

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Vaksin**

Vaksin adalah sediaan yang mengandung zat antigenik yang mampu menimbulkan kekebalan aktif dan khas pada manusia. Vaksin dapat dibuat dari bakteri, riketsia atau virus dan dapat berupa suspensi organisme hidup atau inaktif atau fraksinya atau toksoid (Farmakope Indonesia, 2014). Jenis vaksin (menurut Farmakope Indonesia Edisi V) adalah sebagai berikut:

a. **Vaksin Bakteri**

Dibuat dari biakan galur bakteri dalam media cair atau padat dan mengandung bakteri hidup atau inaktif atau komponen imunogeniknya.

b. **Toksoid Bakteri**

Diperoleh dari toksin yang telah dikurangi atau dihilangkan sifat toksisitasnya hingga mencapai tingkat tidak terdeteksi, tanpa mengurangi sifat imunogenisitas.

c. **Vaksin Virus dan Riketsia**

Adalah suspensi virus atau riketsia yang ditumbuhkan dalam telur berembrio, dalam biakan sel atau dalam jaringan yang sesuai. Mengandung virus atau riketsia hidup atau inaktif atau komponen imunogeniknya. Vaksin virus hidup umumnya dibuat dari virus galur khas yang virulensinya telah dilemahkan.

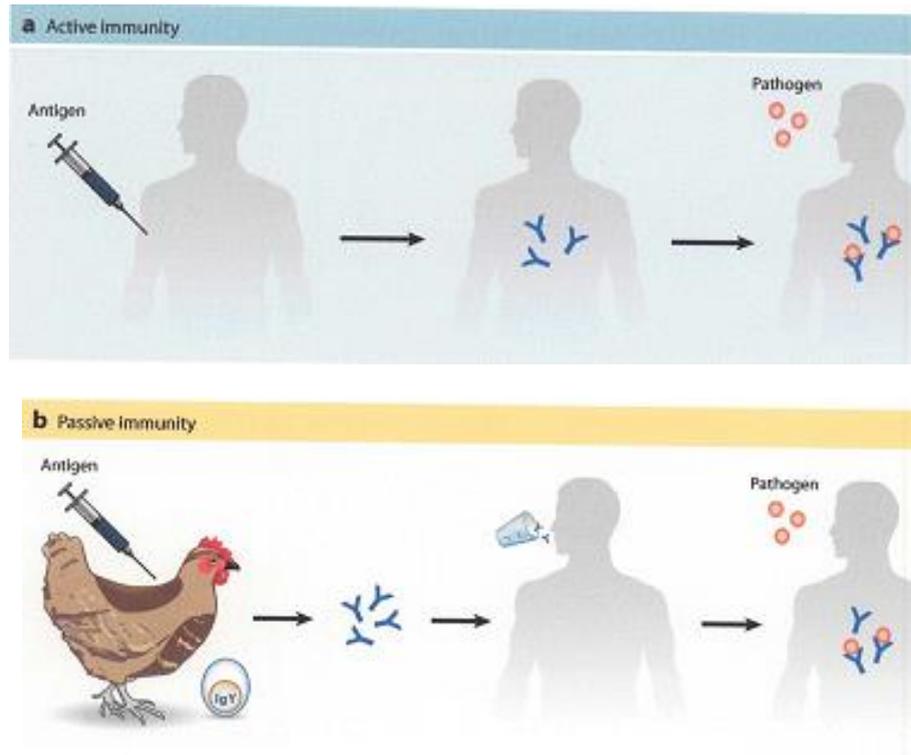
Vaksinasi adalah teknik memasukkan antigen yang telah dilemahkan virulensinya untuk mengenali invasi awal tanpa menimbulkan penyakit namun diharapkan dapat merangsang kekebalan tubuh. Mekanisme kerja vaksin adalah dengan mempengaruhi respon imun (kebal), yaitu sel-sel memori yang bersifat melindungi dan telah terbentuk pada waktu sebelumnya. Antibodi akan terbentuk setelah dilakukan vaksinasi yang dapat melawan suatu penyakit. Antibodi juga

akan terbentuk apabila sel penghasil antibodi, yaitu sel limfosit (sel B) telah berfungsi dengan baik. Selanjutnya antibodi yang spesifik akan terbentuk jika ada rangsangan antigen spesifik (penginfeksi) yang masuk ke dalam tubuh yang berfungsi merangsang makrofag untuk memfagosit (memakan) pathogen tersebut (Setiawan, 2012).

