

**Pengaruh Formulasi *Lactococcus lactis* Rekombinan Berbasis *Soyghurt*
sebagai Kandidat Vaksin Oral COVID-19 Terhadap Viabilitas Bakteri**

TUGAS AKHIR

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi**



Oleh:

Gadis Arivia

NIM 185070501111007

PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2021

HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

**PENGARUH FORMULASI *Lactococcus lactis* REKOMBINAN BERBASIS
SOYGHURT SEBAGAI KANDIDAT VAKSIN ORAL COVID-19 TERHADAP
VIABILITAS BAKTERI**

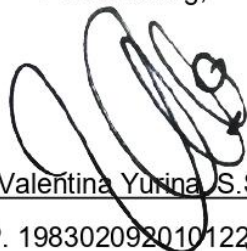
Oleh:

Gadis Arivia

NIM 185070501111007

Telah dinyatakan lulus berdasarkan persyaratan bebas Tugas Akhir

Pembimbing,



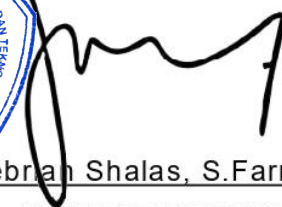
Dr. apt. Valentina Yurina, S.Si., M.Si.

NIP. 198302092010122001

Mengetahui,



Ketua Program Studi Sarjana Farmasi,



apt. Alvan Febrhan Shalas, S.Farm, M.Farm.

NIP. 198502182019031007

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Gadis Arivia
NIM : 185070501111007
Program Studi : Program Studi Farmasi

Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa Tugas Akhir yang saya tulis ini benar-benar hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambil-alihan tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai tulisan atau pikiran saya. Apabila di kemudian hari dapat dibuktikan bahwa Tugas Akhir ini adalah hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 8 Desember 2021

Yang membuat pernyataan,

Gadis Arivia

NIM. 185070501111007





KEPUTUSAN
DEKAN FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS BRAWIJAYA
NOMOR 402 TAHUN 2021

TENTANG

PEMBERIAN PENGHARGAAN KEPADA MAHASISWA BERPRESTASI
PESERTA PIMNAS XXXIV DAN KOMPETISI INTERNASIONAL
SEMESTER GANJIL TAHUN AKADEMIK 2021/2022

DEKAN FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS BRAWIJAYA,

- Menimbang :
- a. bahwa untuk meningkatkan atmosfer akademik di Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya perlu di tingkatkan kegiatan-kegiatan kemahasiswaan yang bernuansa akademis;
 - b. bahwa dalam meningkatkan motivasi dan mendorong partisipasi para mahasiswa dalam kegiatan yang bernuansa tersebut perlu adanya penghargaan;
 - c. bahwa berdasarkan pertimbangan sebagaimana dimaksud pada huruf a dan b, perlu diterbitkan Keputusan Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya tentang Pemberian Penghargaan Kepada Mahasiswa Berprestasi Peserta PIMNAS XXXIV dan Kompetisi Internasional Semester Ganjil Tahun Akademik 2021/2022;
- Mengingat :
1. Undang-undang Nomor 20 Tahun 2003 Tentang Sistem Pendidikan Nasional (Lembaran Negara Republik Indonesia Tahun 2003 Nomor 78, Tambahan Lembaran Negara Republik Indonesia Nomor 4301);
 2. Undang-undang Nomor 12 Tahun 2012 tentang Pendidikan Tinggi (Lembaran Negara Republik Indonesia Tahun 2012 Nomor 158, Tambahan Lembaran Negara Republik Indonesia Nomor 5336);
 3. Peraturan Pemerintah Nomor 4 Tahun 2014 tentang Penyelenggaraan Pendidikan Tinggi dan Pengelolaan Perguruan Tinggi (Lembaran Negara Republik Indonesia Tahun 2014 Nomor 16, Tambahan Lembaran Negara Republik Indonesia Nomor 5500);
 4. Peraturan Menteri Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi Nomor 58 Tahun 2018 tentang Statuta Universitas Brawijaya (Berita Negara Republik Indonesia Tahun 2018 Nomor 1578);
 5. Keputusan Menteri Pendidikan Nasional Nomor 080/O/2002 tentang Statuta Universitas Brawijaya;
 6. Peraturan Rektor Universitas Brawijaya Nomor 25 Tahun 2020 tentang Susunan Organisasi dan Tata Kerja (Lembaran Universitas Brawijaya Tahun 2020 Nomor 32) sebagaimana diubah dengan Peraturan Rektor Universitas Brawijaya Nomor 73 Tahun 2020 tentang Perubahan Atas Peraturan Rektor Universitas Brawijaya Nomor 25 Tahun 2020 tentang Susunan Organisasi dan Tata Kerja (Lembaran Universitas Brawijaya Tahun 2020 Nomor 90);

MEMUTUSKAN:

- Menetapkan : KEPUTUSAN DEKAN FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS BRAWIJAYA TENTANG PEMBERIAN PENGHARGAAN KEPADA MAHASISWA BERPRESTASI PESERTA PIMNAS XXXIV DAN KOMPETISI INTERNASIONAL SEMESTER GANJIL TAHUN AKADEMIK 2021/2022.
- KESATU : Memberikan penghargaan kepada mahasiswa Peserta PIMNAS XXXIV dan Kompetisi Internasional Semester Ganjil Tahun Akademik 2021/2022.
- KEDUA : Bentuk penghargaan berupa pembebasan para anggota Tim Mahasiswa dari kewajiban akademis pembuatan Karya Ilmiah Tugas Akhir regular, dengan tetap berkewajiban menyerahkan naskah karya ilmiah yang diikuti oleh masing-masing mahasiswa.
- KETIGA : Memberikan nilai prestasi Akademis A pada Karya Ilmiah Tugas Akhir bagi setiap mahasiswa Peserta PIMNAS XXXIV dan Kompetisi Internasional Semester Ganjil Tahun Akademik 2021/2022.
- KEEMPAT : Keputusan Dekan ini mulai berlaku pada tanggal ditetapkan.

Ditetapkan di Malang
pada tanggal 21 Desember 2021



LAMPIRAN : KEPUTUSAN DEKAN
 FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS BRAWIJAYA
 NOMOR 402 TAHUN 2021
 TANGGAL 21 DESEMBER 2021

No	NAMA	NIM	KEGIATAN	TINGKAT	CAPAIAN PRESTASI
1	M. Naufal Rizqi	185070100111068	Indonesia Inventors Day 2021 WINTEX	Internasional	Juara 2
2	Adrian Pearl Gunawan	185070100111057	PIMNAS XXXIV	Nasional	Finalis
3	Anisa Nadya Nafiz	185070200111028	PIMNAS XXXIV	Nasional	Finalis
4	Audrey Patricia Tandayu	185070101111019	PIMNAS XXXIV	Nasional	Finalis
5	Dahlia Fitriyani	195070607111033	PIMNAS XXXIV	Nasional	Finalis
6	Dhiky Dwi Kurniawan	185070507111008	PIMNAS XXXIV	Nasional	Finalis
7	Edo Apriliano Pratama	185070200111016	PIMNAS XXXIV	Nasional	Finalis
8	Pitria Rizki Nur Azizah	195070301111018	Indonesia Inventors Day 2021 WINTEX	Internasional	Juara 2
9	Gadis Arivia	185070501111007	PIMNAS XXXIV	Nasional	Juara 2
10	Hendri Wahyu Ningrum	185070501111017	PIMNAS XXXIV	Nasional	Finalis
11	Hero Barazani	195070107111043	PIMNAS XXXIV	Nasional	Finalis
12	Indy Zahrotul Firdaus	195070107111023	PIMNAS XXXIV	Nasional	Juara 2
13	Muhammad Fakhri Al Faruq	185070500111031	PIMNAS XXXIV	Nasional	Finalis
14	Muhammad Farrell Rikhad	185070100111096	PIMNAS XXXIV	Nasional	Finalis
15	Panca Aghiaa Tuuhu Al Faien	195070100111052	PIMNAS XXXIV	Nasional	Finalis
16	Seila Arumiyanti Anwar	205070100111031	PIMNAS XXXIV	Nasional	Juara 2
17	Silma Amalia Putri	205070101111024	Indonesia Inventors Day 2021 WINTEX	Internasional	Juara 2
18	Sylvia Indah Setyowati	185070501111032	PIMNAS XXXIV	Nasional	Finalis
19	Tamara Laily Fimannuha	195070501111034	PIMNAS XXXIV	Nasional	Finalis



DEKAN
 FAKULTAS KEDOKTERAN
 UNIVERSITAS BRAWIJAYA
 WISNU BARLIANTO
 NIP. 197307262005011008

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur kehadiran Allah SWT atas berkah, rahmat, dan hidayah-Nya yang senantiasa dilimpahkan kepada penulis, sehingga bisa menyelesaikan skripsi dengan judul **“Pengaruh Formulasi *Lactococcus lactis***

Rekombinan Berbasis *Soyghurt* sebagai Kandidat Vaksin Oral COVID-19 Terhadap Viabilitas Bakteri” sebagai syarat untuk menyelesaikan Program Sarjana (S1) Farmasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya.

Dalam penyusunan skripsi ini penulis senantiasa bersyukur karena dapat menyelesaikannya berkat bimbingan dosen pembimbing, dorongan, semangat, serta bantuan dari berbagai pihak. Untuk itu pada kesempatan ini penulis menyampaikan ucapan terima kasih setulusnya kepada:

1. Dr. dr. Wisnu Barlianto, M.Si. Med, SpA (K), selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
2. Prof. Dr. apt. Dra. Sri Winarsih, M.Si. selaku Ketua Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
3. apt. Alvan Febrian Shalas, M. Farm, selaku Ketua Program Studi Sarjana Farmasi yang telah membimbing penulis dalam menuntut ilmu di Program Studi Sarjana Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
4. apt. Efta Triastuti, S.Si., M.Farm.Klin., Ph.D selaku Koordinator Tugas Akhir Program Studi Sarjana Farmasi yang telah membimbing penulis dalam kepengurusan administratif Tugas Akhir.

5. Dr. apt. Valentina Yurina, S.Si., M.Si. selaku dosen pembimbing 1 yang telah banyak membimbing penulis serta bersedia meluangkan waktu untuk memberikan arahan selama penyusunan Tugas Akhir.

6. Ayah, Mama, dan Kakak atas segala doa, perhatian, kasih sayang, dukungan dan semangat yang telah diberikan.

7. Seluruh jajaran Dosen dan Staff Jurusan Farmasi Universitas Brawijaya yang telah membantu saya menyelesaikan masa perkuliahan ini.

8. Asro, Erni, Indy, Muaafii selaku rekan saya dalam PIMNAS 34 yang juga telah membantu dalam penelitian.

9. Teman-teman Angkatan 2018, Sukses Bareng Ber-11, Uji ke-hoki-an, Gatraskuy, FarmaTeam, Rena dan Ruro, Tim *in vivo* (Dewi, Yolan, Rachma, Naura, Bila), Tim *in vitro* (Termidzi, Vio, Melinda) yang memberikan warna-warni dalam masa perkuliahan serta telah membantu dan memberikan dukungan.

10. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang telah membantu dan memberikan dukungan.

Akhir kata, penulis menyadari penyusunan tugas akhir ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu, saran dan kritik yang sifatnya membangun sangat diharapkan oleh penulis demi kesempurnaan kepenulisan selanjutnya.

Malang, 27 November 2021

Gadis Arivia

ABSTRAK

Arivia, Gadis. 2021. *Pengaruh Formulasi Lactococcus lactis Rekombinan Berbasis Soyghurt sebagai Kandidat Vaksin Oral COVID-19 Terhadap Viabilitas Bakteri*. Tugas Akhir, Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) Dr. Valentina Yurina, S.Si., M.Si., Apt.

Pandemi COVID-19 merupakan suatu permasalahan yang menjadi perhatian di seluruh dunia, khususnya di bidang kesehatan. Berbagai studi telah dilakukan untuk mendapatkan vaksin yang efektif. Penelitian sebelumnya mengenai bakteri *Lactococcus lactis* menunjukkan bahwa bakteri tersebut mampu digunakan sebagai vektor vaksin berupa protein *spike* (S2) dari SARS-CoV-2. Penelitian ini bertujuan untuk mengembangkan formulasi susu kedelai fermentasi (*soyghurt*) dengan starter *Lactococcus lactis* rekombinan sebagai kandidat vaksin oral COVID-19 dan mengetahui pengaruh formulasi *Lactococcus lactis* rekombinan berbasis *soyghurt* terhadap uji viabilitas bakteri *Lactococcus lactis* selama penyimpanan 14 hari. Tahapan penelitian yang dilakukan antara lain pembuatan starter *Lactococcus lactis* rekombinan, penanaman starter pada susu kedelai dan fermentasi, uji fisikokimia, dan uji viabilitas bakteri *Lactococcus lactis* selama masa penyimpanan 14 hari. Starter *Lactococcus lactis* yang digunakan adalah 10% dan 20%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa karakteristik fisikokimia *soyghurt* yang dikembangkan dalam penelitian ini memiliki tekstur kental dan berwarna cream yang sesuai dengan kriteria SNI-2981-2009 berada rentang pH 4-5 dan viskositas 3-5 dPa. *Lactococcus lactis* rekombinan pada *soyghurt* mampu bertahan hidup dengan baik pada masa uji simpan selama 14 hari. Berdasarkan hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa *soyghurt* dengan *Lactococcus lactis* rekombinan berpotensi untuk dikembangkan menjadi vaksin oral COVID-19.

Kata kunci: COVID-19, *Lactococcus lactis*, Protein *Spike*, *Soyghurt*, Vaksin Oral

ABSTRACT

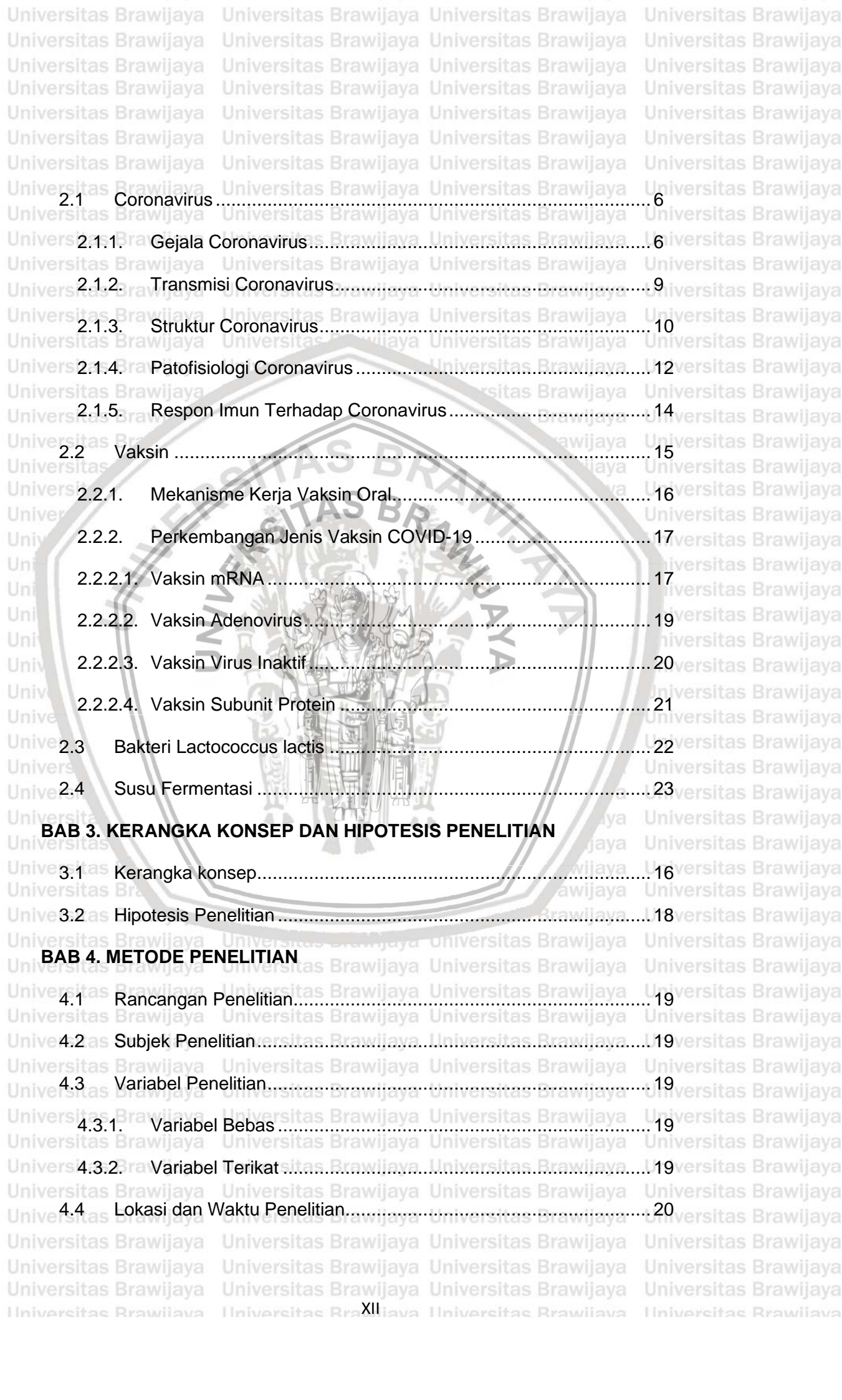
Arivia, Gadis. 2021. *Effect of Soyghurt-Based Recombinant Lactococcus lactis Formulation as a COVID-19 Oral Vaccine Candidate on Bacterial Viability*. Final Assignment, Pharmacy Program, Faculty of Medicine, Universitas Brawijaya. Supervisors: (1) Dr. Valentina Yurina, S.Si., M.Si., Apt.

