di bidang respons imunologi.

2.1.6.1 Limpa Mencit BALB/c

Limpa menjadi salah satu organ sekunder dalam sistem limpatik yang berfungsi untuk memodulasi sistem kekebalan tubuh dengan meregulasi apoptosis sel dan mengatur diferensiasi serta aktivasi sel T dan B (Liu et al., 2022). Penelitian yang dilakukan oleh Keramida et al., (2018) menunjukkan bahwa aktivitas pada limpa berhubungan dengan imunitas, infeksi, dan metabolisme dalam tubuh. Limpa juga berperan langsung dalam pembentukan sitokin proinflamasi dibuktikan dengan hasil ekspresi sitokin IL-1 β , IL-6, IL-10 dan TNF- α di limpa mencit meningkat dalam kurun waktu 24 jam setelah diberi perlakuan khusus (Wu et al., 2020).

2.1.6.2 Eksudat Peritoneal Mencit BALB/c

Eksudat peritoneal adalah sekumpulan sel yang terkumpul di rongga peritoneum akibat peradangan atau infeksi. Sel-sel ini termasuk berbagai jenis sel imun, seperti makrofag, neutrofil, limfosit, dan sel dendritik, sehingga sel eksudat peritoneal memiliki peran penting dalam respons imun. Sel eksudat peritoneal pada mencit BALB/c dapat memproduksi sitokin seperti IL-6 dan TNF- α yang berfungsi mengatur respons inflamasi serta menarik sel-sel imun ke lokasi peradangan atau infeksi. Makrofag dan sel dendritik dalam eksudat peritoneal mencit mampu memproses antigen untuk kemudian dipresentasikan kepada sel T hingga memicu respons imun adaptif (Gordon, 2007; Medzhitov, 2008; Rosales, 2020).

2.1.7 Cell Surface Marker dalam Deteksi Leukosit

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 $^{+}$ dan sel-T CD8 $^{+}$. Sel T CD8 $^{+}$ yang teraktivasi menunjukkan profil sitotoksitas, melepaskan perforin dan granzim untuk menginduksi apoptosis sel target yang terinfeksi. Sel limfosit T CD8 $^{+}$ ini juga mampu membunuh sel target yang terinfeksi, untuk kemudian sel B mengeluarkan antibodi spesifik SARS-CoV-2, termasuk imunoglobulin IgM dan IgG. Di sisi lain, sel T CD4 $^{+}$ dapat menghasilkan

sitokin yang memengaruhi aktivasi dan diferensiasi sel imun lainnya, termasuk APC yang membantu mereka mengeliminasi virus. 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. Maka dari itu, keberadaan sel leukosit ini sangat krusial dalam penelitian untuk mengidentifikasi respon imun setelah injeksi vaksin.

Sel leukosit seperti monosit, makrofag, sel dendritik, neutrophil, hingga limfosit (sel NK dan sel T) menampilkan molekul seperti CD pada permukaannya yang sangat penting untuk mendeteksi perubahan lingkungan yang berbahaya dan memediasi adhesi sel dan komunikasi antara sel dalam sistem imun (Kalina et al., 2019). Molekul CD 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*. Analisis molekul CD yang dikenal sebagai *immunophenotyping* merupakan komponen dasar untuk diagnosis, klasifikasi, dan tindak lanjut hematologi serta defisiensi imun, sekaligus pemantauan gangguan sistem imun seperti penyakit autoimun (Kalina et al., 2019). Misalnya, penentuan karakteristik imunofenotipik subset sel T, B, dan sel pembunuh alami (NK) dengan menggunakan *flow cytometry* memungkinkan klasifikasi pasien dengan defisiensi imun gabungan berat (*severe combined immunodeficiency*) ke dalam kategori berbeda untuk mempersempit kemungkinan penyebab cacat genetik (Delmonte & Fleisher, 2019).