Vaksin terdiri dari 2 tipe yaitu vaksin mati (inaktif) dan vaksin hidup (aktif). Vaksin mati diberikan dari pathogen yang diinaktifasi dengan cara pemanasan pada suhu 100° C (*heat killed*), dengan menggunakan formalin (*formaline killed*) dan diinaktifasi dengan sonikator (*sonicated killed*). Sedangkan vaksin yang hidup berupa organism pathogen yang dilemahkan virulensinya (Ellis, 2000).

### **2.1.1 Prinsip Vaksin**

Fungsi dasar dari sistem imun sangat membantu untuk mengetahui prinsip kerja dan dasar rekomendasi pemakaian vaksin. Terdapat 2 mekanisme dasar untuk memperoleh imunitas, yakni secara aktif dan pasif. Imunitas aktif adalah perlindungan yang dihasilkan dari sistem imun tubuh sendiri (Plotkin S, 2008). Tipe imunitas ini biasanya bertahan sampai beberapa tahun, yakni selama hidup. Imunitas pasif adalah perlindungan yang dihasilkan oleh hewan atau manusia dan ditransferkan ke manusia lain, biasanya dengan menggunakan injeksi. Imunitas pasif dapat menghasilkan perlindungan yang efektif, tapi perlindungan ini tidak berlangsung lama yakni sekitar beberapa minggu atau bulan (Plotkin S, 2003). Berikut ini adalah gambar skema perbedaan antara imunitas aktif dan imunitas pasif:



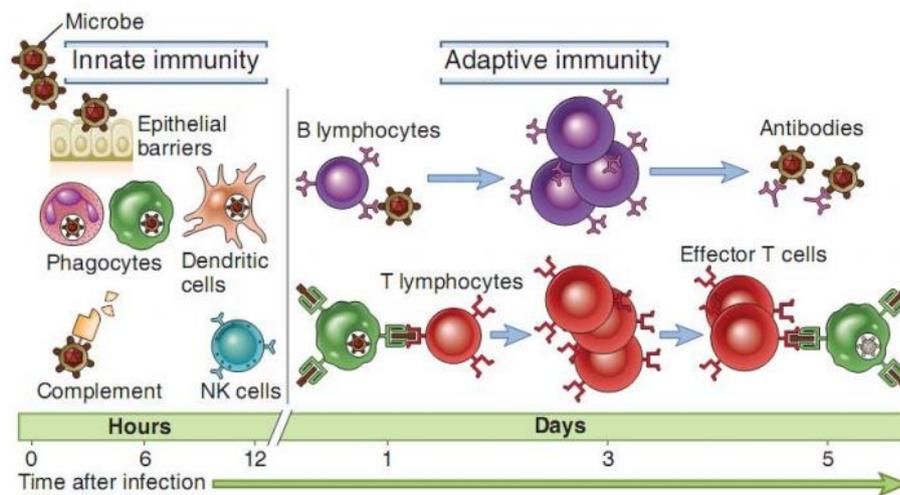
Gambar 2.1 Imunitas Aktif Dan Pasif (a) Imunitas aktif meliputi imunisasi, atau vaksinasi individu dengan antigen untuk menghasilkan respon imun adaptif yang menargetkan ketertarikan patogen. (b) Pada imunitas pasif, antibodi di isolasi dari sumber lain (misalnya kuning telur ayam yang telah diimunisasi) lalu diaplikasikan pada tubuh untuk menghasilkan imunitas spesifik patogen.