COVID-19 pandemic is a major problem throughout the world, especially in the health sector. Various studies have been conducted to obtain effective vaccines. Previous research found that *Lactococcus lactis* has great potential as a vaccine vector of spike protein (S2) from SARS-CoV-2. This study aims to develop a formulation of fermented soymilk (soyghurt) with recombinant *Lactococcus lactis* starters as a candidate for the COVID-19 oral vaccine and to determine the effect of the formulation of soyghurt-based recombinant *Lactococcus lactis* on the viability test of *Lactococcus lactis* bacteria during 14 days storage. The research stages include preparing recombinant *Lactococcus lactis* starter, adding starter in soymilk and fermentation, physicochemical test, and viability test of *Lactococcus lactis* bacteria during the storage 14 days. *Lactococcus lactis* starter that was used 10% and 20%. The result showed that the physicochemical characteristics of soyghurt had a thick texture and cream color. Based on SNI-2981-2009, the product meets the criteria in the range of pH 4-5 and viscosity of 3-5 dPa. The colony counter test demonstrated that recombinant *Lactococcus lactis* survived for 14 days of storage. In conclusion, the recombinant *Lactococcus lactis* soyghurt has a great potential to be developed as an oral vaccine of COVID-19.

Keywords: COVID-19, *Lactococcus lactis*, Oral Vaccine, Soyghurt, Spike Protein

DAFTAR ISI

	Halaman
JUDUL.....	I
HALAMAN PENGESAHAN	II
PERSYARATAN KEASLIAN TULISAN.....	III
SK BEBAS TA NO 402 TAHUN 2021	IV
KATA PENGANTAR.....	VII
ABSTRAK.....	IX
ABSTRACT	X
DAFTAR ISI.....	XI
DAFTAR TABEL.....	XV
DAFTAR GAMBAR.....	XVI
DAFTAR LAMPIRAN.....	XVII
DAFTAR SINGKATAN.....	XVIII
BAB 1. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang Masalah.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.3.1 Tujuan Umum.....	4
1.3.2 Tujuan Khusus.....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
1.4.1 Manfaat Akademik.....	4
1.4.2 Manfaat Praktis.....	5
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	
	XI



2.1	Coronavirus.....	6
2.1.1.	Gejala Coronavirus.....	6
2.1.2.	Transmisi Coronavirus.....	9
2.1.3.	Struktur Coronavirus.....	10
2.1.4.	Patofisiologi Coronavirus.....	12
2.1.5.	Respon Imun Terhadap Coronavirus.....	14
2.2	Vaksin.....	15
2.2.1.	Mekanisme Kerja Vaksin Oral.....	16
2.2.2.	Perkembangan Jenis Vaksin COVID-19.....	17
2.2.2.1.	Vaksin mRNA.....	17
2.2.2.2.	Vaksin Adenovirus.....	19
2.2.2.3.	Vaksin Virus Inaktif.....	20
2.2.2.4.	Vaksin Subunit Protein.....	21
2.3	Bakteri Lactococcus lactis.....	22
2.4	Susu Fermentasi.....	23
BAB 3. KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN		
3.1	Kerangka konsep.....	16
3.2	Hipotesis Penelitian.....	18
BAB 4. METODE PENELITIAN		
4.1	Rancangan Penelitian.....	19
4.2	Subjek Penelitian.....	19
4.3	Variabel Penelitian.....	19
4.3.1.	Variabel Bebas.....	19
4.3.2.	Variabel Terikat.....	19
4.4	Lokasi dan Waktu Penelitian.....	20

4.4.1.	Lokasi Penelitian	20
4.4.2.	Waktu Penelitian.....	20
4.5	Bahan dan Alat Penelitian	20
4.5.1.	Bahan Penelitian	20
4.5.2.	Alat atau Instrumen Penelitian.....	20
4.6	Definisi Operasional.....	20
4.6.1.	Lactococcus lactis Rekombinan.....	20
4.6.2.	Uji Viabilitas Bakteri.....	21
4.7	Prosedur Penelitian	21
4.7.1.	Pembuatan Starter Lactococcus lactis.....	21
4.7.1.1	Tanam Starter.....	21
4.7.1.1.1	Pembuatan Media Cair M17 Broth.....	21
4.7.1.1.2	Tanam Starter.....	22
4.7.1.2	Induksi Nisin	22
4.7.2.	Fermentasi Susu Kedelai.....	23
4.7.2.1	Pengukuran OD akhir.....	23
4.7.2.2	Proses Fermentasi.....	23
4.7.3.	Uji Fisikokimia	24
4.7.3.1	Uji Organoleptis	24
4.7.3.2	Uji pH.....	24
4.7.3.3	Uji Viskositas.....	24
4.7.4.	Uji Viabilitas Bakteri.....	24
4.7.4.1	Pembuatan media padat.....	24
4.7.4.2	Uji Viabilitas Bakteri.....	25
4.8	Analisis Data	25

BAB 5. HASIL PENELITIAN DAN ANALISA DATA

5.1 Hasil Penelitian.....	26
5.2 Analisis Data	29

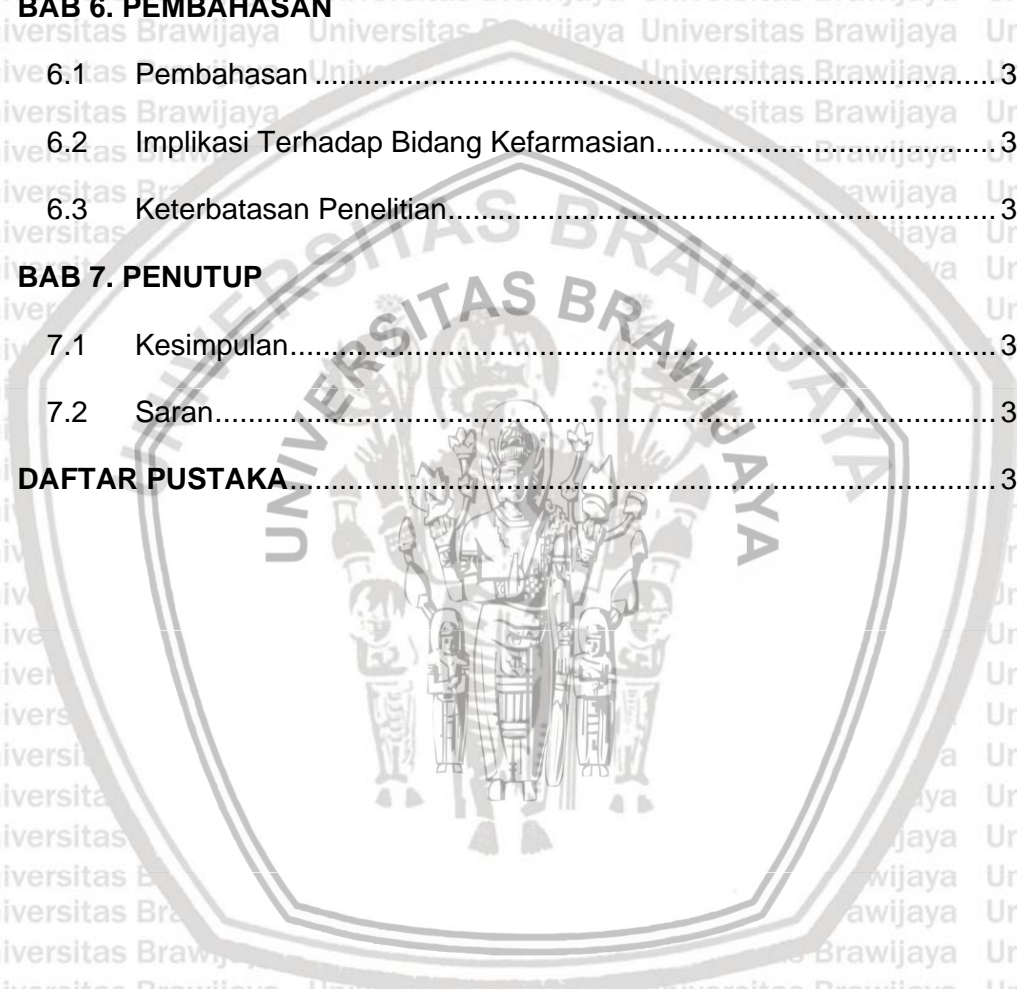
BAB 6. PEMBAHASAN

6.1 Pembahasan	30
6.2 Implikasi Terhadap Bidang Kefarmasian.....	33
6.3 Keterbatasan Penelitian.....	34

BAB 7. PENUTUP

7.1 Kesimpulan.....	34
7.2 Saran.....	34

DAFTAR PUSTAKA.....	35
----------------------------	-----------

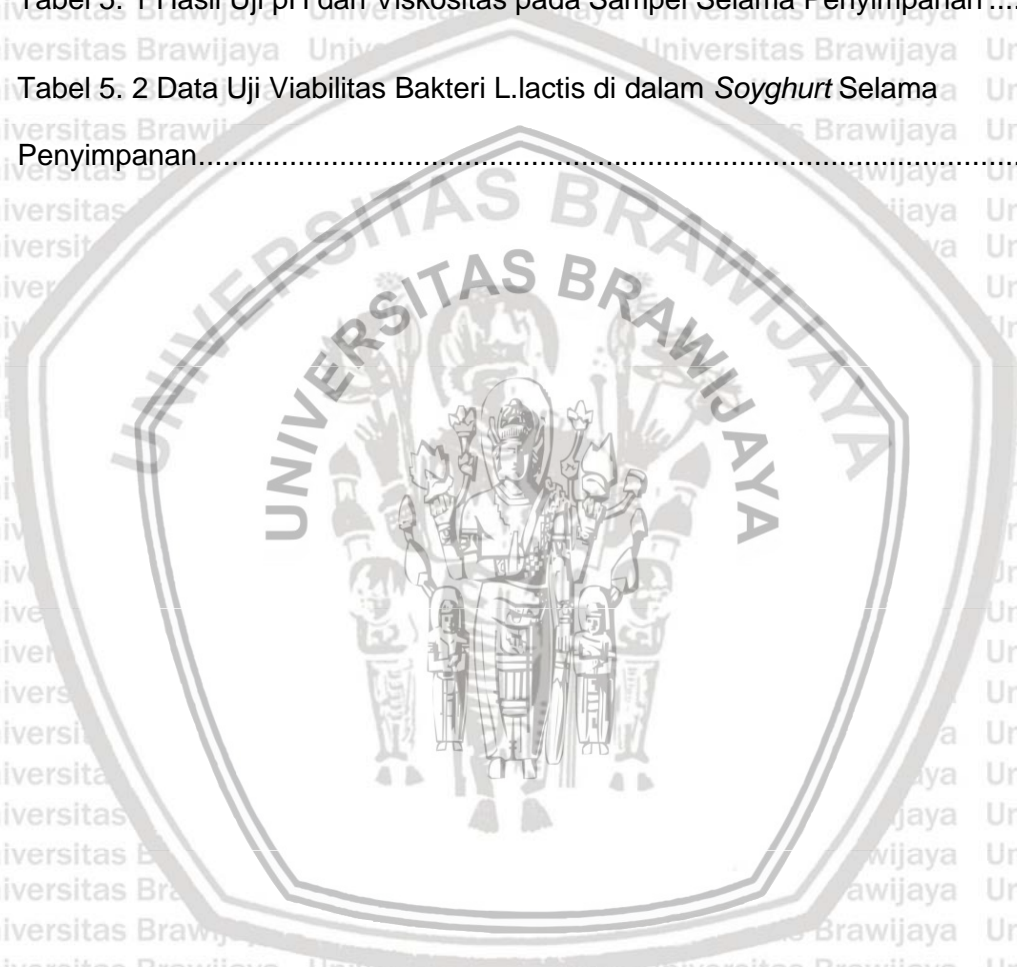


DAFTAR TABEL

Halaman

Tabel 5. 1 Hasil Uji pH dan Viskositas pada Sampel Selama Penyimpanan 27

Tabel 5. 2 Data Uji Viabilitas Bakteri *L.lactis* di dalam *Soyghurt* Selama Penyimpanan..... 28



