

PEMBERIAN VAKSIN MELALUI TANAMAN TRANSGENIK

Maksum Radji

Departemen Farmasi, FMIPA Universitas Indonesia, Depok.

ABSTRACT

Vaccines have played an important role in preventive medicine since Edward Jenner discovered that cowpox induced protection against human smallpox. Until recently, a vaccination has meant a needle in the arm. However, with the increasing need for inexpensive, easily administered vaccines, along with the improvements in genetic engineering, the concept of edible vaccines is fast becoming reality. This is especially important in developing countries, where it is estimated that three to five million children die each year from common diseases, which could have easily been prevented with the proper vaccination. Compared to traditional lab-synthesized vaccines, plants are capable of producing proteins at lower cost, and need not be isolated for injection. Plant-based vaccines are also safer than traditional vaccines because they use selected sub-units of the disease rather the attenuated whole disease-causing organism.

Keyword : transgenic plants; edible vaccines.

PENDAHULUAN

Peranan vaksin dalam penanggulangan dan pencegahan penyakit infeksi telah sejak lama kita ketahui. Terutama sejak dunia terbebas dari penyakit cacar, akibat keberhasilan para peneliti dalam menghasilkan vaksin cacar yang dapat menjangkau masyarakat di selusuh pelosok terpencil sekalipun di seluruh dunia, saat ini dunia terbebas dari penyakit cacar yang mematikan itu. Keberhasilan serupa diharapkan pula oleh WHO terhadap vaksinasi polio dengan dicanangkannya dunia akan bebas polio pada tahun 2005. Sampai

dengan akhir tahun 1990-an melalui kampanye internasional terhadap penanggulangan penyakit utama penyebab infeksi seperti difteri, pertussis, polio, campak, tetanus dan tuberkulosis, lebih dari 80 % balita di seluruh dunia telah divaksinasi dengan ke-enam jenis vaksin tersebut, sehingga dapat menurunkan tingkat kematian bayi di seluruh dunia secara signifikan.

Namun demikian tidak semua program vaksinasi ini berhasil dengan baik. Sekitar 20 % bayi-bayi yang dilahirkan belum terjangkau oleh vaksinasi, sehingga tingkat kematian balita akibat penyakit infeksi

di seluruh dunia masih tinggi hingga mencapai 3-5 juta balita pertahunnya. Kondisi tersebut sangat mengkhawatirkan para pemerhati kesehatan, terutama dengan semakin tingginya mobilitas penduduk dunia dari belahan dunia yang satu ke belahan lainnya, akan mempercepat penyebaran penyakit infeksi (Arnzten, 1997).

Beberapa faktor penting penyebab kegagalan vaksinasi antara lain adalah harga vaksin yang mahal, menurunnya efeksifitas vaksin akibat distribusi yang tidak baik, cara penyimpanan vaksin yang tidak tepat, tidak adanya kotak pendingin dalam pendistribusiannya, dan sebagian besar vaksin harus diberikan dengan cara penyuntikan, dll. Keadaan ini mempengaruhi ketersediaan vaksin terutama di negara-negara miskin, dimana justru penyakit-penyakit infesi tersebut sangat tinggi angka kesakitan dan kematiannya. Keterbatasan-keterbatasan tersebut telah memacu para peneliti untuk menemukan suatu terobosan baru dalam teknologi pembuatan dan cara pemberian vaksin. Bentuk vaksin yang diminati adalah vaksin yang dapat dikonsumsi tanpa harus menyuntikkannya atau tanpa harus disimpan di ruang pendingin sehingga memudahkan pendistribusiannya.

VAKSIN EDIBEL

Untuk mengatasi kendala yang dihadapi dalam ketersediaan vaksin terutama bagi para balita yang tinggal

di negara-negara yang sedang berkembang, pada awal tahun 1990-an telah dikembangkan suatu teknologi tanaman transgenik dimana tanaman tersebut mengandung fragmen DNA yang berasal dari bakteri atau virus. Fragmen DNA bakteri atau virus yang dikloning ke dalam suatu tanaman ini merupakan gen yang akan mengkode pembentukan protein, yang biasanya dipilih protein yang terletak dipermukaan sel bakteri atau virus, sehingga bila tanaman tersebut dikonsumsi akan menghasilkan respon imun. Sistem kekebalan tubuh yang terbentuk akan dapat mengenali epitop spesifik pada permukaan sel bakteri dan virus, yang masuk ke dalam tubuh, sehingga akan terhindar dari infeksi bakteri atau virus tersebut (Haq, et al. 1995; Hood, et al.,1999).