## 2.2 Sistem Imun

Kata imun berasal dari bahasa Latin *immunis* yang berarti bebas dari beban (Benjamini *et al.*, 2000). Sistem imun merupakan mekanisme yang digunakan tubuh untuk mempertahankan keutuhannya terhadap bahaya yang dapat ditimbulkan oleh berbagai bahan dalam lingkungan hidup yang dianggap asing bagi tubuh. Mekanisme tersebut melibatkan gabungan sel, molekul, dan jaringan yang berperan dalam resistensi terhadap infeksi yang disebabkan oleh berbagai unsur pathogen yang terdapat di lingkungan sekitar kita seperti virus, bakteri, fungus, protozoa dan parasit. Sedangkan reaksi yang dikordinasi oleh sel-sel, molekul-molekul dan bahan lainnya terhadap mikroba disebut dengan respon imun (Baratawidjaja & Rengganis, 2012).

Sistem imun memiliki tiga fungsi yaitu sistem pertahanan (melawan patogen), fungsi homeostasis (mempertahankan keseimbangan kondisi tubuh dengan cara memusnahkan sel-sel yang sudah tidak berguna) dan pengawasan (*surveillance*). Pada fungsi pengawasan dini (*surveillance*) sistem imun akan mengenali sel-sel abnormal yang timbul di dalam tubuh dikarenakan virus maupun zat kimia. Sistem imun akan mengenali sel abnormal tersebut dan memusnahkannya. Fungsi fisiologis sistem imun yang terpenting adalah mencegah infeksi dan melakukan eradikasi terhadap infeksi yang sudah ada (Abbas *et al.*, 2014).

Sistem imun ada dua yaitu imunitas alamiah atau non spesifik/*natural/innate/native/non* adaptif dan imunitas dapatan atau spesifik/*adaptif/acquired*.



Gambar 2.2 Mekanisme imunitas bawaan dan imunitas adaptif (Abbas *et al.*, 2014)

### 2.2.1 Respon Imun Non Spesifik

Respon imun non spesifik merupakan imunitas bawaan (*innate imunity*) dimana respon imun terhadap zat asing dapat terjadi walaupun tubuh sebelumnya tidak pernah terpapar oleh zat tersebut. Imunitas non spesifik berperan paling awal dalam pertahanan tubuh melawan mikroba patogen yaitu dengan menghalangi

masuknya mikroba dan dengan segera mengeliminasi mikroba yang masuk ke jaringan tubuh (Abbas *et al.*, 2014).

Respon imun jenis ini akan selalu memberikan respon yang sama terhadap semua jenis agen infeksius dan tidak memiliki kemampuan untuk mengenali agen infeksius meskipun sudah pernah terpapar sebelumnya. Yang termasuk dalam respon imun non spesifik adalah pertahanan fisik, biokimia, humoral dan seluler (Baratawidjaja & Rengganis, 2012).

### **2.2.2 Respon Imun Spesifik**

Respon imun spesifik merupakan respon yang didapat dari stimulasi oleh agen infeksius (antigen/imunogen) dan dapat meningkat pada paparan berikutnya. Respon imun spesifik mencakup rangkaian interaksi seluler yang diekspresikan dengan penyebaran produk-produk spesifik. Ciri utama sistem imun spesifik adalah spesifitas, memori, spesialisasi, membatasi diri (*self limitation*), dan membedakan *self* dan *non self*. Target dari respon imun spesifik adalah antigen, yaitu suatu substansi yang asing (bagi hospes) yang dapat menginduksi respon imun spesifik (Benjamini *et al.*, 2000). Agen bereaksi dengan T-cell Receptor (TCR) dan antibodi. Antigen dapat berupa molekul yang berada di permukaan unsur patogen maupun toksin yang diproduksi oleh antigen yang bersangkutan. Apabila antigen yang sama dikemudian hari masuk ke dalam tubuh maka klon limfosit akan berproliferasi dan menimbulkan respon sekunder spesifik yang berlangsung lebih cepat dan lebih intensif dibandingkan respon primer.

Ada tiga tipe sel yang terlibat dalam respon imun spesifik yaitu sel T, sel B dan APC (makrofag dan sel dendritik) (Benjamini *et al.*, 2000). Respon imun spesifik meliputi aktivasi dan maturasi sel T, sel mediator dan sel B untuk memproduksi antibodi yang cukup untuk melawan antigen. Pada hakekatnya respon imun spesifik merupakan interaksi sistem imun secara bersama-sama.