DAFTAR GAMBAR

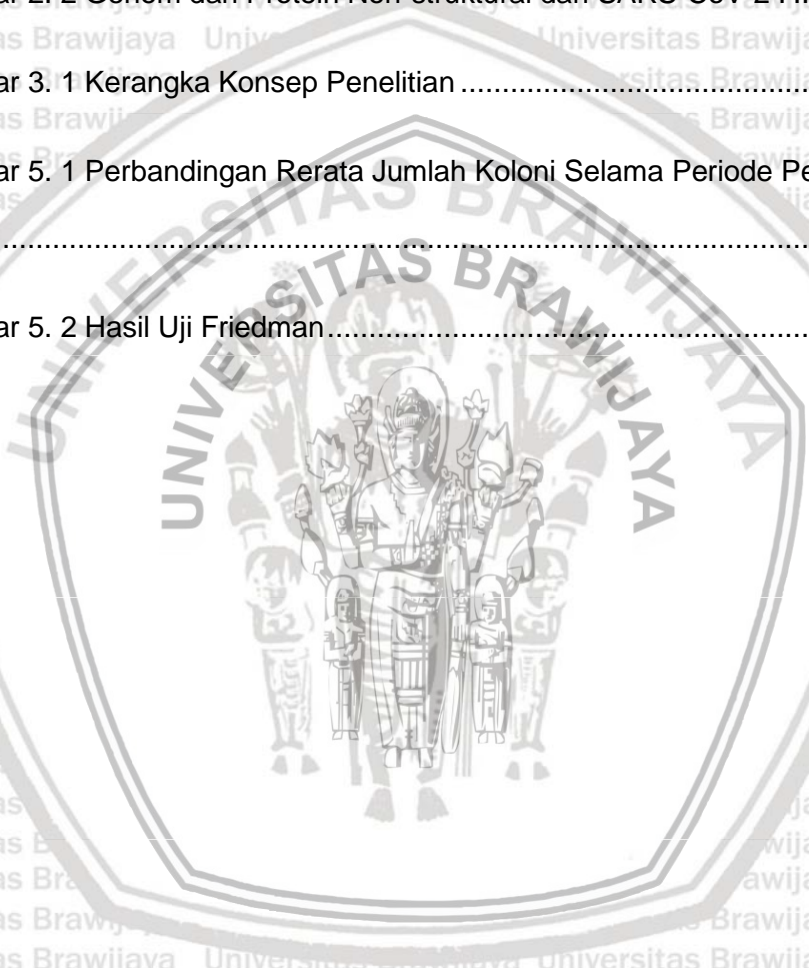
Halaman

Gambar 2. 2 Genom dan Protein Non-struktural dari SARS-CoV-2 13

Gambar 3. 1 Kerangka Konsep Penelitian 16

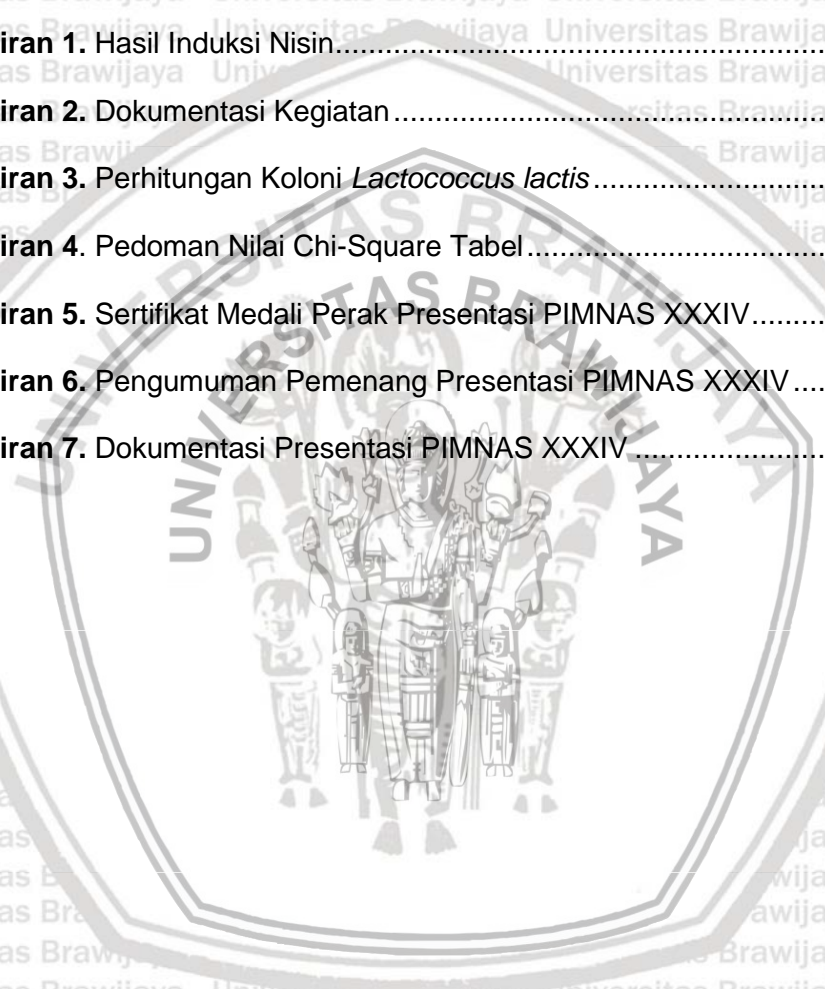
Gambar 5. 1 Perbandingan Rerata Jumlah Koloni Selama Periode Penyimpanan
..... 29

Gambar 5. 2 Hasil Uji Friedman 30



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Hasil Induksi Nisin.....	40
Lampiran 2. Dokumentasi Kegiatan.....	40
Lampiran 3. Perhitungan Koloni <i>Lactococcus lactis</i>	41
Lampiran 4. Pedoman Nilai Chi-Square Tabel.....	42
Lampiran 5. Sertifikat Medali Perak Presentasi PIMNAS XXXIV.....	43
Lampiran 6. Pengumuman Pemenang Presentasi PIMNAS XXXIV.....	43
Lampiran 7. Dokumentasi Presentasi PIMNAS XXXIV.....	44



DAFTAR SINGKATAN

- 6-HB : *six-helix bundle*
- ACE-2 : *angiotensin converting enzyme-2*
- ALI : *acute lung injury*
- APC : *antigen presenting cells*
- ARDS : *acute respiratory distress syndrome*
- BAL : *Bakteri Asam Laktat*
- CD4 : *cluster of differentiation-4*
- CD8 : *cluster of differentiation-8*
- CFU : *colony forming unit*
- COVID-19 : *coronavirus disease that was discovered in 2019*
- CP : *cytoplasmic domain*
- dPa : *desipascal*
- FDA : *food and drug administration*
- FP : *fusion peptide*
- GRAS : *generally regarded as save*
- HCoV229E : *human coronavirus strain 229E*
- HCoV-HKU1 : *human coronavirus HKU1*
- HCoV-NL63 : *human coronavirus NL63*
- HCoV-OC43 : *human coronavirus OC43*
- HCR : *highly conserved region*
- HR : *heptad repeat*
- IFN- α : *interferon alfa*
- IgA : *imunoglobulin A*
- IgG : *imunoglobulin G*

- IL-1 : *interleukin-1*
- IL-6 : *interleukin-6*
- IL-8 : *interleukin-8*
- IL-12 : *interleukin-12*
- IL-17 : *interleukin-17*
- IL-21 : *interleukin-21*
- IP-10 : *inducible protein-10*
- LAB : *lactic acid bacteria*
- LAF : *laminar air flow*
- MCP-1 : *monocyte chemoattractant protein-1*
- MERS-CoV : *middle east respiratory syndrome coronavirus*
- MHC : *major histocompatibility complex*
- MIP-1A : *macrophage inflammatory proteins-1 alpha*
- NF- κ B : *nuclear factor-kappa B*
- NK : *natural killer*
- NTD : *N-terminal domain*
- RBD : *receptor binding domain*
- RNA : *ribonucleic acid*
- SARS-CoV : *severe acute respiratory syndrome coronavirus*
- SARS-CoV-2 : *severe acute respiratory syndrome coronavirus 2*
- TM : *transmembrane domain*
- Th1 : *sel T helper 1*
- TNF- α : *tumor necrosis factor-alpha*
- TNF- β : *tumor necrosis factor-beta*
- TMPRSS2 : *transmembrane serin protease 2*
- UV : *ultraviolet*
- WFI : *water for injection*
- WHO : *world health organization*

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah

Sejak akhir tahun 2019, dunia dilanda wabah *coronavirus disease 2019* (COVID-19). Penyakit ini disebabkan oleh virus baru yang berasal dari mutasi anggota keluarga *coronaviridae* yaitu SARS-CoV-2. Secara epidemiologi, prevalensi COVID-19 meningkat secara cepat di seluruh dunia, sehingga WHO menetapkan virus *corona* sebagai pandemi global. Wabah tersebut telah menyebar di penjuru dunia termasuk di Indonesia. Kasus COVID-19 di Indonesia tercatat hingga akhir November 2021 sebanyak 4.254.815 kasus reaktif dan dinyatakan meninggal sebanyak 143.782 kasus (BPS, 2021). Virus ini dapat menular dengan cepat apabila kontak langsung dengan penderita. Semua jenis *coronavirus* menimbulkan gejala klinis umum berupa demam, batuk gangguan pernafasan akut, kelelahan, dan terkadang terdapat gejala saluran pencernaan seperti diare. Pasien yang terjangkit virus COVID-19 memiliki tingkat mortalitas yang lebih tinggi jika pasien berusia lanjut, anak-anak, wanita hamil serta pasien dengan penyakit penyerta seperti diabetes, jantung, ginjal dan hati (Cao, 2020b).

Upaya pencegahan infeksi virus yang dianggap paling efektif adalah vaksin. Saat ini, telah banyak vaksin yang dikembangkan dalam bentuk injeksi. Meskipun metode injeksi paling sering digunakan, namun vaksin dalam bentuk injeksi memiliki beberapa kekurangan seperti respon imun yang dihasilkan terbatas hanya pada respon imun sistemik dan memberikan respon

imun mukosal yang lemah (Vela *et al.*, 2017). Selain itu vaksin injeksi memerlukan tenaga khusus dalam pemberiannya, serta jutaan orang mengalami ketakutan pada jarum suntik vaksin injeksi (McLenon and Rogers, 2019). Menurut Santos *et al.*, (2021), vaksin injeksi COVID-19 yang telah disetujui FDA diketahui membutuhkan pemberian booster berulang kali. Pemberian booster akan lebih mudah jika pemberian dilakukan melalui rute oral. Selain itu, vaksin injeksi COVID-19 yang disetujui FDA memerlukan suhu yang rendah untuk menjaga kestabilannya dalam rentang -70 hingga 2°C. Hal ini akan memerlukan biaya yang besar dalam transportasi dan pengadaan instrumen pada sistem rantai dingin.

Perkembangan teknologi vaksin terbaru adalah vaksin berbasis peptida atau vaksin epitope (El-Manzalawy and Honavar, 2010). Telah dilakukan riset untuk mengetahui potensi bakteri rekombinan *Lactococcus lactis* yang membawa antigen protein *spike* dalam memberikan respon imun mukosal dan sistemik sebagai vaksin oral (Yurina, 2018; Yurina, 2020). Antigen merupakan bagian dari patogen yang dikenali oleh tubuh. Pada virus SARS-CoV-2 telah diketahui bahwa antigen yang memiliki potensi besar untuk dikembangkan menjadi vaksin berbasis antigen adalah protein *spike* khususnya protein *spike* S2 (Yurina, 2020). Protein *spike* merupakan bagian permukaan pada *coronavirus* yang berperan dalam pengikatannya dengan reseptor dan menghantarkan masuknya virus ke dalam tubuh inang, maka protein ini dapat menjadi target utama dalam desain vaksin. Protein *spike* yang digunakan dalam penelitian ini adalah *highly conserved region* (HCR) yang sebelumnya sudah dilakukan penjejakan dari 9 strain *coronavirus* agar vaksin yang dikembangkan dapat aktif tidak hanya terhadap strain SARS-CoV-2 tetapi

juga untuk strain *coronavirus* lainnya. Selanjutnya, diperlukan optimalisasi atau formulasi lebih lanjut mengenai produk vaksin yang aman untuk diaplikasikan ke dalam tubuh.

Penelitian ini bertujuan untuk mengembangkan formulasi susu kedelai fermentasi (*soyghurt*) dengan starter *Lactococcus lactis* rekombinan sebagai kandidat vaksin oral COVID-19 dan untuk mengetahui pengaruh vaksin oral COVID-19 menggunakan bakteri *Lactococcus lactis* rekombinan berbasis *soyghurt* terhadap uji viabilitas bakteri *Lactococcus lactis* selama penyimpanan 14 hari. Susu kedelai dipilih sebagai basis vaksin oral karena dapat dikonsumsi oleh semua kalangan termasuk seseorang yang menderita alergi pada protein susu dan intoleransi terhadap laktosa (Tangyu *et al.*, 2019). Selain itu, bakteri *Lactococcus lactis* diharapkan mampu bertahan pada saluran pencernaan dalam basis susu kedelai fermentasi sehingga dapat menginduksi respon imun mukosa. Bakteri yang digunakan yaitu *Lactococcus lactis* yang merupakan kelompok LAB (*Lactic Acid Bacteria*) dan dikenal penggunaannya dalam produksi produk susu fermentasi seperti *yoghurt* dan keju. Penggunaan *Lactococcus lactis* rekombinan sebagai penghantar antigen pada permukaan mukosa dapat melindungi protein dari enzim pencernaan dan juga dapat menginduksi sistem imun sistemik dan mukosal untuk memberikan perlindungan terhadap patogen (Ma *et al.*, 2021). Induksi sistem imun mukosal menjadi penting dalam pengembangan vaksin *coronavirus* karena jenis virus ini menginfeksi melalui rute mukosal. Vaksin oral dari bakteri *Lactococcus lactis* dalam bentuk susu fermentasi dapat diberikan secara mudah melalui rute oral dan dapat menambah kenyamanan pemberian vaksin tanpa perlu menggunakan jarum suntik yang membutuhkan

keterampilan khusus, maupun proses distribusi vaksin yang memerlukan perlakuan khusus.

1.2 Rumusan Masalah

Bagaimana pengaruh formulasi *Lactococcus lactis* rekombinan berbasis *soyghurt* terhadap jumlah bakteri *Lactococcus lactis* dalam periode penyimpanan selama 14 hari?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Penelitian ini bertujuan untuk menentukan bahwa formulasi vaksin oral COVID-19 menggunakan bakteri *Lactococcus lactis* rekombinan dalam sediaan *soyghurt* berpotensi untuk dikembangkan menjadi vaksin oral COVID-19.

1.3.2 Tujuan Khusus

Penelitian ini bertujuan untuk menentukan bahwa pemberian vaksin oral COVID-19 menggunakan bakteri *Lactococcus lactis* rekombinan berbasis *soyghurt* mampu bertahan hidup dengan baik pada masa uji simpan selama 14 hari.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Akademik

Penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat dari segi akademik yaitu dapat menjadi dasar teori untuk menambah wawasan ilmu pengetahuan sekaligus sebagai dasar untuk pengembangan penelitian selanjutnya dalam bidang kesehatan, khususnya tentang

pengecahan COVID-19 menggunakan kandidat vaksin oral berbasis soyghurt.

1.4.2 Manfaat Praktis

Penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat dalam segi praktis yaitu dapat memberikan alternatif terapi preventif yang efektif dalam infeksi COVID-19.



BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Coronavirus

2.1.1. Gejala Coronavirus

Gejala yang sering terjadi pada pasien yang terinfeksi COVID-19 antara lain: (i) kehilangan atau perubahan indra penciuman dan perasa, (ii) gejala coryzal seperti pilek, bersin, hidung tersumbat, sakit mata, sakit tenggorokan, dan suara serak, (iii) gejala gastrointestinal seperti nafsu makan berkurang, mual, muntah, diare, dan sakit perut, (iv) gejala yang berhubungan dengan kelelahan seperti lengan/ kaki berat dan kesulitan tidur, (v) gejala pernapasan dan jantung seperti batuk yang terus-menerus, sesak napas, nyeri dada, dan dada sesak, (vi) gejala mirip flu dan lain-lain seperti demam, nyeri otot, menggigil, sakit kepala, pusing, mati rasa/ kesemutan (Elliott *et al.*, 2021).

Klasifikasi COVID-19 terdapat 5 jenis, antara lain:

1. Infeksi Asimtomatik atau Presimtomatik: Individu dengan tes SARS-CoV-2 positif tanpa gejala klinis yang konsisten dengan COVID-19.
2. Penyakit ringan: Individu yang memiliki gejala COVID-19 seperti demam, batuk, sakit tenggorokan, malaise, sakit kepala, nyeri otot, mual, muntah, diare, anosmia, atau dysgeusia tetapi tanpa sesak napas atau pencitraan dada yang tidak normal.

3. Penyakit sedang: Individu yang memiliki gejala klinis atau bukti radiologis penyakit saluran pernapasan bawah dan yang memiliki saturasi oksigen (SpO₂) 94% di udara ruangan.
4. Penyakit parah: Individu yang memiliki (SpO₂) 94% di udara ruangan; rasio tekanan parsial oksigen arteri terhadap fraksi oksigen inspirasi, (PaO₂/FiO₂) <300 dengan takipnea yang nyata dengan frekuensi pernapasan >30 kali/menit atau infiltrat paru >50%.
5. Penyakit kritis: Individu yang mengalami gagal napas akut, syok septik, dan/atau disfungsi organ multipel. Pasien dengan penyakit COVID-19 yang parah dapat menjadi sakit kritis dengan berkembangnya sindrom gangguan pernapasan akut (ARDS) yang cenderung terjadi kira-kira satu minggu setelah timbulnya gejala (Cascella *et al.*, 2021).

Meskipun COVID-19, penyakit yang disebabkan oleh SARS-CoV-2, sebagian besar mempengaruhi sistem pernapasan, COVID-19 dapat dianggap sebagai penyakit virus sistemik mengingat disfungsi beberapa organ yang terkait dengan penyakit ini.

1. Manifestasi ginjal: Pasien yang dirawat di rumah sakit dengan COVID-19 parah berisiko mengalami cedera ginjal, paling sering bermanifestasi sebagai cedera ginjal akut (AKI). AKI adalah manifestasi ekstrapulmoner COVID-19 yang paling sering ditemui dan dikaitkan dengan peningkatan risiko kematian. Manifestasi klinis dan laboratorium lainnya termasuk proteinuria, hematuria, kelainan elektrolit seperti hiperkalemia, hiponatremia, gangguan keseimbangan asam-basa seperti asidosis metabolik.