Eksresi *cell surface marker* pada sel bergantung pada jenis sel dan tahap diferensiasi selnya serta antibodi yang mendeteksi marker tersebut. Antibodi yang mendeteksi *cell surface marker* dianalisis dengan metode *flow cytometry* sehingga memberikan pengukuran fenotipe sel. Ketika sel berlabel antibodi digabungkan dengan pemisahan sel berbasis *flow cytometry*, maka jenis sel target dapat diisolasi dengan kemurnian dan sensitivitas tinggi, sehingga sel yang tidak diinginkan dapat dihilangkan dari

suatu populasi. Oleh karena itu, *cell surface marker* mampu memberikan pendekatan langsung dan objektif untuk mengidentifikasi dan memperkaya jenis sel target (Goodwin et al., 2020). Sebagai contoh, Lakschevitz et al., (2016) mengidentifikasi CD11b, CD16, dan CD66b sebagai marker yang diekspresikan pada neutrofil untuk mengetahui lokasi sel dan membedakan antara fenotipe neutrofil selama terkena penyakit inflamasi kronis dan saat tubuh sedang sehat. Maka dari itu, identifikasi sel-sel leukosit setelah diinjeksi oleh vaksin termasuk SARS-CoV-2 diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui respon imun yang diinduksi.



2.2 Hasil Penelitian Terdahulu

Hasil penelitian terdahulu dirangkum dalam Tabel 2.1 berikut.

Tabel 2.1 Hasil Eksperimen Terdahulu yang dilakukan Peneliti

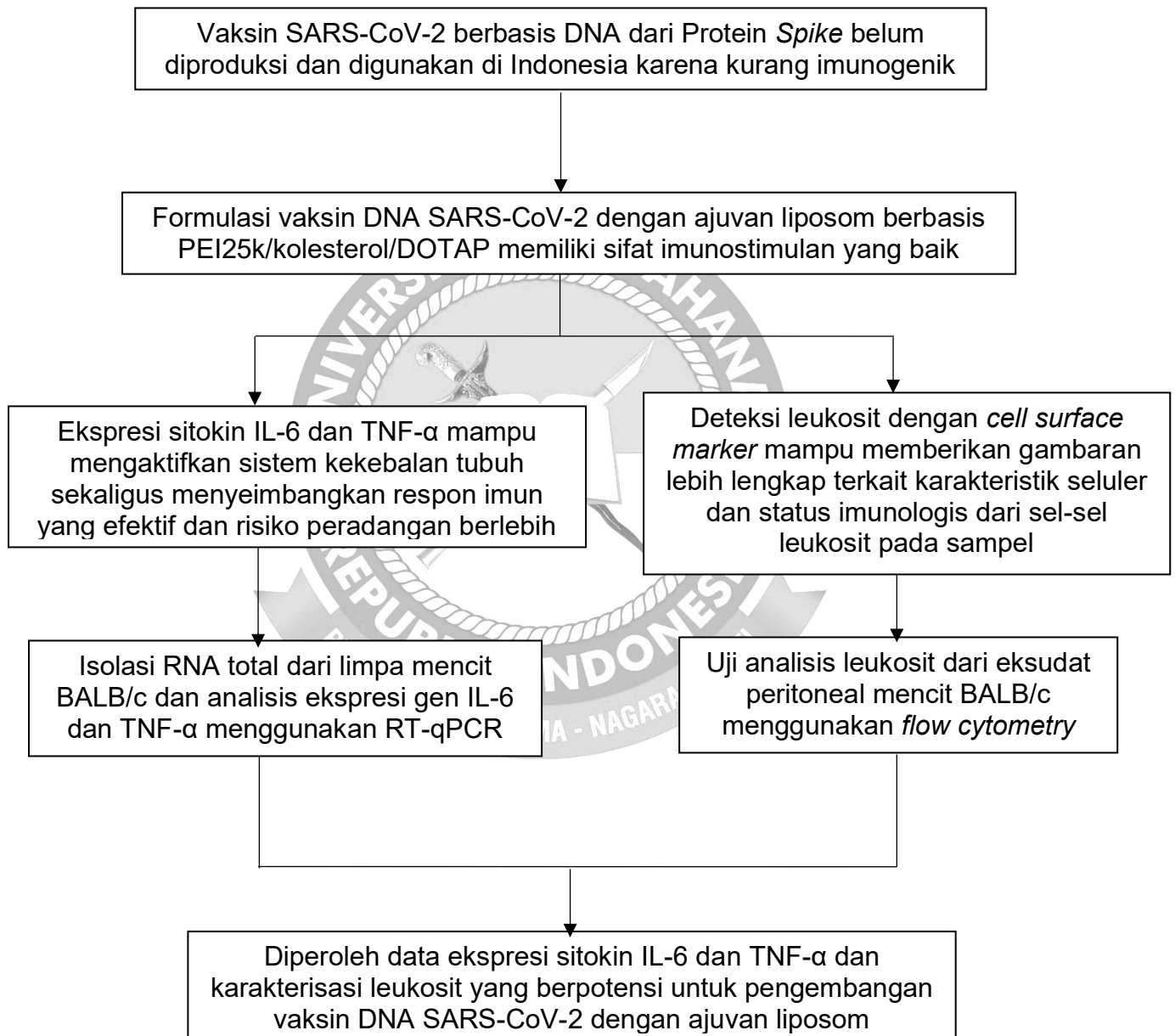
No	Sumber	Judul	Hasil Penelitian
1.	Alamri et al., 2021	<i>Synthetic SARS-CoV-2 spike-based DNA vaccine elicits robust and long-lasting Th1 humoral and cellular immunity in mice</i>	Penelitian ini mengonfirmasi imunogenisitas kandidat vaksin DNA VIU-1005 yang mengekspresikan glikoprotein S dari SARS-CoV-2 yang memiliki pengaruh besar dalam menghasilkan kekebalan humoral dan seluler pelindung yang kuat dan tahan lama terhadap Th1, termasuk produksi sitokin berupa TNF dan IL-2. Penelitian ini kurang membahas terkait keterlibatan adjuvan dalam vaksin SARS-CoV-2.
2.	Peletta et al., 2021	<i>DNA vaccines administered by cationic lipoplexes or by in vivo electroporation induces comparable antibody responses against SARS-CoV-2 in mice</i>	Penelitian ini membahas tentang liposom kationik yang diformulasikan dan dikomplekskan menjadi vaksin DNA pCMVkan-S bermuatan negatif yang mengekspresikan protein S dari SARS-CoV2 S. Hasil studi <i>in vivo</i> pada mencit menunjukkan respons imun berupa sekresi sitokin hingga terbentuknya antibodi. Penelitian terkait menuju metode manufaktur skala independen masih perlu dilakukan.

