

BAB 6

PEMBAHASAN

6.1 Efektifitas Bakteri *Heat Killed Salmonella Thypimurium* terhadap Kadar Adiponektin

Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan bahwa pemberian vaksin menggunakan *heat killed S. Typhimurium* mampu meningkatkan kadar adiponektin pada model tikus wistar yang diberikan diet aterogenik sehingga dapat mencegah terjadinya sindroma metabolik. Pada penelitian ini terdapat 5 kelompok perlakuan, yaitu kelompok I kontrol negatif yang merupakan kelompok yang diberikan diet normal dan tidak diberi vaksin dari bakteri *S. Thypimurium* maupun ajuvan, kelompok II kontrol positif yaitu kelompok yang hanya diberikan diet aterogenik tanpa diberikan vaksin dari bakteri *Salmonella Thypimurium* maupun ajuvan, kelompok III yaitu kelompok yang diberikan diet aterogenik dan diinjeksikan dengan vaksin yang berisi bakteri saja, kelompok IV yang diberikan diet aterogenik dan diinjeksikan dengan vaksin yang merupakan kombinasi ajuvan (CFA dan IFA) dan bakteri, dan kelompok V, yaitu kelompok yang diberikan diet aterogenik dan diberikan vaksin ajuvan (CFA dan IFA) saja.

Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa kadar adiponektin meningkat pada kelompok yang dilakukan pemberian vaksin dibandingkan dengan kelompok kontrol (+) dan kontrol (-). Pengukuran berat badan tikus juga menunjukkan penurunan berat badan pada tikus dengan diet aterogenik dan pemberian vaksinasi dibandingkan dengan kelompok kontrol (+). Perbandingan berat badan pada tikus yang diberi vaksinasi menunjukkan bahwa tikus kelompok III dan IV, dengan vaksinasi komposisi bakteri dan kombinasi bakter-ajuvan lebih rendah dibandingkan dengan kelompok V, vaksin yang berisi ajuvan

saja. Hal ini dikarenakan bakteri *Salmonella* Thypimurium dan ajuvan CFA-IFA yang diinjeksikan dalam tubuh tikus dapat direspons oleh sel T CD4+ yang kemudian menginduksi terbentuknya antibodi spesifik terhadap Ox-LDL. Antibodi Ox-LDL ini akan bereaksi silang dengan Ox-LDL dalam tubuh manusia. Penurunan dari Ox-LDL akan disertai dengan peningkatan dari adiponektin. Adiponektin yang meningkat ini memberikan efek yang protektif dalam tubuh.

Ox-LDL merupakan lemak teroksidasi yang bersifat destruktif dalam tubuh manusia. Ox LDL berperan dalam patogenesis atau perjalanan penyakit sindroma metabolik, OX-LDL dapat mengakibatkan kondisi dislipidemia dan obesitas, resistensi insulin, dan OX-LDL juga dapat diuptake oleh makrofag dalam tubuh manusia dan berujung pada keadaan aterosklerosis, atau kondisi penyempitan pembuluh darah arteri.

Penelitian yang dilakukan Miwa Ryo tahun 2004 membuktikan bahwa adiponektin mampu meniadakan regulasi pada obesitas visceral dan abdominal yang pada akhirnya mempengaruhi perkembangan sindroma metabolik. Adiponektin terbukti dapat meningkatkan sensitivitas insulin serta berperan dalam aktivitas vasodilatasi pembuluh darah yang berhubungan dengan kejadian hipertensi.

Hasil dari penelitian Yuji Matsuzawa tahun 2004 juga membuktikan bahwa adiponektin mempunyai efek antiaterogenik dengan berbagai mekanisme. Merja Santaniemi pada tahun 2006 juga melakukan penelitian yang membuktikan bahwa keadaan hipoadiponektinemia telah dihubungkan dengan peningkatan terjadinya sindroma metabolik. Pada jurnal hasil penelitiannya Miwa Ryo menuliskan bahwa adiponektin mempunyai peran dalam perkembangan sindroma metabolik dan dapat menjadi marker yang bermanfaat untuk sindroma

ini. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian ini yang menunjukkan bahwa terbentuknya antibodi melalui vaksin dapat mengeliminasi Ox-LDL yang kemudian diikuti dengan peningkatan adiponektin. Peningkatan adiponektin ini akan memberikan efek protektif.

Dalam kelompok yang diinjeksikan vaksin, terdapat 3 jenis vaksin berbeda yang diberikan untuk 3 kelompok. Vaksin dengan komposisi bakteri saja menunjukkan kadar adiponektin yang terendah dibandingkan dengan 2 kelompok yang diberikan vaksin lainnya, diikuti dengan vaksin berisi bakteri dan ajuvan, dan kadar adiponektin tertinggi pada vaksin yang berisi ajuvan CFA dan IFA saja. Hal ini menunjukkan bahwa pada penelitian ini ajuvan CFA dan IFA memiliki peran yang penting dalam meningkatkan kadar adiponektin, sehingga dibutuhkan penelitian lebih lanjut untuk menganalisa peran dari ajuvan dalam meningkatkan kadar adiponektin.