2. Manifestasi jantung: Cedera miokard yang bermanifestasi sebagai iskemia/infark miokard (MI) dan miokarditis adalah manifestasi jantung yang dikenali dengan baik pada pasien dengan COVID-19. Manifestasi jantung umum lainnya termasuk ACS, aritmia, kardiomiopati, dan syok kardiogenik.
3. Manifestasi hematologi: Limfopenia adalah kelainan laboratorium yang umum pada sebagian besar pasien COVID-19. Kelainan laboratorium lainnya termasuk trombositopenia, leukopenia, peningkatan kadar ESR, *C-reactive protein* (CRP) *lactate dehydrogenase* (LDH), dan leukositosis. Seperti yang telah dibahas sebelumnya, COVID-19 juga dikaitkan dengan hiperkoagulasi, dibuktikan dengan tingginya prevalensi kejadian vena dan tromboemboli seperti PE, DVT, MI, stroke iskemik, dan trombosis arteri yang juga terjadi pada pasien meskipun dipertahankan pada profilaksis atau bahkan antikoagulan sistemik terapeutik. COVID-19 juga dikaitkan dengan peningkatan D-dimer, kadar fibrinogen, waktu protrombin (PT) yang memanjang, dan waktu tromboplastin parsial (aPTT) pada pasien yang berisiko mengalami trombosis arteri dan vena.
4. Manifestasi gastrointestinal: Gejala GI seperti diare, mual dan/atau muntah, anoreksia, dan sakit perut.
5. Manifestasi hepatobilier: Peningkatan tes fungsi hati yang bermanifestasi sebagai peningkatan akut aspartat transaminase (AST) dan alanine transaminase (ALT) sering ditemukan pada 14% hingga 53% pasien dengan infeksi COVID-19. Disfungsi hati lebih sering terjadi pada pasien dengan penyakit COVID-19 yang parah.

6. Manifestasi endokrinologis: Pasien dengan gangguan endokrinologi yang mendasarinya seperti diabetes mellitus yang tertular virus ini berada pada peningkatan risiko mengembangkan penyakit parah. Manifestasi klinis seperti kadar glukosa darah abnormal, ketosis euglikemik, dan ketoasidosis diabetikum telah dicatat pada pasien yang dirawat di rumah sakit dengan COVID-19.
7. Manifestasi neurologis: Selain anosmia dan ageusia, temuan neurologis lainnya termasuk sakit kepala, stroke, gangguan kesadaran, gangguan kejang, dan ensefalopati metabolik toksik. Terdapat pula pasien dengan COVID-19 mengembangkan sindrom *Guillain-Barré* (GBS).
8. Manifestasi kulit: Lesi akral yang menyerupai *pseudo chilblains* adalah manifestasi kulit yang paling umum ditemukan pada pasien dengan COVID-19 (Cascella *et al.*, 2021).

2.1.2. Transmisi Coronavirus

Cara utama penularan SARS-CoV-2 adalah melalui paparan droplet respiratori yang membawa virus dari kontak dekat atau penularan tetesan dari individu presimtomatik, asimtomatik, atau simtomatik yang menyimpan virus. Droplet yang terinfeksi dapat menyebar 1 - 2 m dan mengendap di permukaan. Virus dapat tetap hidup di permukaan selama sehari-hari dalam kondisi atmosfer yang menguntungkan bagi virus tetapi dapat dihancurkan dalam waktu kurang dari satu menit oleh disinfektan umum seperti natrium hipoklorit, hidrogen peroksida, dll. Selain dari menghirup droplet, infeksi dapat ditularkan dari menyentuh permukaan

yang terkontaminasi oleh virus kemudian menyentuh hidung, mulut dan mata (Singhal, 2020).

Dalam kondisi eksperimental, SARS-CoV-2 tercatat stabil pada permukaan baja tahan karat dan plastik dibandingkan dengan permukaan tembaga dan karton, dengan virus yang hidup terdeteksi hingga 72 jam setelah menginokulasi permukaan dengan virus. Sebuah studi yang mengevaluasi durasi viabilitas virus pada benda dan permukaan menunjukkan bahwa SARS-CoV-2 dapat ditemukan pada plastik dan stainless steel hingga 2-3 hari, karton hingga 1 hari, tembaga hingga 4 hari. Selain itu, tampaknya kontaminasi lebih tinggi di unit perawatan intensif (ICU) daripada di bangsal umum, juga SARS-CoV-2 dapat ditemukan di lantai, mouse komputer, tempat sampah, dan pegangan tangan tempat tidur serta di udara hingga 4 meter dari pasien yang berimplikasi pada transmisi nosokomial selain transmisi fomite (Cascella et al., 2021).

2.1.3. Struktur Coronavirus

Coronavirus termasuk dalam famili *coronaviridae* dari anggota ordo *nidovirales*. *Coronavirus* adalah virus RNA positif berbentuk bulat, memiliki *envelope*, dan memiliki untaian tunggal dengan kisaran diameter 60–220 nm, dimana untaian tunggal tersebut memiliki ekstensi glikoprotein berbentuk batang di permukaan luarnya dan membawa genom berukuran 26-32 kb. *Coronavirus* diklasifikasikan menjadi empat subkelompok: alfa (α), beta (β), gamma (γ), dan delta (δ). Strain yang saat ini telah diketahui dapat menginfeksi manusia ada tujuh, yaitu: HCoV229E, HCoV-OC43, SARS-

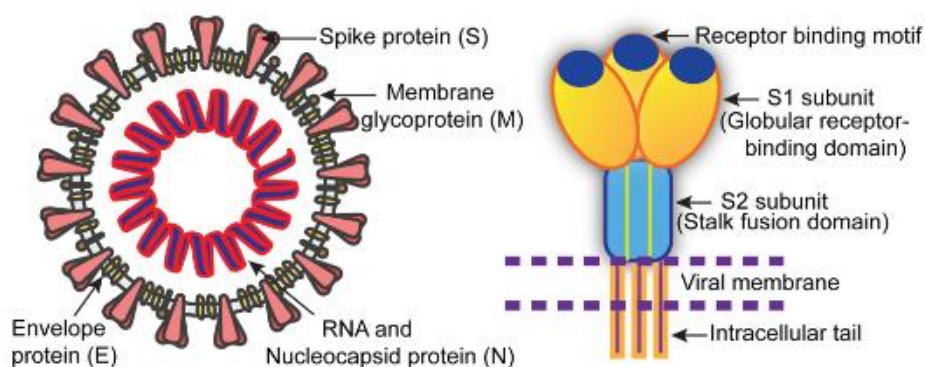
CoV, HCoV-NL63, HCoV-HKU1, MERS-CoV, dan SARS-CoV-2 (*severe acute respiratory syndrome coronavirus*) (Topuzoğullari *et al.*, 2020).

Secara struktural, SARS-CoV-2 memiliki empat protein struktural utama antara lain glikoprotein *spike* (S), glikoprotein *small envelope*, glikoprotein *membrane* (M), dan protein *nukleokapsid* (N), serta beberapa protein aksesori. *Spike* atau S glikoprotein adalah protein transmembran dengan berat molekul sekitar 150 kDa ditemukan di bagian luar virus.

Protein S membentuk homotrimer yang menonjol di permukaan virus dan memfasilitasi pengikatan *envelope* virus ke sel inang melalui tarikan dengan *angiotensin converting enzyme* (ACE2) yang diekspresikan dalam sel saluran pernapasan bagian bawah. Glikoprotein ini dipecah oleh protease menjadi 2 sub unit yaitu S1 dan S2. Bagian S1 bertanggung jawab untuk perlekatan atau pengikatan virus dengan reseptor sementara S2 berfungsi untuk memediasi fusi membran virus dengan sel inang (Astuti and Ysrafil, 2020). Subunit S1 terdiri dari *N-terminal domain* (NTD) dan *receptor binding domain* (RBD) dan subunit S2 yang mengandung komponen untuk fusi membran, terdiri dari *fusion peptide* (FP), *heptad repeat* (HR) 1 dan 2, *transmembrane domain* (TM) dan *cytoplasmic domain* (CP). Setelah RBD pada subunit S1 berikatan dengan reseptor ACE-2 sel target, HR1 dan HR2 pada subunit S2 berinteraksi satu sama lain membentuk *six-helix bundle* (6-HB) sehingga virus dapat masuk ke dalam sel dan menyebabkan infeksi (Xia *et al.*, 2020).

Nukleokapsid yang dikenal sebagai protein N adalah komponen struktural dari *Coronavirus* yang terlokalisasi di wilayah retikulum endoplasma dan golgi yang secara struktural terikat pada materi asam

nukleat virus. Karena protein ini terikat pada RNA, maka juga terlibat dalam proses yang berhubungan dengan genom virus, siklus replikasi virus, dan respon seluler sel inang terhadap infeksi virus. Protein N juga sangat terfosforilasi dan dapat menyebabkan perubahan struktural dalam meningkatkan afinitas untuk RNA virus. Bagian penting lain dari virus ini adalah *membrane* atau protein M, yang merupakan protein paling terstruktur dan berperan dalam menentukan bentuk *envelope* virus. Protein ini dapat mengikat semua protein struktural lainnya. Pengikatan dengan protein M membantu menstabilkan *nukleokapsid* atau protein N dan membantu proses perakitan virus dengan menstabilkan kompleks protein-RNA N di dalam virion internal. Komponen terakhir adalah *envelope* atau protein E yang merupakan protein terkecil dalam struktur SARS-CoV yang berperan dalam produksi dan pematangan virus (Astuti and Ysrafil, 2020).



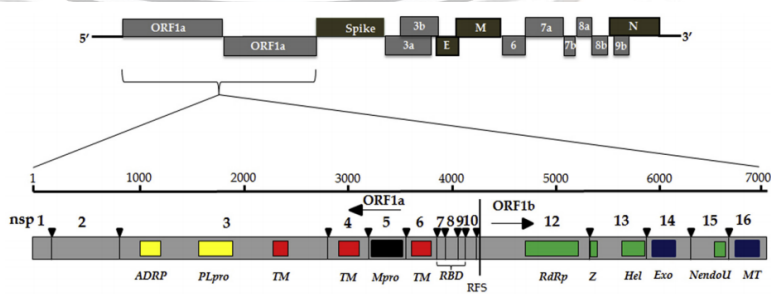
Gambar 2. 1 Struktur SARS-CoV-2 (Mittal et al., 2020).

2.1.4. Patofisiologi Coronavirus

Mekanisme *coronavirus* dalam menginfeksi tubuh manusia dimediasi oleh reseptor ACE2. Reseptor ACE2 terdapat di berbagai organ seperti jantung, paru-paru, ginjal, dan saluran pencernaan, sehingga

memudahkan virus masuk ke sel target. Proses masuknya *coronavirus* ke dalam sel inang dimulai melalui perlekatan glikoprotein S pada reseptor ACE2. Perlekatan ini terjadi pada domain pengikatan protein S reseptor SARS-CoV-2 yang terdapat pada residu 331 hingga 524, dan dapat mengikat kuat ACE-2 pada manusia (Astuti and Ysrafil, 2020).

Proses masuknya virus dan pengikatan virus kemudian diikuti oleh fusi membran virus dan sel inang. Setelah fusi terjadi, *transmembrane serin protease 2* (TMPRSS2) yang ada pada permukaan sel inang akan membersihkan ACE-2 dan mengaktifkan protein S untuk melekat pada reseptor. Aktivasi protein S menyebabkan perubahan konformasi dan memungkinkan virus masuk ke dalam sel. Kedua protein yaitu TMPRSS2 dan ACE-2 menjadi penentu utama dalam masuknya *coronavirus*. Sel epitel hidung diketahui mengekspresikan ACE-2 tertinggi dari seluruh saluran pernapasan. Kemudian setelah masuknya virus, selanjutnya virus akan melepaskan materi genom di sitoplasma dan diterjemahkan oleh inti sel. Materi genom yang dikeluarkan virus ini adalah mRNA yang siap ditranslasikan menjadi protein (Astuti and Ysrafil, 2020).



Gambar 2. 1 Genom dan Protein Non-struktural dari SARS-CoV-2 (Astuti and Ysrafil, 2020).

2.1.5. Respon Imun Terhadap Coronavirus

Umumnya respon imun tubuh terhadap SARS-CoV-2 dan SARS-CoV hampir serupa yaitu dimediasi oleh sitokin. Sebuah laporan kasus di Wuhan dari 99 pasien COVID-19 mengungkapkan bahwa terjadi peningkatan jumlah total neutrofil, serum *interleukin-6* (IL-6) dan protein c-reaktif masing-masing sekitar 38%, 52% dan 86% dan 35% penurunan total limfosit. Penelitian lain menemukan peningkatan ekspresi sitokin proinflamasi dan kemokin IP-10, MCP-1, MIP-1A, dan *tumor necrosis factor-alpha* (TNF α). Kondisi tersebut berkorelasi dengan tingkat keparahan dan kematian penyakit ini yang menunjukkan potensi pembentukan sitokin seperti yang ditemukan terjadi pada infeksi SARS-CoV dan MERS-CoV (Astuti and Ysrafil, 2020).

Masuknya virus ke dalam sel inang memicu rangsangan pada respon imun inang, yang akan pertama kali ditemui oleh sel sistem imun bawaan melalui *antigen presenting cells* (APC), misalnya sel dendritik dan makrofag, sebagai garis pertahanan pertama sistem imun. Sebagai penyaji antigen asing, APC akan mempresentasikan antigen *coronavirus* ke sel CD4+ T-helper oleh MHC kelas 1, dan ini mengarah pada pelepasan IL-12 sebagai molekul kostimulator untuk lebih merangsang aktivasi sel Th1.

Selain stimulasi Th1, pelepasan IL-12 dan IFN- α , peningkatan ekspresi MHC kelas 1 dan aktivasi sel NK juga diperlukan untuk resistensi replikasi virus dan pemberantasan sel yang terinfeksi virus. Ini juga memulai produksi sitokin proinflamasi melalui jalur pensinyalan NF- κ B. IL-17 adalah sitokin proinflamasi yang juga meningkat saat infeksi SARS-CoV-2 terjadi. Sitokin ini selanjutnya akan merekrut neutrofil dan monosit ke tempat

infeksi dan mengaktifkan beberapa sitokin proinflamasi dan kemokin termasuk IL-1, IL-6, IL-8, IL-21, TNF- β , dan MCP-1. Selanjutnya, aktivasi sel Th1 dapat merangsang sel CD8⁺ T yang merupakan salah satu efektor sel T yang akan membidik dan membunuh sel yang terinfeksi *coronavirus*. Pada saat yang sama, sel T CD4 dapat menstimulasi respon imun humoral dengan memproduksi antibodi spesifik antigen melalui aktivasi sel B yang bergantung pada sel T (Astuti and Ysrafil, 2020).

2.2 Vaksin

Vaksinasi merupakan pencegahan paling efektif untuk infeksi virus. Vaksin merangsang pembentukan imunitas dalam tubuh seseorang yang dibentuk melalui pengenalan suatu antigen tertentu sehingga diharapkan apabila antigen tersebut menginfeksi kembali, reaksi imunitas yang lebih kuat akan timbul sehingga dapat mencegah terjadinya infeksi. Dalam penanganan kasus infeksius termasuk pada kasus COVID-19, pengembangan vaksin memiliki potensi besar dalam pembangunan strategi kesehatan, seperti penanganan kasus infeksi virus *coronaviridae* sebelumnya yaitu SARS-CoV dan MERS-CoV (Topuzoğullari *et al.*, 2020).

Salah satu perkembangan teknologi vaksin terbaru adalah vaksin berbasis peptida atau vaksin epitop. Vaksin berbasis epitop disintesis berdasarkan analisis *in silico* melalui pendekatan imunoinformatika. Studi *in silico* mengurangi biaya dan waktu yang dibutuhkan dalam mengembangkan vaksin dan membuat vaksin dengan kemanjuran dan keamanan yang lebih tinggi daripada vaksin konvensional (Yurina, 2020).

Vaksinasi oral juga merupakan suatu keberhasilan dari perkembangan vaksin. Vaksin ini memiliki rute melalui mukosa tubuh

sehingga dapat meningkatkan sistem imun mukosa. Peningkatan sistem imun mukosa ini sangat berpengaruh pada kasus-kasus infeksi patogen yang berkolonisasi pada mukosa. Vaksin oral juga memberikan perlindungan lebih baik pada jaringan mukosa lokal (Zhu and Berzofsky, 2013). Hal ini tentu menjadi penting pada kasus infeksi virus SARS-CoV-2 yang ditransmisikan melalui jaringan mukosa yang juga merupakan komponen terbesar dari seluruh sistem imun tubuh (Russell *et al.*, 2020).