Respon imun spesifik terdiri dari respon imun seluler (*cell-mediated immunity*) dan respon imun humoral. Perbedaan kedua respon imun tersebut terletak pada molekul yang berperan dalam melawan agen infeksi, namun tujuan utamanya sama yaitu untuk melawan mikroba yang berada di dalam sel (intraseluler) seperti virus dan bakteri. Respon ini dimediasi oleh limfosit T (sel T) dan berperan mendukung penghancuran mikroba yang berada di dalam fagosit dan membunuh sel yang terinfeksi. Beberapa sel T juga berkontribusi dalam eradikasi mikroba ekstraseluler dengan merekrut leukosit yang menghancurkan patogen dan membantu sel B membuat antibodi yang spesifik (Abbas *et al.*, 2015).

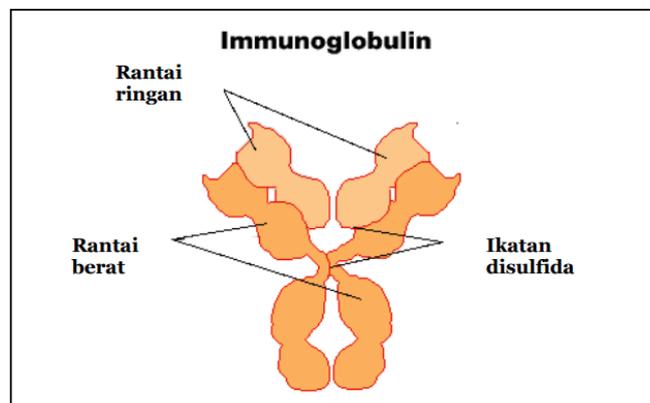
Agen imun yang berada di luar sel dapat dilawan dengan respon imun humoral yang dimediasi oleh serum antibodi, suatu protein yang disekresikan oleh sel B (Benjamini *et al.*, 2000). Sel B berdiferensiasi menjadi satu klon sel plasma yang memproduksi dan melepaskan antibodi spesifik ke dalam darah serta membentuk klon sel B memori. Sel B menghasilkan antibodi spesifik untuk antigen tertentu. Antibodi ini berkaitan dengan antigen membentuk senyawa kompleks antigen-antibodi yang dalam mengaktivasi komplemen dan mengakibatkan hancurnya antigen tersebut.

Respon imun humoral ada dalam darah dan cairan sekresi seperti mukosa, saliva, air mata dan ASI. Elemen lain yang berperan penting dalam respon imun humoral adalah sistem komplemen. Sistem komplemen diaktivasi oleh reaksi antara antigen dan antibodi. Ketika aktif sistem komplemen akan melisis sel target atau meningkatkan kemampuan fagositosis sel fagosit (Benjamini *et al.*, 2000).

## 2.3 Immunoglobulin Y (IgY)

### 2.3.1 Definisi Immunoglobulin

Immunoglobulin adalah molekul glikoprotein yang diproduksi oleh sel plasma sebagai respon dari imunogen dan berfungsi sebagai antibodi (Mayer, 2005). Secara umum pada mamalia terdapat lima jenis immunoglobulin yaitu IgG, IgA, IgM, IgD, dan IgE. Immunoglobulin tersusun atas 2 rantai berat (*heavy chain*) dan 2 rantai ringan (*light chain*) yang dihubungkan oleh ikatan disulfida sehingga membentuk struktur Y (Stowell, 2006). Struktur immunoglobulin ditunjukkan pada gambar berikut.



Gambar 2.3. Struktur Immunoglobulin (Scowell, 2006)

### 2.3.2 Definisi IgY

Immunoglobulin Y (IgY) adalah antibodi utama pada burung, reptil dan lungfish. Pada burung, IgY ditemukan terutama di darah dan di cairan pecahan dari telur yang memberikan perlindungan untuk anak ayam yang baru menetas (Schade *et al.*, 2005). Di Indonesia sendiri telah dilakukan beberapa penelitian mengenai IgY diantaranya IgY sebagai anti tetanus (Suarta, 2006), sebagai anti adhesi pada pembentukan biofilm (Chrimirina, 2006).