3.	Wørzner et al., 2021	<i>Adjuvanted SARS-CoV-2 spike protein elicits neutralizing antibodies and CD4 T cell responses after a single immunization in mice</i>	Penelitian ini menunjukkan bahwa tiga sistem adjuvan berbeda yang teruji secara klinis dapat diformulasikan dengan protein S SARS-CoV-2 untuk meningkatkan titer antibodi penetralisir setelah imunisasi tunggal pada tikus. Ajuvan ini mempengaruhi respons sel <i>T helper</i> secara berbeda. Studi lebih lanjut terkait pemilihan vaksin subunit SARS-CoV-2 dengan adjuvan yang optimal perlu dilakukan.
4.	Russo et al., 2023	<i>Intranasal liposomal formulation of spike protein adjuvanted with CpG protects and boosts heterologous immunity of hACE2 transgenic mice to SARS-CoV-2 infection</i>	Penelitian ini menggunakan formulasi liposomal yang mengandung protein S SARS-CoV-2 dan adjuvant CpG untuk kemudian diberikan secara intranasal kepada mencit transgenik hACE2. Hasil studi menunjukkan formulasi tersebut memiliki perlindungan signifikan dengan viral load di paru-paru yang berkurang serta meningkatkan respon imun adaptif tanpa menyebabkan peradangan berlebih. Penelitian ini perlu studi lebih lanjut terutama yang berkaitan dengan efikasi vaksin serta durasi kekebalannya.
5.	Sengupta et al., 2022	<i>Intranasal coronavirus SARS-CoV-2 immunization with lipid adjuvants</i>	Studi ini menerapkan imunisasi pra klinis menggunakan kombinasi protein <i>spike</i> S1 dan nukleokapsid dengan lipid kationik (N3) atau anionik (L3) secara intranasal. Penelitian

		<i>provides systemic and mucosal immune response against SARS-CoV-2 S1 spike and nucleocapsid protein</i>	menunjukkan bahwa pemberian antigen/adjuvan dalam jumlah rendah mampu menginduksi respons imun pada limfosit T yang mensekresi IgG sistemik dan sitokin IFN, serta IgA humoral di kompartemen mukosa hidung dan usus. Adjuvan berupa lipid menunjukkan peningkatan respons imun terhadap efek vaksin. Penelitian ini membutuhkan produksi dan pengujian lebih lanjut lainnya.
--	--	--	--



2.3 Kerangka Berpikir



Gambar 2.3 Kerangka Berpikir Penelitian