

## **BAB II LANDASAN TEORI**

### **2.1 Vaksin**

Vaksin adalah suatu produk biologi yang terbuat dari kuman atau racun kuman yang telah dilemahkan [1]. Dengan kata lain vaksin merupakan antigen (mikroorganisma) yang diinaktivasi atau dilemahkan yang bila diberikan kepada orang yang sehat untuk menimbulkan antibodi spesifik terhadap mikroorganisma tersebut, sehingga bila kemudian terpapar, akan kebal dan tidak terserang penyakit. Bahan dasar membuat vaksin tentu memerlukan mikroorganisma, baik virus maupun bakteri. Menumbuhkan mikroorganisma memerlukan media tumbuh yang disimpan pada suhu tertentu. Mikroorganisma yang tumbuh kemudian akan dipanen, diinaktivasi, dimurnikan, diformulasi dan kemudian dikemas [2].

Rangkaian proses pembuatan vaksin berada dibawah regulasi cara pembuatan obat yang baik (CPOB) yang juga dikenal sebagai Good Manufacturing Practice (GMP) sehingga produk akan terjaga dalam kualitas yang baik [2].

Setiap lot yang diproduksi harus lulus pengujian mutu (Quality Control), dan jaminan mutu (Quality Assurance). Setiap lot produk yang dihasilkan akan dilaporkan pada Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) untuk kemudian diperiksa dan bila sudah lulus, BPOM akan mengeluarkan sertifikat lulus uji untuk setiap lot vaksin. Dengan demikian dapat dilihat bagaimana setiap lot yang dihasilkan sangat terjaga kualitasnya [2].

### **2.2 Tetanus**

Tetanus adalah penyakit infeksi akut disebabkan eksotoksin yang dihasilkan oleh *Clostridium tetani*, ditandai dengan peningkatan kekakuan umum dan kejangkejang otot rangka. Tetanus disebabkan oleh eksotoksin *Clostridium tetani*, bakteri bersifat obligat anaerob. Bakteri ini terdapat di mana-mana, mampu bertahan di berbagai lingkungan ekstrim dalam periode lama karena sporanya sangat kuat. *Clostridium tetani* telah diisolasi dari tanah, debu jalan, feses manusia dan binatang. Bakteri tersebut biasanya memasuki tubuh setelah kontaminasi pada abrasi kulit, luka tusuk minor, atau ujung potongan umbilikus pada neonatus; pada 20% kasus, mungkin tidak ditemukan tempat masuknya. Bakteri juga dapat masuk melalui ulkus kulit, abses, gangren, luka bakar, infeksi gigi, tindik telinga, injeksi atau setelah pembedahan abdominal/pelvis, persalinan dan aborsi. Jika organisme ini berada pada lingkungan anaerob yang sesuai untuk pertumbuhan sporanya, akan berkembang biak dan menghasilkan toksin

tetanospasmin dan tetanolysin. Tetanospasmin adalah neurotoksin poten yang bertanggungjawab terhadap manifestasi klinis tetanus, sedangkan tetanolysin sedikit memiliki efek klinis [3].

Terdapat dua mekanisme yang dapat menerangkan penyebaran toksin ke susunan saraf pusat: (1) Toksin diabsorpsi di neuromuscular junction, kemudian bermigrasi melalui jaringan perineural ke susunan saraf pusat, (2) Toksin melalui pembuluh limfe dan darah ke susunan saraf pusat. Masih belum jelas mana yang lebih penting, mungkin keduanya terlibat [4].

Tetanus memiliki gambaran klinis dengan ciri khas trias rigiditas otot, spasme otot, dan ketidakstabilan otonom. Gejala awalnya meliputi kekakuan otot, lebih dahulu pada kelompok otot dengan jalur neuronal pendek, karena itu yang tampak pada lebih dari 90% kasus saat masuk rumah sakit adalah trismus, kaku leher, dan nyeri punggung. Keterlibatan otot-otot wajah dan faringeal menimbulkan ciri khas risus sardonicus, sakit tenggorokan, dan disfagia. Peningkatan tonus otototot trunkal mengakibatkan opistotonus. Kelompok otot yang berdekatan dengan tempat infeksi sering terlibat, menghasilkan penampakan tidak simetris [3].