Teknologi tanaman transgenik memiliki beberapa keuntungan yang antara lain adalah tanaman inang dapat dipilih dari jenis tanaman lokal, murah, dan dapat ditanam dengan teknologi sederhana sesuai dengan daerah tumbuhnya, dan dapat diproduksi sebanyak mungkin sesuai dengan kebutuhan. Beberapa jenis tanaman yang dipakai sebagai tanaman inang adalah pisang, tomat, kentang, padi, kedelai, wortel, jagung, kacang-kacangan dan tembakau (Haq, et al. 1995; Carrillo, et al., 2001; Daniell et al., 2001 Haq, et al., 1995; Mason et al., 1992; Tacket and Mason, 1999).

Pisang transgenik yang mengandung protein yang bersifat sebagai

vaksin yang mengandung protein yang berasal bakteri atau virus merupakan buah transgenik yang sangat diminati. Pohon pisang yang dapat tumbuh di seluruh dunia terutama di negara-negara tropis ini banyak dikonsumsi oleh penduduk. Buah pisang dapat langsung dimakan tanpa perlu dimasak terlebih dahulu, sehingga protein (vaksin) yang dikandungnya tidak mengalami degradasi oleh pemanasan.

Jika balita diberi makan pisang transgenik ini, di dalam tubuhnya akan diproduksi imunoglobulin yang dapat melindungi mereka dari penyakit infeksi. (Haq, et al., 1995). Sejak saat itu, dalam 10 tahun terakhir ini berbagai penelitian untuk memproduksi beberapa jenis protein dan imunogen untuk kebutuhan farmasi dan kedokteran telah berkembang pesat (Carrillo, et al., 2001; Daniell et al., 2001; Mor, et al., 1998; Tacket and Mason, 1999).

Vaksin yang diproduksinya akan sangat ekonomis karena tidak memerlukan sarana distribusi khusus, dan ruang pendingin seperti vaksin konvensional. Vaksin ini dikonsumsi secara oral sehingga tidak memerlukan bantuan petugas kesehatan untuk menyuntikkannya.

Dibandingkan dengan vaksin konvensional, vaksin yang dapat dimakan (*edible vaccine*) ini sangat aman karena kemungkinan untuk reversi menjadi patogen sebagaimana yang terjadi pada vaksin konvensional, yang pembuatannya dengan cara mematikan atau melemahkan sifat

virulensi dari mikroorganisme yang dipakai, tidak akan terjadi. Dalam tanaman transgenik tidak terdapat bakteri atau virus utuh melainkan hanya protein permukaan atau protein spesifik dari bakteri atau virus tersebut. Sebagai vaksin dalam bentuk yang dapat dimakan, tidak memerlukan proses pemurnian sebagaimana yang biasa dilakukan pada produksi sub-unit vaksin dengan menggunakan bakteri atau sel binatang sebagai inangnya.

Beberapa kelompok peneliti telah berhasil mengembangkan berbagai jenis vaksin yang dapat dikonsumsi ini. Vaksin edibel yang mengekspresi protein struktural dari virus mulut dan kuku (*Foot & Mouth Virus*), terbukti menginduksi respon imun pada mencit setelah diimunisasi oral maupun parenteral (Wigdorovits et al., 1999). Vaksin hepatitis B yang berasal dari *hepatitis B surface antigen* (HbsAG) telah berhasil diekspresikan dalam tanaman tembakau (Mason et al., 1992). Percobaan lain menunjukkan bahwa tanaman tembakau transgenik yang mengandung protein yang berasal dari *hepatitis B surface antigen* (HbsAG) ini setelah dicoba pada binatang coba ternyata dapat memberikan respon imun spesifik pada mencit (Thanavala et al., 1995). Untuk membuktikan apakah vaksin edibel ini dapat memberikan respon imun mukosal bila diberikan secara oral, penelitian dilakukan dengan membuat kentang transgenik yang dapat mengekspresikan protein yang berasal dari *hepatitis B surface*

antigen (HbsAG) (Kapusta et al., 1999; Richter et al., 2000). Hasil penelitian pada mencit menunjukkan bahwa vaksin transgenik ini dapat menghasilkan dan meningkatkan respon imun mukosal lebih baik dari pada vaksin yang direkayasa melalui rekombinan DNA menggunakan jamur sebagai inangnya (Kong et al., 2001; Richter et al., 2000).

UJI KLINIK

Keberhasilan berbagai penelitian yang telah dilakukan telah memacu para peneliti untuk terus mengembangkan vaksin yang berasal dari tanaman transgenik ini. Kandidat vaksin edibel yang mengandung protein yang berasal dari *labile toxin B subunit* (LT-B) dari *Enterotoxigenic Escherichia coli* (ETEC) dan protein kapsid dari virus Norwalk (NVCP), ternyata dapat memberikan respon imun yang baik jika diberikan secara oral pada binatang coba (Ball, et al., 1998; Haq, et al., 1995; Mason, et al., 1996; Mason et al., 1998).