2.2.1. Mekanisme Kerja Vaksin Oral

Mekanisme kerja vaksinasi melalui rute oral diawali dengan masuknya partikulat yang mengandung vaksin ke dalam permukaan mukosa serta melintasi epitel. Untuk menembus epitel, vaksin harus menembus sel M dan enterosit. Sel M adalah sel epitel khusus yang sebagian besar berada di epitel terkait folikel dari *Peyer's patches*, yang banyak terdapat di distal usus halus. Antigen yang terkandung dalam vaksin akan ditangkap oleh sel M terutama melalui mekanisme transcytosis atau ditangkap oleh sel dendritik. Selanjutnya, enterosit mentransport antigen ke dalam jaringan limfoid terkait usus (Zhu and Berzofsky, 2013).

Imunitas mukosa memiliki peran penting dalam infeksi COVID-19 karena SARS-CoV-2 menginfeksi terutama melalui saluran hidung, mata diikuti dengan drainase ke saluran pernapasan atas, juga melalui mulut.

Antibodi IgA dan IgG merupakan imunitas yang berperan dalam infeksi COVID-19. Jaringan NALT menghasilkan sel B mukosa penghasil IgA yang menjadi rumah bagi berbagai situs efektor mukosa terpencil di mana mereka berdiferensiasi menjadi sel plasma yang mensekresi IgA polimer. Selain itu, sel B penghasil IgG sistemik juga diinduksi di tonsil dan

merupakan rumah bagi jaringan limfoid perifer tempat mereka berdiferensiasi dan mensekresi IgG untuk sirkulasi. Dalam ruang subepitel mukosa dan kelenjar terkait, sel plasma mukosa menghasilkan pIgA yang secara selektif diangkut ke dalam sekresi oleh jalur yang dimediasi reseptor imunoglobulin polimer, yang dilepaskan sebagai SIgA. Baik di saluran hidung dan saat turun ke trakea dan bronkus, virus menghadapi lingkungan yang didominasi SIgA, yang dihasilkan melalui sistem kekebalan mukosa dan mempertahankan lingkungan yang pada dasarnya non-inflamasi. Namun, begitu mencapai saluran napas terminal dan alveoli, ia memasuki lingkungan yang didominasi oleh IgG yang berasal dari sirkulasi (Russell *et al.*, 2020).

2.2.2. Perkembangan Jenis Vaksin COVID-19

2.2.2.1. Vaksin mRNA

Vaksin jenis ini dikembangkan oleh Pzifer-BioNTech dan Moderna. Vaksin ini menggunakan mRNA yang diformulasikan dengan lipid nanopartikel. Vaksin RNA termasuk dalam pendekatan mutakhir menggunakan RNA yang direkayasa secara genetik untuk menghasilkan protein sehingga memicu respons imun dengan aman. Vaksin berbasis mRNA memiliki potensi terbesar dalam perkembangan vaksinasi karena sifat sintesisnya tidak memerlukan kultur sel atau fermentasi virus. Karena potensinya yang tinggi, perkembangan yang cepat dan biaya yang rendah, vaksin mRNA menjadi strategi dalam pengembangan vaksinasi alternatif yang menjanjikan untuk berbagai penyakit menular dan kanker (Mascellino *et al.*, 2021).

Vaksin mRNA memiliki beberapa kelemahan antara lain ketidakstabilan mRNA sehubungan dengan DNA, mudah terdegradasi dan membutuhkan rantai dingin yang tinggi yaitu memerlukan suhu pendistribusian -70°C untuk Pfizer dan -20°C untuk Moderna. Penyimpanan vaksin dalam hal ini merupakan masalah bagi negara berpenghasilan rendah dan menengah. Namun demikian, dalam vaksin ini, tidak ada bahan pembantu atau pengawet yang digunakan karena vaksin distimulasi dengan sendirinya. Efek samping yang ditimbulkan setelah pemberian dosis pertama dan kedua vaksin hanya ada efek samping ringan atau minimal seperti rasa sakit di tempat suntikan, kemerahan, kelalahan, sakit kepala, nyeri otot, serta demam. Efek samping serius seperti sindrom *Guillain-Barre* dan reaksi anafilaksis sangat jarang ditemukan. Terkait dengan efikasi, Pfizer memiliki efektifitas dalam menangani gejala infeksi sebesar 94-96% setelah pemberian dua dosis, sedangkan Moderna memiliki efektifitas dalam menangani gejala infeksi sebesar 95% setelah pemberian dua dosis (Sadarangani *et al.*, 2021).

Mekanisme vaksin mRNA diawali dengan penyuntikan nanopartikel secara intramuskular ke dalam tubuh manusia dan setelah menempel pada sel inang, mRNA masuk ke dalam sitoplasma sedemikian rupa untuk mencapai ribosom dan menggunakannya untuk mensintesis protein *spike*. Proses ini disebut penerjemahan. Protein kemudian mencapai membran sel dan berkembang dalam dua jenis yaitu MHC-1 dan MHC-2. Kompleks

MHC-2 hanya ditemukan pada jenis sel tertentu seperti sel B, makrofag, dan sel dendritik. Kemudian diaktifkan oleh protein *spike* dan menstimulasi sel-sel sistem kekebalan tubuh. Secara khusus, sel T-helper (Th) yang memiliki jenis protein membran (TCR) tertentu yang mengikat protein *spike*. Protein lain yang disebut CD4 yang diproduksi oleh sel Th berinteraksi dengan kompleks MHC-2. Sel Th yang teraktivasi kuat mulai memproduksi sitokin seperti IL-2, IL-4 dan IL5. Interleukin ini menyebabkan sel B tubuh kita berdiferensiasi menjadi sel plasma yang mulai memproduksi sejumlah besar antibodi terhadap protein *spike*, yang mampu menetralkan atau menghancurkan virus (Mascellino *et al.*, 2021).

2.2.2.2. Vaksin Adenovirus

Astra-Zeneca merupakan vaksin yang menggunakan vektor virus (adenovirus) DNA simpanse yang dimodifikasi, yang belum terpapar pada populasi manusia dan tidak menghasilkan respons imun terhadap adenovirus itu sendiri, tetapi hanya terhadap protein virus yang dikodekan dalam DNA inang. Adenovirus simpanse disuntikkan ke manusia dan menempel pada sel inang, kemudian DNA akan dilepaskan ke dalam sitoplasma dan bermigrasi ke dalam inti sel, selanjutnya menggunakan enzim dalam sel inang untuk diubah menjadi mRNA yang bermigrasi kembali ke sitoplasma dan berinteraksi dengan ribosom menghasilkan protein. Kemudian protein diekspresikan pada membrane sel membentuk kompleks MHC1 dan MHC2 (Mascellino *et al.*, 2021).

Penyimpanan vaksin ini cukup mudah karena dapat disimpan pada lemari es (2-7°C). Efek samping Astra-Zeneca berupa efek samping ringan antara lain nyeri pada injeksi, kemerahan, myalgia, artralgia, dan sakit kepala. Efektivitas vaksin ini adalah sebesar 62-67% setelah pemberian dosis kedua. Kemanjuran vaksin lebih tinggi dengan pemberian interval prime-boost yang lebih lama, dan satu dosis vaksin berkhasiat selama 90 hari pertama (Mascellino *et al.*, 2021; Sadarangani *et al.*, 2021).

2.2.2.3. Vaksin Virus Inaktif

Sinovac atau Coronovac menggunakan virus yang tidak aktif sebagai antigen. Vaksin virus yang dilemahkan didasarkan pada bentuk virus yang telah dinonaktifkan atau dilemahkan sehingga tidak menimbulkan penyakit, tetapi masih mampu menimbulkan respon imun. Kemanjuran terhadap bentuk penyakit ringan atau sedang yang dideteksi oleh beberapa peneliti selama studi pendahuluan ditemukan sebesar 78%. Efektivitasnya saat ini adalah sekitar 65,9% untuk pencegahan Covid-19, 87,5% untuk pencegahan rawat inap, 90,3% untuk pencegahan penerimaan ICU, dan 86,3% untuk pencegahan kematian terkait COVID-19. Tidak ada efek samping serius yang dilaporkan dalam penggunaan vaksin Sinovac, nyeri di tempat suntikan merupakan gejala yang paling umum dilaporkan. Vaksin Sinovac memerlukan suhu penyimpanan yang tidak terlalu rendah yaitu 2-8°C (Mascellino *et al.*, 2021).

Vaksin yang tidak aktif menghadirkan beberapa kerugian seperti proses inaktivasi yang berpotensi merusak antigen sehingga

menyebabkan imunogenisitas suboptimal. Selain itu, vaksin inaktif juga memerlukan beberapa dosis tambahan untuk menghasilkan respon imun yang kuat. Untuk meningkatkan kapasitas vaksin ini dalam menginduksi imunitas, perlu penambahan adjuvant. Sinovac merupakan vaksin dengan kandungan alumunium sebagai adjuvant (Kyriakidis *et al.*, 2021).

2.2.2.4. Vaksin Subunit Protein

Novavax merupakan vaksin berbasis subunit protein. Vaksin ini dikembangkan menggunakan fragmen protein atau cangkang protein yang tidak berbahaya yang meniru COVID-19 untuk menghasilkan respon imun yang aman (Mascellino *et al.*, 2021). Pengembangan vaksin subunit didasarkan pada pengamatan bahwa tidak perlu memberikan seluruh pathogen untuk memperoleh respon imun yang kuat, namun hanya fragmen yang imunogenik. Vaksin subunit protein dihasilkan melalui sintesis rekombinan protein antigen atau isolasi dan pemurnian protein setelah menumbuhkan patogen dalam jumlah besar (Kyriakidis *et al.*, 2021).

Strategi vaksin subunit ini menghilangkan kemungkinan efek samping yang parah, tetapi sering meningkatkan kebutuhan untuk meningkatkan dosis booster dan mengoptimalkan adjuvant yang ditambahkan untuk mencapai imunisasi yang lebih kuat dan lebih tahan lama. Vaksin ini mengandung adjuvant saponin sehingga diharapkan akan memperkuat respon imun pada manusia. Efektifitas Novavax mencapai 90% dalam 7 hari setelah dosis kedua (Sadarangani *et al.*, 2021).

2.3 Bakteri *Lactococcus lactis*

Bakteri *Lactococcus lactis* merupakan bakteri gram positif dari golongan Bakteri Asam Laktat (BAL). BAL dikenal sebagai bakteri probiotik karena dapat memberikan manfaat pada inangnya. *Lactococcus lactis* diklasifikasikan sebagai mikroorganisme *generally regarded as safe* (GRAS) dan telah lama digunakan dalam industri pangan untuk pembuatan produk susu fermentasi seperti keju dan *yoghurt* (Yurina, 2018).

Bakteri *Lactococcus lactis* dapat memicu respon imun karena sifat probiotiknya dan kapasitasnya untuk menginduksi sistem kekebalan tubuh. Keuntungan menggunakan bakteri *Lactococcus lactis* sebagai vector vaksin yaitu karena bakteri ini dapat meningkatkan respon imun terhadap patogen dengan cara menghambat kolonisasi patogen di saluran gastrointestinal. *Lactococcus lactis* juga resisten terhadap kondisi asam dalam sistem gastrointestinal dan mampu mengantarkan vaksin ke area usus. Selain itu, *Lactococcus lactis* adalah BAL yang paling banyak dipelajari karena genomnya mudah dimanipulasi serta dapat meningkatkan sistem kekebalan mukosa dengan mengaktifkan sel plasma, mendorong sekresi imunoglobulin A (IgA) dan migrasi sel T. Karakteristik tersebut menjadikan *Lactococcus lactis* cocok menjadi pembawa vaksin untuk imunisasi melalui rute oral (Yurina, 2018).

Penelitian yang dilakukan oleh Cao *et al.*, (2020a) menggunakan strain bakteri *Lactococcus lactis* NZ3900 pNZ8149 dengan ekspresi protein rekombinan manusia FGF21 yang diberikan pada tikus Db/Db (diabetes), terbukti dapat menurunkan berat badan tikus diabetes secara signifikan dan meningkatkan aktivitas *brown adipose tissue* sehingga *Lactococcus*

Lactis NZ3900 pNZ8149 FGF21 ini dianggap efisien dalam melawan obesitas sehingga memberikan pendekatan terapi baru untuk meningkatkan status obesitas tipe 2.

Dalam penelitian lain pengobatan vaksinasi jalur oral menggunakan *Lactococcus lactis* rekombinan yang membawa spike-protein VP8 rotavirus dapat menginduksi respon imun IgG sistemik dan meningkatkan antibodi IgA usus (Azizpour *et al.*, 2017). Vaksinasi menggunakan vaksin mukosal LAB sangat potensial dibandingkan dengan vaksin injeksi karena memiliki kemampuan untuk menginduksi respon imun sistemik dan mukosa dalam sel inang, serta dapat diaplikasikan dengan mudah.

2.4 Susu Fermentasi

Susu fermentasi dihasilkan dari susu yang mengalami perubahan kimia, sensorik, dan mikrobiologi karena proses fermentasi oleh bakteri asam laktat seperti *Lactobacillus*, *Lactococcus*, dan *Leuconostoc*. Kemampuan bakteri asam laktat dapat menghambat pertumbuhan mikroba patogen dan berfungsi sebagai probiotik yang akan menekan efek samping dan toksisitas (Šušćković *et al.*, 2010). Susu fermentasi memiliki manfaat bagi kesehatan seperti mengurangi kolesterol darah, mencegah beberapa penyakit seperti infeksi saluran pernafasan dan pencernaan, serta meningkatkan metabolisme glukosa yang terkait dengan proteksi terhadap penyakit obesitas dan diabetes melitus tipe 2 (Meybodi *et al.*, 2020). Menurut SNI-2981-2009 tentang syarat mutu soyghurt, syarat-syarat dalam pembuatan susu fermentasi dengan kualitas yang baik adalah mengandung asam laktat sekitar 0,5-2,0%. Pertumbuhan bakteri asam laktat pada proses fermentasi dipengaruhi oleh beberapa hal antara lain

nutrisi, temperatur, kelembaban, oksigen, pH dan substansi penghambat (Marin *et al.*, 2016).