Diagnosis tetanus adalah murni diagnosis klinis berdasarkan riwayat penyakit dan temuan saat pemeriksaan. Pada pemeriksaan fisik dapat dilakukan uji spatula, dilakukan dengan menyentuh dinding posterior faring menggunakan alat dengan ujung yang lembut dan steril. Hasil tes positif jika terjadi kontraksi rahang involunter (menggigit spatula) dan hasil negatif berupa rel eks muntah. Laporan singkat The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene menyatakan bahwa uji spatula memiliki spesifitas tinggi (tidak ada hasil positif palsu) dan sensitivitas tinggi (94% pasien terinfeksi menunjukkan hasil positif). Pemeriksaan darah dan cairan cerebrospinal biasanya normal. Kultur C. tetani dari luka sangat sulit (hanya 30% positif), dan hasil kultur positif mendukung diagnosis, bukan konfirmasi [4].

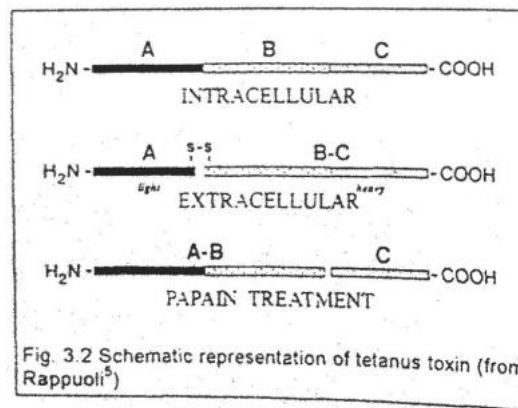
Ada tiga sasaran penatalaksanaan tetanus, yakni: (1) membuang sumber tetanospasmin; (2) menetralkan toksin yang tidak terikat; (3) perawatan penunjang (suportif) sampai tetanospasmin yang berikatan dengan jaringan telah habis dimetabolisme [3].

### **2.3 Strain Bakteri Tetanus**

*Clostridium tetani* adalah bakteri gram positif, pembentuk spora, motil, basil anaerob obligat, biasanya lebar 0,3-0,5  $\mu\text{m}$  dan panjang 2,0-2,5  $\mu\text{m}$ , sering mengembangkan sel seperti filamen gram-variabel dalam 24-48 jam budidaya pada

media buatan [5].

Berbeda dengan *C.diphtheriae*, informasi genetik toksin tetanus tampaknya berada pada plasmid. Toksin tetanus merupakan residu asam amino 1313, protein 150,5 kD yang disintesis sebagai 2 protein rantai tunggal. Setelah dilepaskan ke dalam media kultur melalui lisis sel, ia dipecah menjadi dua subunit oleh aksi protease endogen: rantai ringan terminal-NH<sub>2</sub> (fragmen A) sebesar 52,3 kD dan rantai berat terminal-COOH (fragmen BC) dari 98,3 kD, disatukan oleh jembatan disulfida yang dapat direduksi.



Gambar 2.1 Representasi Skema dari toksin tetanus [5]

Perawatan papain membagi toksin di tempat lain; itu menghasilkan NH<sub>2</sub> - fragmen terminal AB 99,0 kD dan fragmen terminal COOH C 51,5 kD. Fragmen A dan BC yang dimurnikan secara terpisah tidak beracun, tetapi toksisitas dipulihkan setelah diasosiasikan kembali. Fragmen C yang dimurnikan sepenuhnya bersifat atoksik, dan fragmen AB yang dimurnikan memiliki sisa toksisitas. Antibodi monoklonal penawar diarahkan ke fragmen A dan B serta C. Tidak seperti toksin difteri, fragmen C dari toksin Tetanus, yang dihasilkan baik dengan metode konvensional atau dengan teknologi rDNA pada *E.coli* atau pada *Pichia pastoris*, efektif dalam mengimunisasi tikus [5].

Holotoxin mengikat melalui COOH-terminal fragmen C ke gangliosida dan protein dari terminal saraf perifer, kemudian diinternalisasi dan diangkut secara retrograde ke neuron sumsum tulang belakang. Di sana fragmen A, metaloprotease yang bergantung pada Zn, mengganggu pelepasan neurotransmitter dengan secara khusus membelah synaptobrevin, salah satu protein yang terlibat dalam transmisi sinyal neurologis. Dengan membelah fusi sinaptobrevin dari vesikel presinaptik dengan membran sel dicegah. Dalam mekanisme kerja toksin tetanus ini mirip dengan toksin botulinum B, D, F dan G, yang juga merupakan protease yang bergantung pada Zn yang membelah sinaptobrevin pada posisi tertentu, dan dengan toksin botulinum A, C dan

E, yang membelah protein membran presinaptik lainnya. Dalam semua kasus, hal ini menyebabkan pemblokiran fusi vesikel presinaptik dengan membran sel, dan dengan demikian pelepasan neurotransmitter [5].