### 2.3.3 Fungsi IgY

IgY memainkan peranan biologis yang sama sebagai IgG pada mamalia, yang dianggap sebagai immunoglobulin utama yang memberikan pertahanan

terhadap agen infeksi. Selain itu, ayam yang menetas memperoleh kekebalan humoral yang efektif terhadap patogen umum pada burung ketika menyerap IgY dari kuning telur, sampai maturasi selesai dari sistem kekebalan tubuh (Schade *et al.*, 2005).

Karakter penting yang dimiliki oleh IgY yang tidak dimiliki oleh antibodi mamalia antara lain adalah IgY lebih resisten terhadap pengaruh suhu dan pH. IgY tidak berikatan dengan protein A dan G, tidak berikatan dengan faktor rheumatoid dalam darah, tidak mengaktifkan faktor komplemen mamalia sehingga tidak merangsang timbulnya efek samping, tidak berikatan dengan reseptor Fc pada permukaan sel dan kemampuan mengikat antibodi sekunder 3 hingga 5 kali lebih kuat (Szabo *et al.*, 2003).

Cara kerja utama dari antibodi IgY adalah dengan mengikat komponen spesifik permukaan bakteri seperti *Outer Membran Protein* (OMP), lipopolisakarida (LPS), flagella, dan fimbria (atau pili). Hal ini diduga bahwa komponen permukaan sel ini dapat dengan mudah dikenali dan diikat oleh antibodi. (Thewis, 2009). Mekanisme kerja dari IgY antara lain: (1) menghambat adhesi mikroba ke permukaan sel, (2) menekan kolonisasi virus dengan mencegah penyebaran sel ke sel, (3) menggumpalkan bakteri dengan membuat mikroba tidak bergerak dan mati atau mudah untuk dikeluarkan melalui usus, (4) menghambat aktivitas enzim, (5) netralisasi aktivitas toksin. (Rahman *et al.*, 2013).

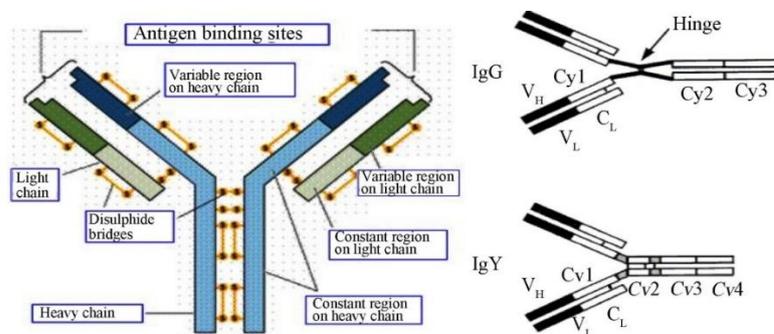
IgY utuh dan telah terpotong dapat ditemukan pada individu yang sama seperti di sebagian bebek dan angsa, atau hanya satu bentuk, seperti di *Gallus gallus domesticus* dimana hanya terdapat seluruh IgY (Kitaguchi dkk., 2008).

#### **2.3.4 Perbedaan IgY dengan IgG**

IgG merupakan imunoglobulin utama yang dibentuk atas rangsangan antigen. Di antara semua kelas imunoglobulin, IgG paling mudah berdifusi ke dalam jaringan ekstrasvaskular dan melakukan aktivitas antibodi di jaringan. IgG

umumnya melapisi mikroorganisme sehingga partikel itu lebih mudah difagositosis, dan IgG mampu menetralkan toksin dan virus. IgG ditemukan meningkat pada infeksi kronik. IgG adalah antibodi pertama yang terlibat dalam respon imunitas lanjutan. Keberadaan IgG tertentu pada umumnya diartikan sebagai puncak respon antibodi terhadap antigen. IgG dapat mengikat berbagai macam patogen seperti virus, bakteri, dan fungi. Patogen dihancurkan dengan cara aglutinasi dan immunsisasi. Selanjutnya sistem kekebalan komplemen diaktifkan melalui jalur klasik dengan menggunakan fragmen konstan untuk mengikat patogen. Patogen diopsonisasi dan ditelan oleh makrofag serta neutrofil dengan proses fagositosis dan netralisasi toksin. IgG juga memiliki peran penting dalam mengikat sel NK (Natural Killer) pada ADCC (Antibody Dependent Cell-mediated Cytotoxicity) (Tizard 2004).