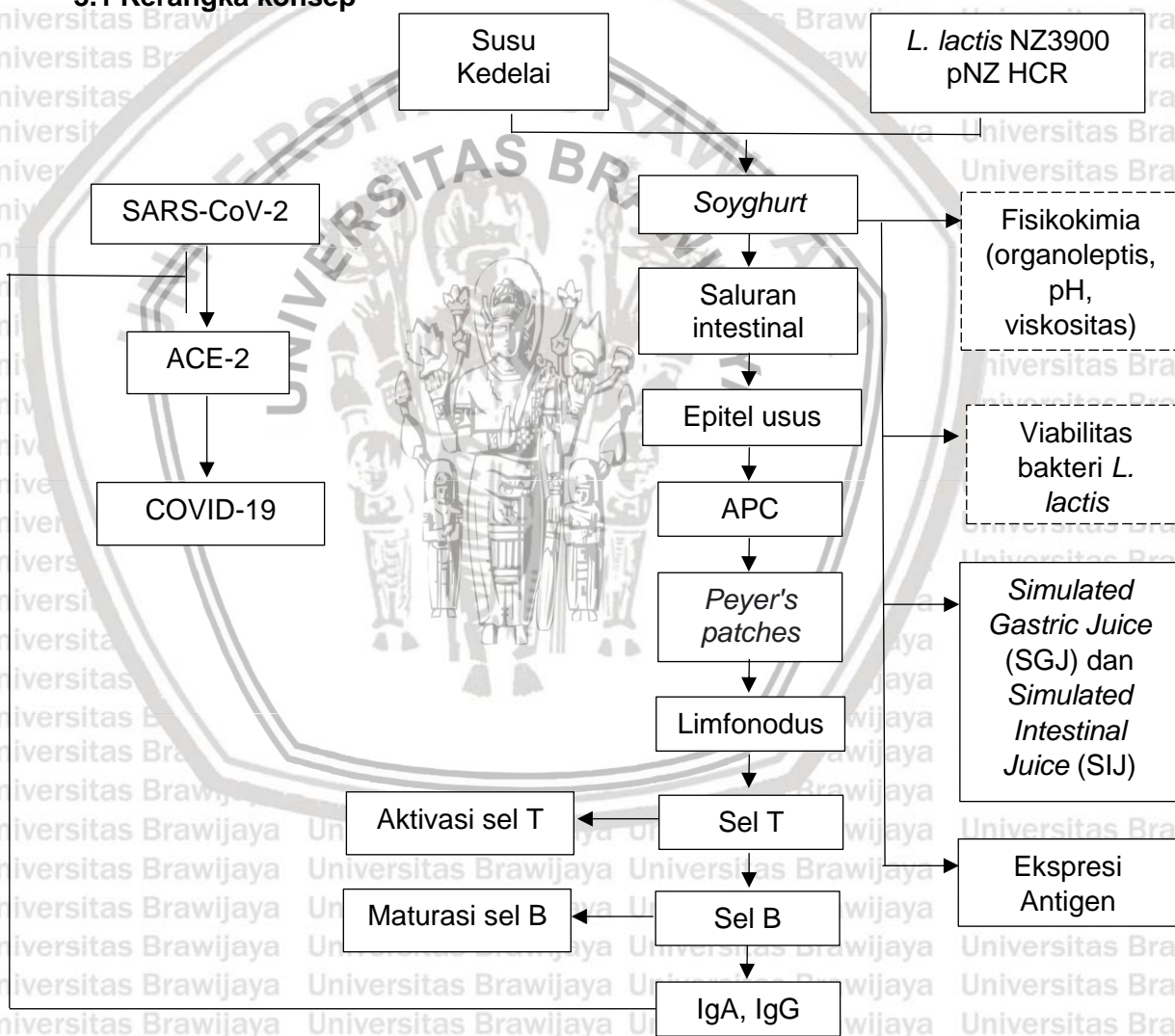
Dalam pengembangan susu fermentasi, telah diketahui bahwa susu kedelai merupakan salah satu bahan fermentasi yang sangat menjanjikan akan tingginya protein dan juga kandungan fitokimia yang lain. Selain itu, susu kedelai juga telah diketahui memiliki manfaat dalam pencegahan penyakit kronik (Joel, James and Blessing, 2019). Baik susu kedelai nonfermentasi ataupun susu kedelai fermentasi telah diketahui memiliki kandungan laktosa yang sangat rendah sehingga produk dari kedelai ini ramah pada masyarakat yang mengalami intoleransi pada laktosa (Gamba *et al.*, 2020).



BAB 3

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka konsep



Gambar 3. 1 Kerangka Konsep Penelitian

Keterangan:

- : menghambat
- : variabel variabel yang tidak diteliti
- : variable yang diteliti

Virus SARS-CoV-2 dapat menyebabkan infeksi COVID-19 melalui interaksinya dengan reseptor ACE-2. *Lactococcus lactis* merupakan bakteri probiotik yang telah lama digunakan dalam industri pangan untuk pembuatan produk susu fermentasi seperti keju dan *yoghurt*. Bakteri *Lactococcus lactis* dapat digunakan sebagai vector vaksin karena bakteri ini dapat meningkatkan respon imun terhadap patogen dengan cara menghambat kolonisasi patogen di saluran gastrointestinal. *Lactococcus lactis* juga resisten terhadap kondisi asam dalam sistem gastrointestinal dan mampu mengantarkan vaksin ke area usus. Selain itu, *Lactococcus lactis* adalah BAL yang paling banyak dipelajari karena genomnya mudah dimanipulasi serta dapat meningkatkan sistem kekebalan mukosa dengan mengaktifkan sel plasma, mendorong sekresi imunoglobulin A (IgA) dan migrasi sel T. Karakteristik tersebut menjadikan *Lactococcus lactis* cocok menjadi pembawa vaksin untuk imunisasi melalui rute oral (Yurina, 2018). Mekanisme vaksin rute oral dalam pencegahan COVID -19 diawali dengan masuknya produk vaksin ke saluran cerna, kemudian *Lactococcus lactis* yang dapat bertahan hidup oleh asam lambung akan mencapai usus, setelah itu bakteri akan pecah dan antigen yang dibawa bakteri akan masuk ke dalam epitel usus, antigen yang masuk akan diterima oleh sel-sel penerima antigen (sel dendritik dan sel M) dan dibawa ke kelenjar limfa lokal, dari kelenjar limfa lokal dibawa ke kelenjar limfa yang lebih besar sehingga dapat diterima sel B sehingga terbentuk IgA dan IgG, dimana Immunoglobulin ini akan membentuk sistem imun mukosal pada mukosa di tubuh (Zhu and Berzofsky, 2013). Sel T independent IgA *class-switch recombination* (CSR) terjadi pada sel B1, terutama sel B1b dan sel B2

ektrafolikular dari GALT, di mana IgA homeostatic secara konstitutif diproduksi oleh stimulasi dengan bakteri komensal. Dalam konteks ini, CD103+ cDC2 menangkap bakteri komensal ke propria usus melalui transcytosis oleh sel M dan sel goblet dan pengambilan langsung oleh makrofag sehingga menyebabkan sintesis IgA. Secara umum, produksi sel T independent IgA sebagian besar dimediasi oleh sel B1b (Tezuka and Ohteki, 2019). Pengembangan vaksin rute oral menggunakan bakteri *Lactococcus lactis* dalam bentuk *soyghurt* dilakukan dengan menyisipkan antigen protein *spike* domain HCR yang sebelumnya telah dimodifikasi kemudian ditransformasikan ke dalam *Lactococcus lactis*. Diharapkan bakteri *Lactococcus lactis* tersebut mampu mengekspresikan antigen protein *spike* sehingga mampu menginduksi respon imun dalam mencegah terjadinya infeksi COVID-19. Vaksin yang dikembangkan adalah vaksin oral dalam bentuk *soyghurt*. Vaksin oral memiliki rute melalui mukosa tubuh sehingga dapat meningkatkan sistem imun mukosa. Peningkatan sistem imun mukosa ini sangat bermanfaat pada infeksi COVID-19 dimana proses inisiasi infeksi terjadi pada mukosal tubuh. Uji viabilitas bakteri *Lactococcus lactis* selama masa penyimpanan 14 hari diperlukan dalam mengevaluasi ketahanan hidup bakteri *Lactococcus lactis* selama masa penyimpanan tersebut.

3.2 Hipotesis Penelitian

Vaksin oral COVID-19 menggunakan bakteri *Lactococcus lactis* rekombinan berbasis *soyghurt* mampu bertahan hidup dengan baik pada masa uji simpan selama 14 hari, ditunjukkan oleh penurunan jumlah koloni bakteri yang tidak signifikan.

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilakukan menggunakan desain eksperimen murni (*true experimental design*) dengan menggunakan sampel *soyghurt* 10% dan 20%.

4.2 Subjek Penelitian

Subjek yang digunakan dalam penelitian adalah susu kedelai fermentasi (*soyghurt*) yang mengandung bakteri *Lactococcus lactis* NZ3900 rekombinan pNZ8149 HCR dengan konsentrasi 10% dan 20%. Bakteri *Lactococcus lactis* rekombinan didapatkan dari Laboratorium Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

4.3 Variabel Penelitian

4.3.1. Variabel Bebas

Variabel bebas yang digunakan pada penelitian ini adalah bakteri *Lactococcus lactis* konsentrasi 10% dan 20%.

4.3.2. Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah jumlah bakteri *Lactococcus lactis*.

4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian

4.4.1. Lokasi Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

4.4.2. Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Juni - Agustus 2021.

4.5 Bahan dan Alat Penelitian

4.5.1. Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam proses fermentasi adalah bakteri *Lactococcus lactis* strain NZ3900 dengan plasmid rekombinan pNZ8149 yang diperoleh dari Laboratorium Farmasi Universitas Brawijaya, M17 Broth, Water for Injection (WFI), Lactose 20%, Glucose 20%, Aquadest, Alkohol 70%, Larutan nisin 40 ng/ml, susu kedelai yang diperoleh dari produk Lactasoy dari *Lactasoy Company Limited*.

4.5.2. Alat atau Instrumen Penelitian

Alat atau instrument yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat-alat gelas, oven, *hotplate*, spektrofotometer UV, sentrifuge makro, autoklaf, *laminar air flow* (LAF), kulkas 4°C dan viscometer Brookfield.

4.6 Definisi Operasional

4.6.1. *Lactococcus lactis* Rekombinan

Lactococcus lactis rekombinan pada penelitian ini adalah *Lactococcus lactis* strain NZ3900 yang telah disisipkan suatu gen pengkode protein *spike* domain HCR dalam plasmid pNZ8149. *Lactococcus lactis* rekombinan didapatkan dari Laboratorium Farmasi Universitas Brawijaya.

4.6.2. Uji Viabilitas Bakteri

Uji viabilitas bakteri merupakan perhitungan jumlah bakteri *Lactococcus lactis* setelah dilakukan proses fermentasi. Uji viabilitas bakteri dilakukan selama masa penyimpanan 14 hari.

4.7 Prosedur Penelitian

4.7.1. Pembuatan Starter *Lactococcus lactis*

4.7.1.1 Tanam Starter

4.7.1.1.1 Pembuatan Media Cair M17 Broth

1. Beaker glass 50 ml dikalibrasi 5 ml, dan beaker glass 250 ml dikalibrasi 150 ml.
2. Ditimbang M17B sebanyak 0,21125 g dan 6,3375 g.
3. Dimasukkan M17B 0,21125 g ke dalam beaker glass 50 ml lalu ditambahkan WFI ad tanda batas dan dihomogenkan. Kemudian dimasukkan ke dalam falkon 15 ml.
4. Dimasukkan M17B 6,3375 g ke dalam beaker glass 250 ml lalu ditambahkan WFI ad tanda batas dan dihomogenkan.
5. Larutan media cair M17B di dalam beaker glass 250 ml dibagi ke 3 falkon 50 ml.
6. Semua falcon, alat, dan bahan disterilkan dengan autoklaf pada T: 121°C selama 15 menit.
7. Falcon dikeluarkan dari autoklaf.
8. Diambil falcon 15 ml untuk penanaman starter.
9. Falcon 50 ml @3 dimasukkan ke dalam kulkas 4°C.

4.7.1.1.2 Tanam Starter

1. Diambil falcon 15 ml.
1. Ditambahkan 20% lactose ke dalam falcon sebanyak 125 μ L.
2. Diambil koloni HCR sebanyak 50 μ l dimasukkan ke dalam falcon 15 ml.
3. Dihomogenkan.
4. Starter diinkubasi dalam oven dengan T: 30°C selama 18-24 jam.

4.7.1.2 Induksi Nisin

1. Diambil hasil tanam starter sebanyak 1500 μ l.
2. Starter ditambahkan ke dalam media dilusi yaitu falcon 50 ml @3.
3. Ditambahkan 20% lactose untuk HCR ke dalam falcon media dilusi sebanyak 1250 μ l.
4. Diambil 1000 μ l (1 ml) dari media dilusi untuk diukur OD600 awal sebelum diinkubasi.
5. Diambil 1000 μ l (1 ml) lactose 20% sebagai blanko dalam pengukuran OD600.
6. Media dilusi diinkubasi dalam oven (T: 30°C).
7. Dilakukan pengulangan pengukuran dan inkubasi hingga didapatkan OD600 = 0,8 atau hingga absorbansinya 0,8.
8. Ditambahkan nisin 0,04 μ l/ml sebanyak sesuai dengan perhitungan menggunakan rumus berikut.

$$100 \mu\text{g/ml} \times V1 = 0,04 \mu\text{g/ml} \times (\text{sis volume dilusi}).$$

9. Media dilusi diinkubasi dalam oven pada T: 30°C selama 18-24 jam.

4.7.2. Fermentasi Susu Kedelai

4.7.2.1 Pengukuran OD akhir

1. Menyiapkan untuk pengukuran OD akhir (kuvet, aquadest, alcohol 70%, lactose 20%, media dilusi).
2. Diambil 1000 μl (1 ml) dari masing-masing media dilusi.
3. Diukur OD600 menggunakan spektrofotometer.
4. Jika OD600 sudah mencapai ~ 1 , media dilusi di dalam falkon 50 ml dipindahkan ke dalam falkon 15 ml. Masing-masing dipindahkan ke 4 falkon 15 ml.
5. Dilakukan sentrifuge menggunakan sentrige makro.
6. Supernatan dibuang, pellet diresuspensi dengan aquadest.

4.7.2.2 Proses Fermentasi

1. Susu kedelai direbus pada suhu 70-80°C selama 30 menit lalu didinginkan hingga suhu 37-40°C.
2. Diinokulasikan starter bakteri *Lactococcus lactis* HCR konsentrasi 10% dan 20%.
3. Difermentasi dalam oven dengan suhu 37°C selama 18-24 jam.

4.7.3. Uji Fisikokimia

4.7.3.1 Uji Organoleptis

1. *Soyghurt* ditambahkan ke gelas plastic untuk dilakukan pengamatan organoleptis warna dan tekstur.
2. Dilakukan pengamatan organoleptis sesuai skala yang ditentukan.

4.7.3.2 Uji pH

1. Uji pH dilakukan dengan kertas indikator universal.
2. Masing-masing sampel *soyghurt* diteteskan pada kertas indikator universal dan pH dapat ditentukan.

4.7.3.3 Uji Viskositas

Uji viskositas dilakukan dengan menggunakan *viscometer Brookfield* dengan spindle nomor 1.

4.7.4. Uji Viabilitas Bakteri

4.7.4.1 Pembuatan media padat

1. Beaker glass 500 ml dikalibrasi 250 ml.
2. Ditimbang M17 10, 5625 g pada beaker glass 250 ml.
3. Ditimbang Agar 3,75 g pada beaker glass 100 ml.
4. (2) dilarutkan WFI ad tanda batas.
5. Ditambahkan Agar.
6. Dipanaskan dengan hotplate sampai larut.
7. Dipindahkan ke Erlenmeyer 500 ml dan ditutup dengan alumunium foil.
8. Disterilkan dengan autoklaf pada T: 121°C selama 15 menit.

9. Setelah disterilisasi, media dalam Erlenmeyer diletakkan di LAF.
10. Diambil lactose 20% sebanyak 6,25 ml.
11. Ditambahkan ke Erlenmeyer lalu dihomogenkan.
12. Dituang ke dalam cawan petri dan ditunggu hingga memadat.
13. Disimpan di dalam kulkas 4°C.

4.7.4.2 Uji Viabilitas Bakteri

1. Sebanyak 6 falkon yang sudah diberi label diisi dengan WFI 9000 µl.
2. Dibuat serial pengenceran dari 10^1 - 10^6 dengan mengambil sampel *soyghurt* konsentrasi 10% sebanyak 1000 µl.
3. Pengenceran 10^2 , 10^4 , 10^6 diambil 100 µl dan diletakkan di plate (media padat) dan dispread. Dilakukan replikasi sebanyak 3x.
4. Diletakkan di dalam oven dengan suhu 30°C selama 18-24 jam.

4.8 Analisis Data

Data diambil dari hasil perhitungan *colony counter*. Kemudian pengolahan data hasil penelitian secara kuantitatif dianalisis secara komputerisasi menggunakan *Software Statistical Product and Service Solution 25 (SPSS 25)* for Windows dengan tingkat signifikansi atau nilai probabilitas 0,05 ($p = 0,05$) dan taraf kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$).

BAB 5

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Hasil Penelitian

Pengujian organoleptik dilakukan pada sampel *soyghurt* dengan konsentrasi 10% dan 20% setelah dilakukan fermentasi selama 18-24 jam.

Parameter organoleptik yang digunakan adalah warna dan tekstur. Hasil menunjukkan bahwa kedua sampel, baik konsentrasi 10% maupun 20% memiliki tekstur kental dan berwarna *cream*.



Gambar 5. 1 Hasil Fermentasi *Soyghurt*

Pengujian pH dilakukan menggunakan pH indicator universal pada sampel yang dilakukan penyimpanan 0-14 hari. Berdasarkan Tabel 5.1, pH *soyghurt* dengan konsentrasi 10% pada hari ke-0 hingga hari ke-14 memiliki pH yang sama yaitu pada rentang pH 4-5. Hal serupa juga terjadi pada konsentrasi 20%.