Hampir semua alur produksi tetanus yang saat ini digunakan adalah turunan dari alur Harvard yang sangat produktif, yang pertama kali dideskripsikan dengan namanya. Tidak seperti strain tetanus lainnya, strain ini memfermentasi glukosa. Pada media kultur yang digunakan untuk produksi biasanya tidak membentuk spora. Pada dasarnya ada dua garis turunan dari galur Harvard asli: galur produksi yang membutuhkan infus jantung sapi dalam media produksi, dan galur turunan dari varian yang diisolasi oleh Latham di Laboratorium Kesehatan Masyarakat Massachusetts, yang tidak memerlukannya. Strain yang terakhir ini terutama dikembangkan untuk menghindari keberadaan antigen daging dalam toksoid yang tidak dimurnikan dengan benar, yang dapat menyebabkan reaksi alergi. Penghindaran komponen medium turunan daging sapi saat ini juga dapat diindikasikan dengan adanya risiko penularan Bovine Spongiform Encephalopathy (BSE).

Strain tetanus yang digunakan untuk produksi dapat menghasilkan hingga 100 Lf toksin (setara dengan 200 ug protein toksin) per ml, atau 5% massa bakteri basahnya pada konsentrasi bakteri (massa basah) sekitar 4 mg/ml. Semua toksin terakumulasi dalam bakteri, dan hanya dilepaskan setelah lisis sel (baik pada akhir kultivasi, atau diinduksi oleh saline hipertonik) [5].

## **2.4 Alat-alat produksi**

### **a. Fermentor**

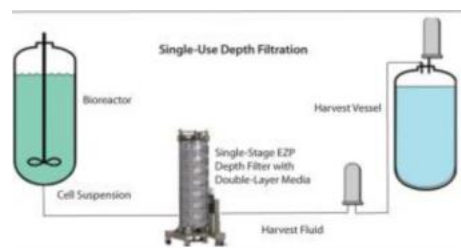
Istilah fermenter (bioreaktor) digunakan untuk tempat fermentasi. Pada prinsipnya fermenter harus menjamin pertumbuhan mikroba dan produk dari mikroba di dalam fermenter. Semua bagian di dalam fermenter pada kondisi yang sama dan semua nutrisi termasuk oksigen harus tersedia merata pada setiap sel dalam fermenter dan produk limbah seperti; panas, CO<sub>2</sub>, dan metabolit harus dapat dikeluarkan (remove). Masalah utama fermenter untuk produksi skala besar adalah pemerataan medium kultur dalam fermenter. Harus homogen artinya medium kultur harus tercampur merata. Oleh karena itu, wadah perlu didesain sedemikian rupa sehingga proses dalam wadah dapat dimonitor dan dikontrol. Wadah (fermenter) memberikan kondisi lingkungan fisik yang cocok bagi katalis sehingga dapat berinteraksi secara optimal dengan substrat. Desain fermenter mulai dari yang sederhana (tangki dengan putaran) sampai yang integrated

system dengan komputer [6].

Fermenter berdasarkan tipenya dapat dibedakan menjadi 2 jenis yaitu: (1) Septis untuk pembuatan pengembang roti, bir (brewing). (2) Aseptis untuk memproduksi fine product seperti: antibiotik, asam amino, polisakarida dan single cell protein (SCP) [6].

Skala fermenter Fermenter berdasarkan skala produksinya dapat dibedakan menjadi 2 jenis yaitu: (1) Skala kecil (small scale); untuk industri rumah tangga (home industri). (2) Skala besar (large scale); untuk industri skala besar (petrokimia industri). Masalah utama fermenter untuk produksi skala besar adalah pemerataan medium kultur dalam fermenter. Harus homogen artinya medium kultur harus tercampur merata [6].

b. Depth Filter



Gambar 2.2 Depth Filter [5]

Depth filtration adalah proses filtrasi yang memisahkan partikel-padatan yang terlarut dalam aliran cairan dengan menangkap kontaminan padatan dari fase cairan. Depth filtration menjernihkan melalui beberapa cara retensi, termasuk penyaringan, intersepsi, adsorpsi, dan absorpsi. Kemampuan untuk menghasilkan flokulan besar, kemudian difilter kembali [5].

c. Tangential Flow Filtration



Gambar 2.3 Tangential Flow Filtration [5]

TFF memanfaatkan aliran tangensial cairan melintasi permukaan

membran, yang memisahkan partikel dari fase cairan. TFF digunakan untuk mengklarifikasi bioprocess culture broths, dan menghasilkan aliran yang relatif jernih yang memerlukan filtrasi minimal. Teknologi TFF memungkinkan penggunaan membran ultrafiltrasi dengan ukuran pori yang lebih kecil daripada teknologi filtrasi lainnya. Ukuran porinya lebih kecil dari 30 Da [5].