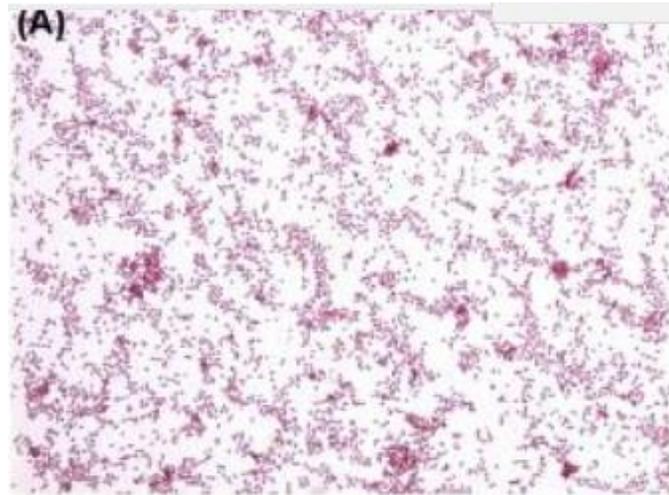
Seperti IgG, IgY terdiri dari dua rantai polipeptida berat dan dua rantai polipeptida ringan, berbentuk karakteristik Y dan memberikan dua tempat ikatan untuk antigen. IgY dan IgG diekstraksi dari diethylaminoethyl selulosa dengan buffer kekuatan ionik rendah. IgY juga mampu memediasi reaksi anafilaksis, fungsinya dikaitkan dengan IgE pada mamalia (Carlander, 2002). Faktanya, kesamaan lain antara IgY dan IgE, termasuk rantai intra ikatan disulfida yang serupa di domain ekstra pada rantai berat mereka, hal ini menunjukkan bahwa IgY adalah molekul turunan bagi kedua IgG dan IgE. Berikut adalah perbedaan struktur IgY dan IgG.



Gambar 2.4 Perbedaan struktur IgY dengan IgG (Abdou, 2014)

## 2.4 *Porphyromonas gingivalis*

Etiologi utama dari proses perkembangan penyakit periodontal kronis adalah *dental plaque* atau *oral biofilm* yang berkaitan dengan bakteri anaerob. Pada penderita periodontitis, komposisi bakteri plak gigi akan semakin kompleks, dan didominasi oleh gram negatif anaerob mutlak. *P. gingivalis* adalah salah satu patogen utama dalam perkembangan penyakit periodontal (Mysak, 2013).



Gambar 2.2 Bakteri *P. gingivalis* pada pewarnaan gram dengan perbesaran 1000x (Zhou, 2015).

### 2.4.1. Klasifikasi *P. gingivalis*

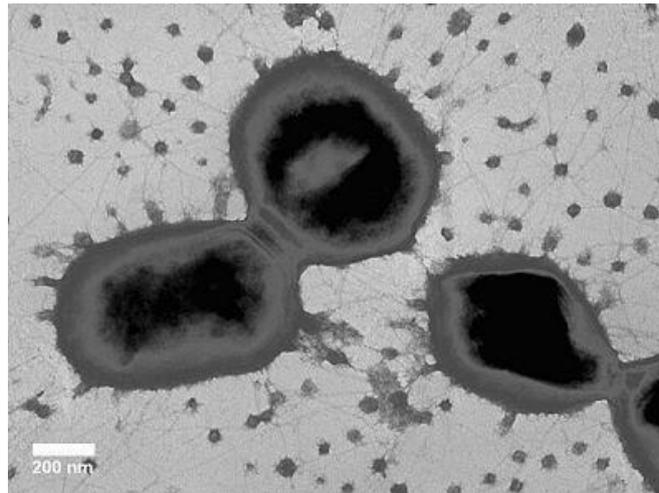
Secara taksonomi, *P. gingivalis* diklasifikasikan sebagai berikut:

(MicrobeWiki, 2010)

Kingdom	: <i>Bacteria</i>
Superphylum	: <i>Bactroidetes/Chlorobi group</i>
Phylum	: <i>Bacteroidetes</i>
Class	: <i>Bacteroides</i>
Ordo	: <i>Bacteroidales</i>
Family	: <i>Porphyromonadaceae</i>
Genus	: <i>Porphyromoonas</i>
Species	: <i>Porphyromonas gingivalis</i>

#### 2.4.2. Karakteristik *P. gingivalis*

Karakter *P. gingivalis* adalah memiliki bercak hitam, *pleomorphic* terutama berbentuk batang pendek, non-motil, gram negatif, non-fermentasi, tidak membentuk spora, obligat anaerob, *asaccharolytic*, dapat tumbuh optimum pada suhu 36,8-30 0C dengan pH antara 7.5-8.0 (Iriano, 2008).



Gambar 2.5 Gambaran mikroskopis *P. gingivalis* dapat dilihat pada gambar *Porphyromonas gingivalis* (MicrobeWiki, 2010).

#### 2.4.3. Peran *P. gingivalis* dalam Patogenesis Periodontitis

Periodontitis adalah suatu penyakit peradangan pada jaringan penyangga gigi yang disebabkan oleh mikroorganisme tertentu sehingga mengakibatkan kerusakan yang progresif pada ligamen periodontal dan tulang alveolar ditandai dengan terbentuknya poket, resesi, atau kedua-duanya. Kerusakan ini dapat disebabkan oleh toksin yang diproduksi oleh bakteri maupun oleh aktifitas sel-sel dan mediator proinflamatori yang berlebihan. Komponen struktur bakteri dapat merangsang perkembangan reaksi kekebalan host yang tidak hanya mampu melindungi inang terhadap infeksi tetapi juga menyebabkan kerusakan jaringan periodontal parah. Bakteri yang dominan pada periodontitis adalah *P. gingivalis* (Carranza *et al.* , 2015).

Komponen dinding sel dari *P. gingivalis*, seperti lipopolisakarida (LPS), dapat merangsang pelepasan sitokin pro-inflamasi (IL-1b, IL-6, CXCL8 atau IL-8, TNF-a), prostaglandin, enzim proteolitik (MMPs), oksida nitrat, dan radikal bebas. Zat-zat kimia tersebut adalah mediator peradangan dan kebanyakan dari mereka dapat merangsang resorpsi tulang. LPS dan mediator inflamasi juga memiliki efek langsung terhadap aktifitas osteoblas, yaitu menyebabkan penurunan jumlah sel osteoblas fungsional. Hasil dari aktifitas ini adalah terjadinya kehilangan perlekatan, termasuk tulang dan jaringan ikat periodontal (Siquera dan Rocas, 2007).

*P. gingivalis* memproduksi banyak faktor virulensi, termasuk di dalamnya *outer membrane vesicles, adhesions, lipopolysaccharides (LPS), hemolysins, proteinases, Arg- dan Lys-gingipain cysteine*. Gingipain berperan dalam destruksi jaringan secara langsung dengan *degrading host tissue proteins* dan secara tidak langsung dengan mengaktifkan *latent matrix metalloproteinases* dan menonaktifkan inhibitor dari metalloproteinases. Sedangkan LPS sebagai salah satu dari faktor virulen bakteri ini terbukti terlibat dalam respon inflamasi (Grenier, 2010).

## **2.5 Kuning Telur Ayam sebagai Sumber Immunoglobulin Yolk**

Sifat fisik telur ayam terdiri dari tiga bagian utama yaitu kerabang telur (*egg shell*) 9-12%, putih telur (Albumen)  $\pm$  60%, dan kuning telur (*yolk*) 30-33% (Robert, 2004). Kuning telur adalah salah satu komponen yang mengandung nutrisi terbanyak dalam telur.