Keberhasilan percobaan dengan binatang coba tersebut akhirnya memotivasi para peneliti untuk melakukan uji klinik fase I dan fase II untuk melihat tingkat keamanan dan efek imunogenisitasnya dari vaksin edibel yang mengandung LT-B, NVCP, dan HbsAG pada manusia (Tacket et al., 1998; Tacket et al., 2000). Berdasarkan hasil uji klinik yang dilakukan ternyata manusia yang mengonsumsi tanaman transgenik yang mengan-

dung protein yang berasal dari LT-B, NVCP, dan HbsAG, menunjukkan peningkatan respon imun mukosal dengan meningkatnya kadar imunoglobulinnya. Berdasarkan hasil tersebut memungkinkan bagi para peneliti untuk terus melanjutkan uji klinik pada fase-fase selanjutnya sebelum vaksin edibel ini digunakan dan diproduksi secara masal (Ball, et al., 1999; Tacket, et al., 1998; Tacket, et al., 2000).

Awal tahun 1998, merupakan era baru dalam cara pemberian vaksin. Para peneliti yang mendapatkan dukungan dari *National Institute of Allergy and Infectious Diseases* (NIAID), Amerika Serikat, telah berhasil membuktikan bahwa vaksin edibel dapat memberikan respon imun yang signifikan pada manusia. Vaksin edibel ini diyakini dapat menurunkan angka kesakitan dan angka kematian akibat penyakit infeksi hepatitis dan diare secara signifikan terutama di negara-negara yang sedang berkembang dimana faktor penyimpanan dan cara pemberian vaksin konvensional selama ini menjadi problem utamanya (Tacket, et al., 1998). Uji klinik yang pertama kali dilakukan untuk edibel vaksin ini bertujuan untuk mengetahui respon imun dari vaksin edibel pada manusia. Uji klinik melibatkan 14 sukarelawan sehat, dimana 11 orang diantaranya secara acak diberi makan kentang transgenik mentah, sedangkan 3 orang lainnya di beri kentang biasa. Hasil percobaan menunjukkan bahwa 10 dari 11 orang (91%) yang mengkon-

sumsi kentang transgenik menunjukkan peningkatan kadar antibodi dalam darahnya sebesar 4 kali lipat, dan 6 dari 11 (55%) orang sukarelawan menunjukkan peningkatan kadar antibodi di intestinal sebesar 4 kali lipat (Tacket, et al., 1998).

VAKSIN EDIBEL GENERASI KEDUA

Teknologi tanaman transgenik memungkinkan para peneliti untuk menyisipkan beberapa sub-unit vaksin ke dalam sebuah tanaman yang dipilihnya. Vaksin multikomponen, yang mengandung beberapa sub-unit vaksin yang dapat memberikan perlindungan terhadap beberapa mikroorganisme patogen merupakan vaksin yang sangat diinginkan. Sehingga dengan satu kali pemberian vaksin edibel tersebut akan diperoleh sistem kekebalan yang dapat melindungi tubuh dari beberapa jenis mikroorganisme patogen, sesuai dengan jenis-jenis sub-unit vaksin yang dibuat.

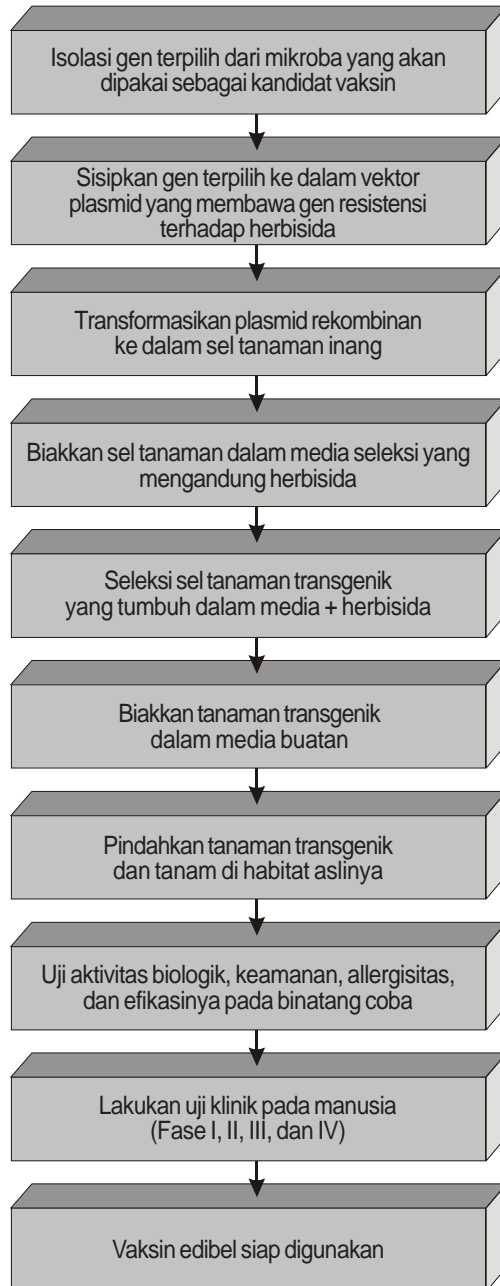
Salah satu cara untuk memproduksi vaksin multikomponen ini adalah melalui fusi epitop pada sub-unit toksin kolera (CT), dimana pada CT ini dapat dipresentasikan epitop dari rotavirus dan ETEC. Vaksin edibel yang bersifat trivalen ini dapat memberikan respon humoral dan respon selular yang dikenali oleh sel B dan sel T-helper, merupakan suatu indikasi hasil imunisasi yang baik. (Yu dan Langride, 2001).