6.2 Mekanisme Vaksin Bakteri *Heat Killed Salmonella* Thypimurium dalam Membentuk Antibodi Protektif

Vaksin memediasi efek proteksinya dengan menginduksi terbentuknya antibodi yang spesifik terhadap antigen. Vaksin dari bakteri yang dilemahkan memproduksi imunitas yang dapat bertahan lebih lama, hampir sama tetapi tidak sebaik antibodi yang diproduksi oleh infeksi alami. Seringkali, 1 dosis cukup untuk membuat imunitas yang jangka panjang (Draper, 2013). Imunitas jagan panjang berasal dari pemeliharaan efektor imun yang spesifik terhadap antigen dan atau dengan menginduksi terbentuknya sel imun memori yang cukup efisien dan dengan cepat teraktivasi kembali pada pemaparan oleh patogen (Siegrist, 2008).

Vaksin akan memberikan efek pada sistem imun yang kemudian memediasi terbentuknya efek proteksi dalam tubuh, Antigen asing yang dimasukkan dalam tubuh dipresentasikan dalam sistem imun dan melibatkan sel Th CD4⁺ yang spesifik yang kemudian berhubungan dengan respon antibodi *T dependent*. Respon *T dependent* dapat diperoleh dengan toxoid, protein, inaktif atau vaksin bakteri hidup yang dilemahkan, untuk menginduksi terbentuknya antibodi dengan afinitas yang tinggi serta memori imun. Selain itu, vaksin dari bakteri hidup yang dilemahkan biasanya juga melibatkan sel T sitotoksik CD8⁺. Penggunaan vaksin hidup diperlukan untuk menginduksi respon sel T CD8⁺ yang kuat. Antibodi berperan untuk mencegah dan mengurangi infeksi dari agen ekstra dan intraseluler dan juga patogen ekstraseluler dengan mengikat bagian enzimatik dari toksin atau mencegah difusinya, menetralkan replikasi patogen, menginisiasi opsonofagositosis, mengaktifkan *complement cascade*. Sel T CD8⁺ tidak mencegah melainkan mereduksi, mengontrol, dan membersihkan patogen intraseluler dengan langsung membunuh sel yang terinfeksi (melepaskan perforin, granzyme, dll) dan secara tidak langsung membunuh sel yang terinfeksi melalui pelepasan sitokin antimikrobal. Sel T CD4⁺ juga tidak mencegah tetapi berperan dalam mereduksi, mengontrol, dan membersihkan patogen intra dan ekstraseluler dengan memproduksi IFN- γ , TNF- α - β , IL-2, dan IL-3 dan mendukung aktivasi dan diferensiasi sel B, sel T CD8⁺, dan makrofag (sel Th1) dan memproduksi IL-4, IL-5, IL-13, IL-6, dan IL-10 serta mendukung aktivasi dan diferensiasi sel B (sel Th2) (Siegrist,2008).

Pada mulanya, vaksin yang berisi bakteri *Salmonella* Thypimurium bersama ajuvan akan ditangkap oleh APC di dalam tubuh, kemudian akan dipresentasikan ke sel NKT melalui CD1. Setelah itu diteruskan ke sel B dan

terbentuklah antibodi yang disebut dengan anti-PC, antibodi ini akan bereaksi silang dengan PC yang terdapat pada Ox-LDL dan pada akhirnya akan terjadi eliminasi dari Ox-LDL oleh makrofag.

Ajuvan adalah suatu bahan vaksin yang digunakan untuk menjaga integritas antigen, meningkatkan respons imun terhadap antigen, dan mencegah terjadinya toleransi terhadap suatu antigen vaksin. Ajuvan berbahan dasar lipid. Ajuvan berperan dalam memodulasi pengiriman antigen dan peningkatan respon Th (imunomodulator) untuk mempengaruhi respon antibodi (Siegrist, 2008).