Kuning telur dari ayam yang diimunisasi sudah sangat terkenal sebagai salah satu sumber antibodi. Produksi Immunoglobulin Yolk (IgY) dengan memanfaatkan kuning telur ayam sebagai pabrik biologis mempunyai beberapa

keunggulan. Ayam memiliki sensitifitas yang tinggi terhadap pemaparan antigen asing, sehingga sistem imun ayam sangat responsif dan persisten untuk produksi IgY.

Antibodi yang terdapat dalam kuning telur merupakan antibodi yang diperoleh dari induk selama respon imun dalam telur tidak ada. Antibodi yang diserap masuk ke dalam telur merupakan antibodi terseleksi karena anak ayam yang ditetaskan dalam lingkungan induk akan menguntungkan apabila disuplai antibodi yang spesifik untuk melawan penyakit-penyakit yang ada di lingkungan induk.

Telur dapat disimpan lebih dari 1 tahun pada suhu 4°C sebelum dipurifikasi IgYnya. Setiap 1 butir telur bisa mengandung sampai 100 mg total IgY, tergantung dari ukuran kuning telur. IgY spesifiknya skitar 1-10% dari total IgY. Berkenaan dengan *animal welfare* produksi antibodi pada mamalia menyebabkan hewan itu mengalami cekaman stress karena tindakan invasif waktu pengambilan serum, sedangkan untuk produksi antibodi pada unggas, telur dapat dengan mudah diperoleh dengan metode non-invasif. IgY memiliki beberapa keuntungan dibanding poliklonal antibodi mamalia. Purifikasi IgY dapat dilakukan dengan cepat dan metode isolasinya mudah (Hau dan Hendriksen, 2005).

IgY dapat digunakan sebagai alternative pengganti antibodi mamalia pada penelitian dan penggunaannya sebagai imunoterapi sedang dikembangkan. IgY juga memiliki keuntungan secara biokimia dan purifikasi yang sederhana dibandingkan IgG mamalia (Carlender, 2002). Dari segi ekonomi, efisiensi biaya produksi antibodi dalam telur lebih bagus dibandingkan dengan menggunakan hewan percobaan karena biaya untuk memelihara ayam lebih rendah daripada memelihara kelinci (Bizanov dan Jonauskiene, 2003).

## 2.6 **Matriks Metalloproteinase (MMPs)**

*Matriks metalloproteinase* (MMPs) adalah suatu enzim proteolitik yang mempengaruhi degradasi dari makromolekul matriks ekstraseluler, yaitu kolagen interstitial dan kolagen membran basalis, fibronektin, laminin dan proteoglikan. MMPs disebut juga enzim kolagenase yaitu enzim yang dapat memecah kolagen pada peristiwa remodeling jaringan. Kolagenesis adalah proses degradasi kolagen pada jaringan periodontal dan mengaktifkan MMPs untuk mengawali atau mempercepat degradasi kolagen ligamen periodontal. Enzim ini dihasilkan oleh bakteri penyebab kelainan periodontal yang berpotensi merusak jaringan penyangga gigi dengan cara merusak kolagen tipe I. MMPs diduga berperan secara bermakna pada penyakit periodontal (Wahyukundari, 2008).

*Matriks metalloproteinase*, terutama MMP-8 dikenal dominan dan merupakan jenis MMPs yang paling umum dari penyakit periodontal. Proses penyembuhan penyakit periodontal secara enzimologi digambarkan dengan adanya penurunan kadar MMP-8 yang berperan aktif dalam pathogenesis periodontitis (Wahyukundari, 2008).

MMPs disintesis dan disekresi dalam bentuk proenzim inaktif. Pemecahan proteolitik dari gugus-amino pada rantai propeptida diperlukan untuk membangkitkan enzim aktif. Secara alami muncul penghambat MMPs yaitu *Tissue Inhibitor Matriks metalloproteinase* (TIMP), kontrol penting terhadap setiap aksi MMPs. Secara fisiologis, MMP-8 dan penghambatnya telah ada dalam jaringan periodontal, namun bila tidak terdapat keseimbangan antara MMP-8 dengan TIMP maka akan terjadi peristiwa patogenesis pada jaringan periodontal, dimana jumlah MMP-8 akan meningkat dan terjadi degradasi matriks ekstraseluler (Wahyukundari, 2008).