Tabel 5. 1 Hasil Uji pH dan Viskositas pada Sampel Selama Penyimpanan

Pengujian	Konsentrasi	Hari ke-			
		0	7	10	14
pH	10%	4-5	4-5	4-5	4-5
	20%	4-5	4-5	4-5	4-5
Viskositas	10%	4 dPa	3 dPa	4 dPa	3 dPa
	20%	5 dPa	3 dPa	5 dPa	5 dPa

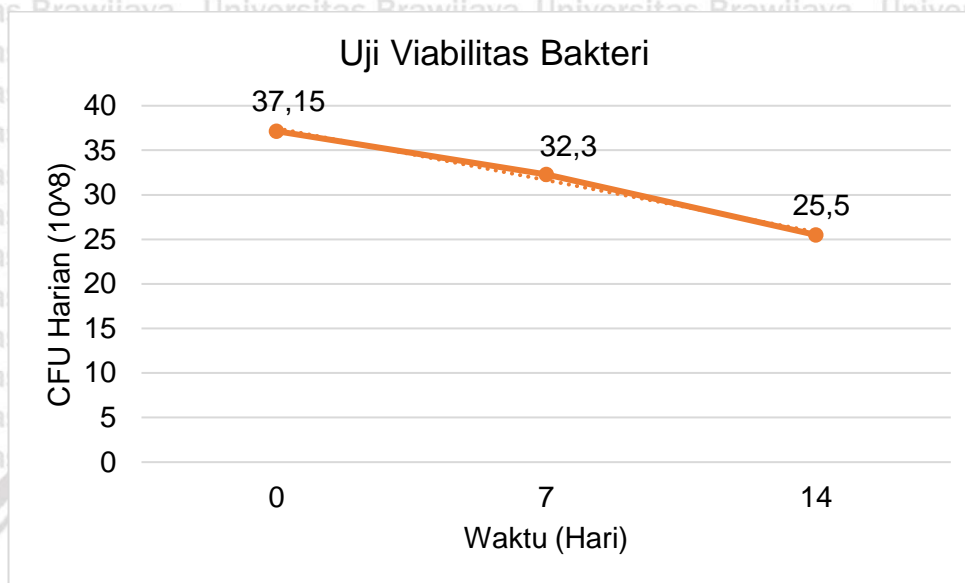
Berdasarkan Tabel 5.1, viskositas *soyghurt* dengan konsentrasi 10% selama penyimpanan berada pada kisaran 3-4 dPa, sedangkan viskositas *soyghurt* dengan konsentrasi 20%, berada pada kisaran 3-5 dPa. Viskositas pada konsentrasi 20% sedikit lebih tinggi daripada konsentrasi 10%.

Hasil uji menunjukkan bahwa terdapat pertumbuhan bakteri *Lactococcus lactis* pada *soyghurt*. Pada penelitian ini diperoleh data total koloni bakteri (CFU/ ml) selama masa penyimpanan 14 hari yaitu pada hari ke 0,7 dan 14 seperti yang tercantum pada Tabel 5.2 berikut:

Tabel 5. 2 Data Uji Viabilitas Bakteri L.lactis di dalam Soyghurt Selama Penyimpanan

Hari ke-	Tingkat Dilusi	Jumlah Koloni	Jumlah Koloni (CFU/ml)	Rerata	CFU Harian
0	10 ⁶	388	3880	3715.10 ⁶	3715.10 ⁶
		TBUD	TBUD		
		355	3550		
7	10 ⁶	107	1070	486,67.10 ⁶	323,33.10 ⁷
		20	200		
		19	190		
	10 ⁷	13	130	323,33.10 ⁷	
		67	670		
		17	170		
14	10 ⁶	21	210	260.10 ⁶	255.10 ⁷
		15	150		
		42	420		
	10 ⁷	13	130	255.10 ⁷	
		38	380		
		TBUD	TBUD		

Keterangan: TBUD (Terlalu banyak untuk dihitung)



Gambar 5. 2 Perbandingan Rerata Jumlah Koloni Selama Periode Penyimpanan

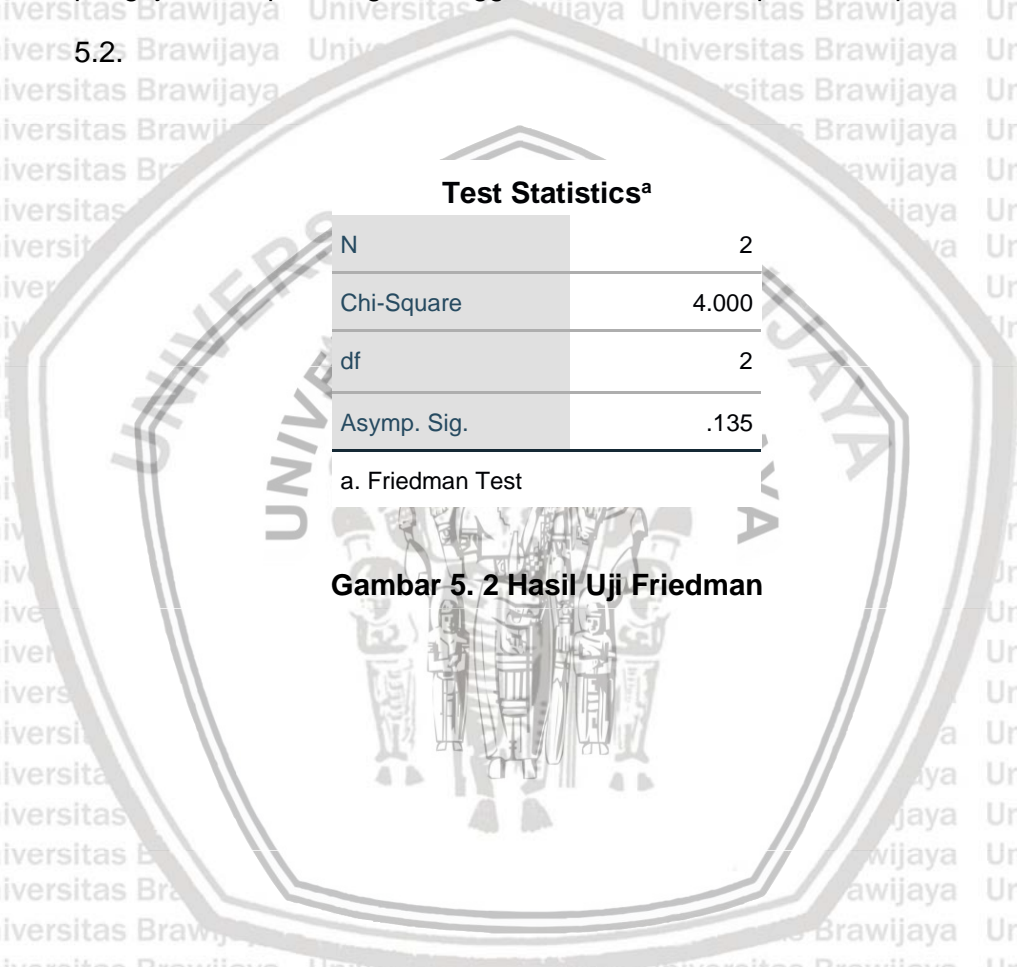
Dari Gambar 5.2 dapat dilihat bahwa rerata jumlah koloni berturut-turut dari hari ke-0, 7, dan 14 yaitu $37,15 \cdot 10^8$ CFU/ml; $32,3 \cdot 10^8$ CFU/ml; dan $25,5 \cdot 10^8$ CFU/ml. Data tertinggi terdapat pada jumlah koloni pada hari ke-0 kemudian menurun pada hari ke-7 hingga hari ke-14.

5.2 Analisis Data

Data jumlah koloni selama periode penyimpanan kemudian diolah secara komputerisasi. Pengolahan data secara statistik awalnya digunakan Uji *Repeated ANOVA* karena variabel yang digunakan berpasangan dan terdapat >2 kelompok. Namun berdasarkan hasil uji normalitas menunjukkan bahwa data tidak terdistribusi normal ($p < 0,05$) sehingga dilakukan uji *Friedman*. Uji *Friedman* dilakukan untuk menunjukkan apakah ada signifikansi antara jumlah total koloni bakteri dari awal pengujian yakni sebelum penyimpanan hingga pada 2 minggu periode penyimpanan. Hasil uji *Friedman* dengan nilai *Asymp. Sig.* > 0,05 menunjukkan bahwa tidak terjadi perubahan jumlah bakteri yang

signifikan dari awal pengujian sampai dengan minggu kedua. Kemudian berdasarkan nilai Chi-Square Hitung < Chi-Square Tabel, menunjukkan bahwa tidak terjadi perubahan jumlah bakteri yang signifikan dari awal pengujian sampai dengan minggu kedua. Hal ini dapat dilihat pada Gambar

5.2.



Gambar 5. 2 Hasil Uji Friedman

BAB 6

PEMBAHASAN

6.1 Pembahasan

Pengujian organoleptik pada *soyghurt* dengan parameter warna dan tekstur, hal ini telah sesuai dengan standar SNI-2981-2009 dimana *soyghurt* yang baik memiliki tekstur kental, sehingga dari pengujian organoleptik, *soyghurt* tersebut telah memenuhi kriteria SNI. Sifat sensori produk pangan seperti warna dan tekstur merupakan hal yang penting dan menjadi factor penentu mutu karena dapat mempengaruhi penerimaan konsumen. Bahan baku utama dalam pembuatan *soyghurt* adalah susu kedelai. Hal ini menyebabkan warna pada *soyghurt* menunjukkan warna putih kekuningan (*cream*) seperti warna pada susu kedelai. Warna putih kekuningan (*cream*) juga disebabkan karena kandungan dari vitamin B2 (riboflavin) pada susu sehingga warna lemak pada susu menjadi kekuningan (Handayani and Wulandari, 2016).

Tekstur kental yang terbentuk pada *soyghurt* disebabkan oleh protein yang menggumpal karena terjadi akumulasi asam akibat terbentuknya asam laktat oleh bakteri *Lactococcus lactis* saat proses fermentasi (Handayani and Wulandari, 2016). Hasil pengujian viskositas *soyghurt* menunjukkan hasil yang relatif stabil seiring dengan masa penyimpanan. Peningkatan dan penurunan viskositas dipengaruhi oleh kandungan-kandungan yang ada pada sampel seperti gula dan makromolekul lain yang berinteraksi (Trisnawati et

al., 2013). Perubahan viskositas terjadi seiring dengan lamanya waktu penyimpanan.

Pada uji pH yang telah dilakukan, pH *soyghurt* dengan konsentrasi 10% bersifat asam dan stabil hingga penyimpanan selama 14 hari. Hal serupa juga terjadi pada konsentrasi 20%. Dengan kata lain, konsentrasi 10% dan 20% memiliki pH asam yang sama dan cenderung stabil hingga penyimpanan hari ke-14. Menurut *The Australian Food Standart Code*, pH *soyghurt* yang baik yaitu tidak lebih dari 4,5, karena dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen, sehingga baik untuk dikonsumsi. Nilai pH merupakan indikator untuk mengontrol pertumbuhan mikroba. Penurunan nilai pH disebabkan oleh terbentuknya asam laktat sebagai aktivitas mikroorganisme pada awal penyimpanan. Pada umumnya, bakteri asam laktat menghasilkan sejumlah besar asam laktat dari fermentasi substrat energi karbohidrat. Asam laktat yang dihasilkan dari metabolisme karbohidrat dapat menurunkan nilai pH lingkungan pertumbuhannya dan menimbulkan rasa asam (Ihsan *et al.*, 2017).

Lamanya waktu penyimpanan juga berpengaruh terhadap kondisi keasaman pada *soyghurt*. Semakin lama waktu penyimpanan, maka total asam laktat pada *soyghurt* akan mengalami peningkatan sehingga dapat menurunkan pH. Pada studi yang dilakukan oleh Ihsan *et al.*, (2017), nilai pH *yoghurt* pada penyimpanan kulkas 4°C cenderung stabil dengan nilai antara 4 hingga 5. Hal ini disebabkan karena penyimpanan pada suhu dingin dapat mencegah pembentukan asam yang berkelanjutan dan menghambat aktivitas kultur laktat.

Sedangkan pada studi yang dilakukan oleh Layadi *et al.*, (2017), formulasi susu kedelai fermentasi (*soyghurt*) dengan menggunakan bakteri *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* dengan waktu fermentasi selama 14 jam dan penyimpanan dalam lemari es selama 12 hari, terjadi penurunan pH seiring dengan lama penyimpanan kemudian pada waktu simpan hari ke-11 dan ke-12, konsentrasi asam laktat tidak mengalami perubahan yang signifikan dan cenderung konstan. Hal ini dikarenakan semakin sedikit jumlah asam laktat yang dihasilkan akibat jumlah bakteri yang mengalami penurunan. Didukung juga dengan pH yang cenderung konstan.

Bakteri *Lactococcus lactis* rekombinan di dalam *soyghurt* berhasil bertahan hidup selama penyimpanan 14 hari pada suhu 4°C. Pengujian viabilitas atau jumlah bakteri penting dilakukan untuk mengetahui ketahanan bakteri *Lactococcus lactis* sebagai vector vaksin selama masa penyimpanan. Jumlah bakteri asam laktat yang masih termasuk dalam batasan kandungan probiotik yang dianjurkan dalam standar produk probiotik yaitu 10^5 - 10^9 koloni/ ml (Diza *et al.*, 2016). Pada pengujian viabilitas, masih terdapat bakteri yang hidup pada akhir periode penyimpanan yaitu pada hari ke-14 sebesar $25 \cdot 10^8$ CFU/ml dimana masih masuk ke dalam rentang standar produk probiotik menurut standar SNI-2981-2009 dimana jumlah bakteri starter harus memiliki minimal 10^7 CFU/ml.

Penelitian yang dilakukan oleh Layadi *et al.*, (2017), juga terdapat penurunan dari jumlah koloni bakteri seiring dengan lama penyimpanan.

Semakin bertambahnya waktu simpan dari *soyghurt*, jumlah nutrisi akan semakin berkurang, sehingga jumlah bakteri asam laktat pun akan mengalami

penurunan. Pertumbuhan dari bakteri asam laktat biasanya menjadi terhambat karena tingginya keasaman yoghurt (Ihsan *et al.*, 2017).

Analisis statistic menunjukkan bahwa tidak adanya perbedaan bermakna atau penurunan yang signifikan jumlah bakteri dari awal pengujian sampai dengan minggu kedua. Hal ini menunjukkan bahwa pada periode penyimpanan tersebut, bakteri masih dapat bertahan hidup dengan jumlah yang juga masih termasuk dalam batasan standar produk probiotik. Pada penelitian yang dilakukan oleh Layadi *et al.*, (2017), jumlah koloni bakteri setelah fermentasi meningkat hingga mulai menurun pada hari ke-8 penyimpanan dan terus menurun hingga hari ke-12. Dari pengujian tersebut, dapat diperkirakan bahwa *soyghurt* dapat menghantarkan vaksin *Lactococcus lactis* rekombinan selama waktu penyimpanan 14 hari.

6.2 Implikasi Terhadap Bidang Kefarmasian

Penelitian ini dapat digunakan sebagai dasar dalam pengujian vaksin oral menggunakan vector bakteri hidup. *Lactococcus lactis* merupakan bakteri asam laktat yang umum digunakan dalam pembuatan produk fermentasi seperti susu dan keju. Diharapkan dengan adanya vaksin oral dalam bentuk susu fermentasi, maka akan lebih mudah dalam penggunaan vaksin dan tidak memerlukan jarum suntik, serta mempermudah dalam proses pendistribusian karena tidak memerlukan suhu yang sangat rendah seperti pada vaksin injeksi. Namun perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk memastikan keamanan dan efektivitas dari vaksin *Lactococcus lactis* rekombinan dalam bentuk *soyghurt*.