6.3 Analisis Peranan Adiponektin dalam Sindroma Metabolik

Peningkatan konsentrasi LDL di plasma merupakan salah satu dari faktor resiko yang besar untuk terjadinya *Coronary Artery Disease* (CAD). Sebuah studi membuktikan bahwa terapi untuk menurunkan kadar LDL dapat menurunkan kematian akibat koroner. Target lain untuk pencegahan CAD yaitu manajemen dari sindroma metabolik, yang terdiri dari berbagai faktor resiko kardiovaskuler, termasuk obesitas abdominal, dislipidemia, intoleransi glukosa, dan hipertensi. Meskipun faktor genetik merupakan faktor yang berpengaruh, telah terbukti juga bahwa akumulasi lemak tubuh yang berlebih, khususnya obesitas abdominal atau obesitas visceral intraabdominal yang disebabkan karena nutrisi yang berlebih dan inaktivitas fisik, dapat berakhir pada perkembangan sindroma metabolik (Ryo *et al*, 2004). Pada manusia, kadar adiponektin plasma cukup tinggi, rata-rata hingga 5-10 g/mL. Kadar adiponektin plasma berkorelasi negatif dengan BMI tubuh, sedangkan leptin, protein spesifik lain yang disekresikan oleh jaringan adiposa, diketahui kadarnya meningkat sesuai BMI (Matsuzawa *et al*, 2004). Keadaan hipoadiponektinemia telah dihubungkan dengan resiko sindroma metabolik pada beberapa populasi (Santaniemi, 2006).

Korelasi negatif antara kadar adiponektin dengan jaringan adiposa visceral lebih kuat dibandingkan protein dengan adiposa subkutan. Akumulasi jaringan adiposa visceral berperan utama dalam terjadinya diabetes mellitus, hiperlipidemia, hipertensi, dan juga aterosklerosis. Oleh karena itu, obesitas visceral menjadi kunci utama dari perkembangan sindroma metabolik ini (Matsuzawa *et al*, 2004). Jaringan adiposa memproduksi dan mensekresi berbagai zat bioaktif, yang disebut adipositokin, dimana mampu meniadakan regulasi pada obesitas visceral dan abdominal yang berkontribusi pada berkembangnya sindroma metabolik (Ryo *et al*, 2004).

Adiponektin merupakan protein plasma yang spesifik pada adiposa, yang dapat teridentifikasi pada cDNA adiposa manusia. Adiponektin mensupresi hampir semua proses pada perubahan vaskuler aterosklerosis (Ryo *et al*, 2004). Perubahan seluler dari aterosklerosis pada prinsipnya terdiri dari 3 fenomena seluler, yaitu adhesi monosit pada sel endothel dengan mengekspresikan molekul adhesi, pengambilan oksidasi LDL oleh makrofag melalui *scavenger receptors*, dan proliferasi dari sel otot polos yang bermigrasi dengan faktor pertumbuhan yang berasal dari platelet atau *heparin binding endothelial growth factor-like growth factor*. Adiponektin bersifat inhibitor terhadap fenomena seluler aterogenik ini. Konsentrasi fisiologis adiponektin ditunjukkan dapat menghambat ekspresi molekul adhesi secara kuat, termasuk *intracellular adhesion molecule-1* (ICAM-1), *vascular cellular adhesion molecule-1*, dan E-selectin. Adiponektin juga ditunjukkan dapat menghambat TNF- α yang diinduksi aktivasi Nf κ B melalui inhibisi dari fosforilasi I κ B yang menjadi mekanisme molekuler utama untuk inhibisi adhesi monosit pada sel endothel. Adiponektin juga menghambat ekspresi *scavenger receptor class A-1* (SR-A) dari makrofag,

sehingga menurunkan uptake dari oksidasi LDL dan inhibisi pembentukan sel busa (*foam cell*). Selain itu, adiponektin juga menghambat proliferasi dan migrasi dari sel otot polos. Inhibisi ini ditunjukkan akibat dari persaingan ikatan pada *platelet-derived growth factor* – reseptor BB pada adiponektin dan inhibisi dari transduksi sinyal melalui *extracellular signal-related kinase* (ERK). Fungsi seluler vaskuler ini menunjukkan bahwa adiponektin mempunyai efek antiaterogenik. Pada manusia, banyak faktor yang menginduksi kerusakan vaskuler, termasuk oksidasi LDL, stimuli inflamasi, dan bahan kimia. Pada keadaan ini, adiponektin disekresikan dari jaringan adiposa akan berjalan menuju arteri yang rusak dan kemudian melindungi untuk melawan perkembangan dari perubahan vaskuler aterosogenik (Matsuzawa *et al*, 2004).

Konsentrasi adiponektin yang rendah di plasma dapat ditemukan pada pasien obesitas. Selain bersifat antiaterogenik, adiponektin juga terbukti mempunyai aktivitas *insulin-sensitizing*, dan tingginya kadar adiponektin dalam plasma merupakan faktor resiko negatif untuk diabetes tipe 2 (Ryo *et al*, 2004). Adiponektin memodulasi metabolisme glukosa dengan efek sensitisasi insulin. Adiponektin juga menurunkan konsentrasi asam lemak bebas di sirkulasi dan trigliserida otot dengan menstimulasi oksidasi asam lemak di otot melalui *AMP activated protein kinase* (AMPK). Sehingga, adiponektin merupakan hormon yang menghubungkan jaringan adipose dengan metabolisme glukosa dalam tubuh (Santaniemi, 2006).

Adiponektin berhubungan dengan aktivitas vasodilatasi pembuluh darah dan konsentrasi plasmanya rendah pada pasien hipertensi esensial. Sebuah studi juga menunjukkan bahwa konsentrasi adiponektin dalam plasma secara signifikan berpengaruh terhadap setiap komponen dari sindroma metabolik (Ryo

et al, 2004). Protein adiponektin ini juga menunjukkan kadar yang rendah pada pasien penyakit jantung iskemik (Matsuzawa *et al*, 2004). Semua ini menunjukkan bahwa adiponektin mempunyai peran dalam perkembangan sindroma metabolik dan dapat menjadi marker yang bermanfaat untuk sindroma ini (Ryo *et al*, 2004).

6.4 Potensi Penggunaan Vaksin Sindroma Metabolik

Penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian bakteri *Salmonella* Thypimurium dan ajuvan sebagai bahan vaksin dapat meningkatkan kadar adiponektin dalam tubuh. Oleh karena itu, kandidat vaksin ini berpotensi untuk dikembangkan lebih lanjut. Rencana jangka panjang dari penelitian ini adalah pengujian preklinis lainnya dan nantinya dilanjutkan penelitian pada manusia dan diproduksi luas. Untuk mencapai pada tingkat pengujian pada manusia, perlu dilakukan penelitian mengenai keefektifan vaksin dan efek samping yang ditimbulkan. Metode pemberian vaksin pada manusia sama dengan metode pada hewan coba. Setelah program vaksinasi selesai, diharapkan tubuh telah memproduksi sel memori yang selanjutnya memproduksi antibodi protektif terhadap sindroma metabolik. Target pemberian vaksin sindroma metabolik ini untuk manusia dengan faktor resiko. Pemilihan potensial target ini karena penyakit ini merupakan suatu penyakit yang tidak bergejala dan tidak jarang penderitanya ditemukan sudah mengalami komplikasi seperti stroke dan penyakit jantung koroner (Brown *et al.*, 2001).

6.5 Efek Samping Pemberian Vaksin

Reaksi alergi yang serius terhadap vaksin sangat jarang terjadi. Manfaat dari vaksinasi lebih banyak dibandingkan dengan resikonya. Semua bahan

vaksin yang ada saat ini telah disetujui oleh FDA dan secara terus menerus dikontrol keamanannya. Berdasarkan data dari *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC), pada kebanyakan kasus, efek samping dari vaksin sangat minimal dan dapat hilang dengan sendirinya pada beberapa hari. Efek samping ringan yang dapat terjadi karena pemberian vaksin antara lain adalah nyeri, kemerahan, dan pembengkakan pada tempat injeksi, perasaan lelah dan lemas, pusing, gatal pada tempat injeksi, mual, dan terjadinya demam setelah pemberian vaksin (CCIC, 2013).

Selain efek samping jangka pendek tersebut, berdasarkan studi epidemiologi oleh King (2008) terdapat hubungan efek samping jangka panjang antara pemberian vaksin secara umum dengan penyakit-penyakit kronis. Penyakit-penyakit seperti asma, *chronic obstructive pulmonary disease* (COPD), diabetes, gangguan perkembangan otak dan perilaku termasuk autisme. Meskipun demikian masih dibutuhkan penelitian untuk membuktikan bahwa penyakit-penyakit tersebut benar-benar merupakan efek samping yang ditimbulkan dari vaksin tanpa terpengaruh faktor lain seperti lingkungan dan genetik (King, 2008). Vaksin dari bakteri yang dilemahkan dapat menyebabkan reaksi yang berat pada seseorang yang mengalami imunodefisiensi, seperti leukemia, obat-obatan tertentu, atau *human immunodeficiency virus* (HIV) (CDC, 2012)

Selalu berhati-hati jika ada kondisi yang tidak biasa, seperti demam tinggi, lemas, atau perubahan perilaku. Tanda-tanda dari reaksi alergi yang berat antara lain sesak nafas, *wheezing*, pucat, lemas, dan denyut jantung yang cepat (CCIC, 2013). Sebelum melakukan vaksinasi, sebaiknya menanyakan kepada pasien mengenai riwayat alergi dan reaksi setelah vaksinasi yang pernah dilakukan

sebelumnya. Reaksi anafilaksis dari vaksin atau komponen vaksin terdahulu merupakan kontra indikasi. Selalu lakukan persetujuan dengan pasien sebelum tindakan vaksinasi, baik tertulis maupun lisan. Selain itu, perlu dipastikan bahwa vaksin tersimpan dengan baik sebelum digunakan (Draper, 2013)