6.3 Keterbatasan Penelitian

Beberapa keterbatasan dalam penelitian ini yakni:

1. Tidak dilakukan pengujian Total Asam Tertitrasi (TAT) karena keterbatasan waktu penelitian yang dilakukan. Pengujian TAT penting dilakukan untuk mengetahui nilai asam laktat yang terbentuk akibat fermentasi laktosa oleh bakteri asam laktat.
2. Tidak dilakukan pengujian pada *soyghurt* konsentrasi 20% untuk melihat perbandingan dari kedua konsentrasi.



BAB 7

PENUTUP

7.1 Kesimpulan

Kesimpulan yang diperoleh dari penelitian ini adalah vaksin oral COVID-19 menggunakan bakteri *Lactococcus lactis* rekombinan berbasis *soyghurt* mampu bertahan hidup dengan baik selama 14 hari dibuktikan dari uji viabilitas bakteri yang telah dilakukan.

7.2 Saran

Saran yang dapat diberikan pada peneliti yakni:

1. Perlu dilakukan uji viabilitas dengan periode yang lebih lama agar mengetahui *survival rate* dari bakteri *Lactococcus lactis* atau batas dimana *soyghurt* memiliki kandungan bakteri *Lactococcus lactis* di bawah rentang minimal standar yang dipersyaratkan.
2. Perlu dilakukan uji ekspresi kadar antigen untuk memastikan bahwa *soyghurt* yang dikembangkan sudah mengeskpresikan antigen protein *spike*.

DAFTAR PUSTAKA

- Astuti, I. and Ysrafil. Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 vaccines: Setting expectations appropriately, *Pediatric Infectious Disease Journal*, 2020, pp. E123–E124. doi: 10.1097/INF.0000000000002741.
- Azizpour, M. *et al.* Lactococcus lactis: A new strategy for vaccination', *Avicenna Journal of Medical Biotechnology*, 2017, 9(4), pp. 163–168.
- Badan Pusat Statistik. 2021. Data Kasus Virus Corona. URL: <https://covid-19.bps.go.id/>. Diakses tanggal 26 November 2021.
- Casella M, Rajnik M, Aleem A, et al. Features, Evaluation, and Treatment of Coronavirus (COVID-19). In: StatPearls [Internet]. *Treasure Island (FL): StatPearls Publishing*; 2021 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK554776/>
- Cao, W.Y. *et al.* Recombinant *Lactococcus lactis* NZ3900 expressing bioactive human FGF21 reduced body weight of Dd/Db mice through the activity of brown adipose tissue, *Beneficial Microbes*, 2020a, pp. 67–78. doi: 10.3920/BM2019.0093.
- Cao, X. COVID-19: immunopathology and its implications for therapy, *Nature Reviews Immunology*, 2020b, 20(5), pp. 269–270. doi: 10.1038/s41577-020-0308-3.
- Diza, Y. H., Wahyuningsih, T. and Hermianti, W. Penentuan Jumlah Bakteri Asam Laktat (BAL) dan Cemaran Mikroba Patogen Pada Yoghurt Bengkuang Selama Penyimpanan, *Jurnal Litbang Industri*, 2016, 6(1), p. 1. doi: 10.24960/jli.v6i1.891.1-11.

El-Manzalawy, Y. and Honavar, V. Recent advances in B-cell epitope prediction methods, *Immunome Research*, 6(SUPPL. 2), 2010, p. 52. doi: 10.1186/1745-7580-6-S2-S2.

Elliot, J. et al. Predictive symptoms for COVID-19 in the community: REACT-1 study of over 1 million people, *PLoS Medicine*, 2021, 18(9), pp. 1–14. doi: 10.1371/journal.pmed.1003777.

Gamba, R. R. et al. Chemical, Microbiological, and Functional Characterization of Kefir Produced from Cow's Milk and Soy Milk, *International Journal of Microbiology*, 2020. doi: 10.1155/2020/7019286.

Handayani, M. N. and Wulandari, P. Pengaruh Penambahan Berbagai Jenis Susu Terhadap Karakteristik Soyghurt, *Agrointek*, 2016, 10(2), p. 62. doi: 10.21107/agrointek.v10i2.2467.

Ihsan, R. Z. et al. Penentuan Umur Simpan Yoghurt Sinbiotik Dengan Penambahan Tepung Gembolo Modifikasi Fisik, *Edufortech*, 2017, 2(1), pp. 1–6. doi: 10.17509/edufortech.v2i1.6168.

Joel, N., James, S. and Blessing, O. O. Development and comparative evaluation of storage changes in Probiotic Soy-Yoghurt, *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 2019, 9(2), pp. 298–301. doi: 10.15414/jmbfs.2019.9.2.298-301.

Kyriakidis, N. C. et al. SARS-CoV-2 vaccines strategies: a comprehensive review of phase 3 candidates, *npj Vaccines*, 2021, 6(1). doi: 10.1038/s41541-021-00292-w.

Layadi, N. et al. Pengaruh Waktu Simpan Terhadap Kualitas Soyghurt Dengan Penambahan Gula dan Stabiliser, *Widya Teknik*, 2017, 8(1), pp. 1–11. Available at:

<http://journal.wima.ac.id/index.php/teknik/article/view/1277>.

Ma, C. et al. Eimeria tenella: IMP1 protein delivered by Lactococcus lactis induces immune responses against homologous challenge in chickens, *Veterinary Parasitology*, 2021, p. 109320. doi: 10.1016/j.vetpar.2020.109320.

Marin, S. M., Desniar and Santoso, J. Karakterisasi Minuman Jelly Probiotik dengan Penambahan *Lactobacillus plantarum* (SK5) Asal Bekasam Selama Penyimpanan, *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 2016, pp. 288–298. doi: 10.17844/jphpi.2016.19.3.288.

McLenon, J. and Rogers, M. A. M. *The fear of needles: A systematic review and meta-analysis*, *Journal of Advanced Nursing*, 2019, doi: 10.1111/jan.13818.

Meybodi, N. M. et al. Probiotic viability in yoghurt: A review of influential factors, *International Dairy Journal*, 2020, 109, p. 104793. doi: 10.1016/j.idairyj.2020.104793.

Mittal, A. et al. COVID-19 pandemic: Insights into structure, function, and hACE2 receptor recognition by, *PLoS patho*, 2020, pp. 1–19. doi: 10.1371/journal.ppat.1008762.

Pontes, D. S. et al. Lactococcus lactis as a live vector: Heterologous protein production and DNA delivery systems, *Protein Expression and Purification*, 2011, 79(2), pp. 165–175. doi: 10.1016/j.pep.2011.06.005.

Russell, M. W. et al. Mucosal Immunity in COVID-19: A Neglected but Critical Aspect of SARS-CoV-2 Infection, *Frontiers in Immunology*, 2020, 11(November), pp. 1–5. doi: 10.3389/fimmu.2020.611337.

Santos, A. F., Gaspar, P. D. and de Souza, H. J. L. Refrigeration of COVID-19

vaccines: Ideal storage characteristics, energy efficiency and environmental impacts of various vaccine options, *Energies*, 2021, 14(7). doi: 10.3390/en14071849.

Singhal, T. A Review on COVID-19, *Studies in Computational Intelligence*, 2020, 924(April), pp. 25–42. doi: 10.1007/978-3-030-60188-1_2.

Šušković, J. et al. Antimicrobial activity - The most important property of probiotic and starter lactic acid bacteria, *Food Technology and Biotechnology*, 2010, 48(3), pp. 296–307.

Tangyu, M. et al. Fermentation of plant-based milk alternatives for improved flavour and nutritional value, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2019, 103(23–24), pp. 9263–9275. doi: 10.1007/s00253-019-10175-9.

Tezuka, H. and Ohteki, T. Regulation of IgA production by intestinal dendritic cells and related cells, *Frontiers in Immunology*, 2019, pp 1-15. doi: 10.3389/fimmu.2019.01891.

Topuzoğullari, M. et al. An insight into the epitope-based peptide vaccine design strategy and studies against covid-19, *Turkish Journal of Biology*, 2020, 44(Special issue 1), pp. 215–227. doi: 10.3906/biy-2006-1.

Trisnawati, C. Y., Srianta, I. and Marsono, Y. Effect of corn varieties on the characteristics of soycorn milk, *International Food Research Journal*, 2013.

Vela Ramirez, J. E., Sharpe, L. A. and Peppas, N. A. Current state and challenges in developing oral vaccines, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2017, 114, pp. 116–131. doi: 10.1016/j.addr.2017.04.008.

Xia, S. et al. Inhibition of SARS-CoV-2 (previously 2019-nCoV) infection by a highly potent pan-coronavirus fusion inhibitor targeting its spike protein that

harbors a high capacity to mediate membrane fusion, *Cell Research*, 2020, 30(4), pp. 343–355. doi: 10.1038/s41422-020-0305-x.

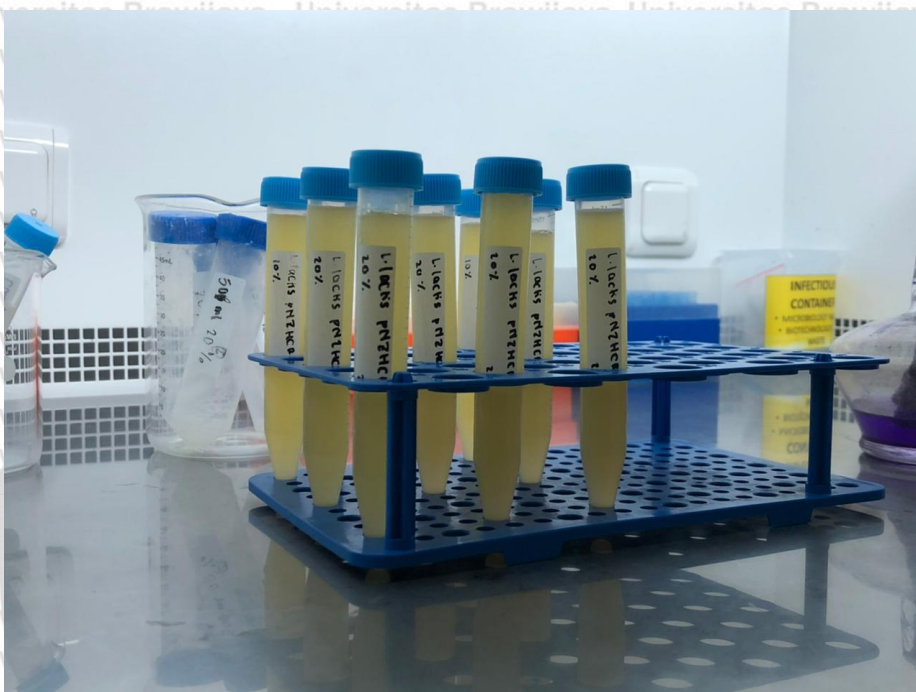
Yurina, V. Live Bacterial Vectors—A Promising DNA Vaccine Delivery System, *Medical Sciences*, 2018, 6(2), p. 27. doi: 10.3390/medsci6020027.

Yurina, V. Coronavirus epitope prediction from highly conserved region of spike protein, *Clinical and Experimental Vaccine Research*, 2020, 9(2), pp. 169–173. doi: 10.7774/cevr.2020.9.2.169.

Zhu, Q. and Berzofsky, J. A. Oral vaccines: Directed safe passage to the front line of defense, *Gut Microbes*, 2013, 4(3), pp. 246–252. doi: 10.4161/gmic.24197.



Lampiran 1. Hasil Induksi Nisin



Lampiran 2. Dokumentasi Kegiatan



Lampiran 3. Perhitungan Koloni *Lactococcus lactis*



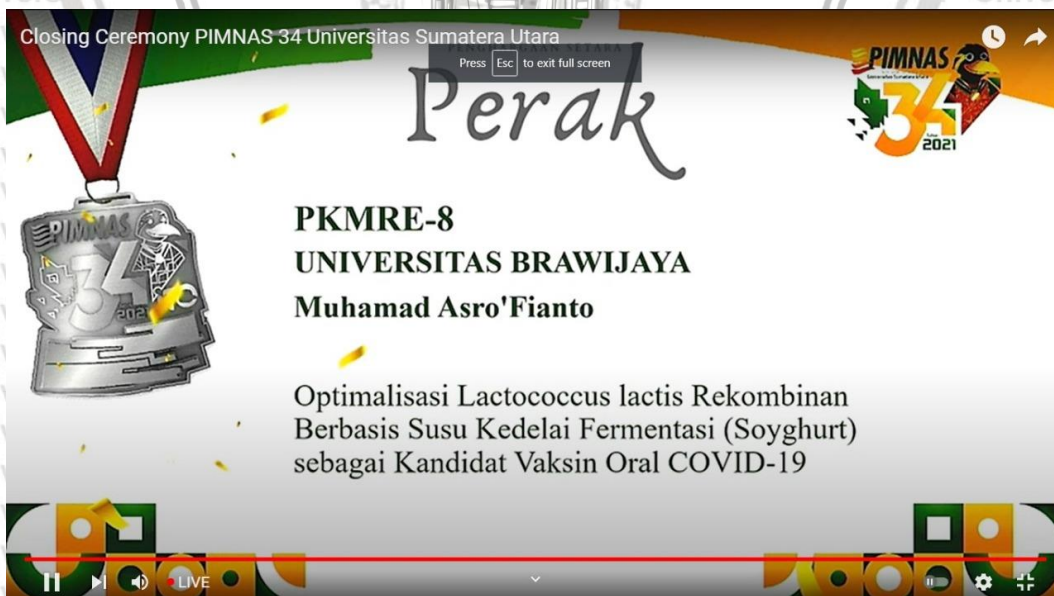
Lampiran 4. Pedoman Nilai Chi-Square Tabel

DF	Probabilitas				
	0,5	0,1	0,05	0,01	0,05
1	0,45494	2,70554	3,84146	6,63490	3,84146
2	1,38629	4,60517	5,99146	9,21034	5,99146
3	2,36597	6,25139	7,81473	11,34487	7,81473
4	3,35669	7,77944	9,48773	13,27670	9,48773
5	4,35146	9,23636	11,07050	15,08627	11,07050
6	5,34812	10,64464	12,59159	16,81189	12,59159
7	6,34581	12,01704	14,06714	18,47531	14,06714
8	7,34412	13,36157	15,50731	20,09024	15,50731
9	8,34283	14,68366	16,91898	21,66599	16,91898
10	9,34182	15,98718	18,30704	23,20925	18,30704
11	10,34100	17,27501	19,67514	24,72497	19,67514
12	11,34032	18,54935	21,02607	26,21697	21,02607
13	12,33976	19,81193	22,36203	27,68825	22,36203
14	13,33927	21,06414	23,68479	29,14124	23,68479
15	14,33886	22,30713	24,99579	30,57791	24,99579
16	15,33850	23,54183	26,29623	31,99993	26,29623
17	16,33818	24,76904	27,58711	33,40866	27,58711
18	17,33790	25,98942	28,86930	34,80531	28,86930
19	18,33765	27,20357	30,14353	36,19087	30,14353
20	19,33743	28,41198	31,41043	37,56623	31,41043
21	20,33723	29,61509	32,67057	38,93217	32,67057
22	21,33704	30,81328	33,92444	40,28936	33,92444
23	22,33688	32,00690	35,17246	41,63840	35,17246
24	23,33673	33,19624	36,41503	42,97982	36,41503
25	24,33659	34,38159	37,65248	44,31410	37,65248
26	25,33646	35,56317	38,88514	45,64168	38,88514
27	26,33634	36,74122	40,11327	46,96294	40,11327
28	27,33623	37,91592	41,33714	48,27824	41,33714
29	28,33613	39,08747	42,55697	49,58788	42,55697
30	29,33603	40,25602	43,77297	50,89218	43,77297
31	30,33594	41,42174	44,98534	52,19139	44,98534
32	31,33586	42,58475	46,19426	53,48577	46,19426
33	32,33578	43,74518	47,39988	54,77554	47,39988
34	33,33571	44,90316	48,60237	56,06091	48,60237

Lampiran 5 Sertifikat Medali Perak Presentasi PIMNAS XXXIV



Lampiran 6 Pengumuman Pemenang Presentasi PIMNAS XXXIV



Lampiran 7 Dokumentasi Presentasi PIMNAS XXXIV



Ekspresi A

Sampel yang digunakan yaitu *soyghurt* dengan konsentrasi 10% dan 20%

Reagent yang digunakan yaitu **antibodi Anti-protein Spike SARS COV-2**