Pada umumnya protein asing di dalam tanaman terdapat dalam jumlah yang sangat kecil yaitu sekitar 0,01 – 2 % dari total protein terlarut. Dalam uji klinik yang telah dilakukan, disebutkan bahwa kepada setiap sukarelawan diberikan 100 g kentang mentah yang mengandung LT-B dari ETEC dalam 3 dosis, untuk mengatasi efek degradasi pencernaan dan untuk meningkatkan sifat imunogenisitasnya agar menghasilkan respon imun yang diinginkan (Tacket, et al., 1998). Rendahnya kadar protein yang terdapat dalam vaksin edibel ini merupakan salah satu kelemahannya. Beberapa percobaan telah dikembangkan untuk meningkatkan akumulasi dari protein ini agar sifat imunogenisitasnya dapat ditingkatkan misalnya dengan mentransformasikan dalam plastida tomat (Daniell, et al., 2001; Ruf, et al., 2001), atau menggunakan virus tumbuhan untuk ekspresi gen asing (Nemchinov, et al., 2000) atau juga dengan cara fusi protein kapsul (Modelska, et al., 1998). Sifat imunogenisitas ini dapat juga ditingkatkan dengan menggunakan ajuvan seperti enterotoksin bakteri, immunomodulator, atau metabolit sekunder.

PENUTUP

Dengan semakin meningkatkan pergerakan manusia di dunia ini maka penyebaran penyakit yang disebabkan oleh infeksi mikroorganisme akan semakin cepat. Mere-

Gambar 1. Skema Metode Pembuatan Vaksin edibel.



baknya kejadian-kejadian penyakit infeksi yang melanda dunia akhir-akhir ini menyadarkan kita bahwa faktor perlindungan tubuh terhadap infeksi merupakan hal yang sangat penting.

Teknologi pengembangan vaksin telah berkembang sangat pesat namun tidak seluruhnya memuaskan, akibat ketersediaannya yang sangat terbatas terutama di negara miskin dan negara-negara yang sedang berkembang. Walaupun masih perlu untuk terus dikembangkan, namun hasil penelitian yang telah diperoleh dalam teknologi tanaman transgenik dimana kita dapat memproduksi vaksin yang dapat dimakan (*edible vaccines*) diharapkan dapat menjadi salah satu komponen penting dalam upaya manusia untuk mempertahankan dirinya dari penyakit infeksi.

DAFTAR PUSTAKA

- Arntzen, C.J. 1997. Edible vaccine. *Public Health Report*. 112: 190-197
- Ball, J.M., D.Y Graham, A.R. Opekun, M.A. Gilger, R.A Guerrero, and M.K Estes. 1999. Recombinant Norwalk virus-like particles given orally to volunteers: Phase I study. *Gastroenterology*. 117: 40-48.
- Ball, J.M., M.F. Hardy, R.I. Atmav, M.E. Conner, and M.K Estes. 1998. Oral immunization with Norwalk virus-like particles induces a systemic and mucosal immune response in mice. *J. Virology*. 72(2): 1345-1353.
- Carrillo, C., A.Wiggdorovitz, K. Trono, M.J. Dus Santos, S. Castanom, A.M. Sadir, R. Ordas, J.M. Escribano and M.V. Borca. 2001. Introduction of a virus-specific antibody response to foot and mouth disease virus using structural protein VP1 expressed in transgenic potato plants. *Viral Immunol*. 14: 49-57.
- Daniell H., S.J Streatfield and K. Wycoff. 2001. Medical molecular farming: Production of antibodies, biopharmaceuticals and edible vaccines in plants. *Trends Plant Sci*. 6:219-226.
- Haq T.A. H.S.Mason, J.D. Clements and C.J. Arntzen. 1995. Oral Immunization with a recombinant bacterial antigen in transgenic plants. *Science*, 268: 714-716.
- Hood, E.E. and J.M. Jilka. 1999. Plant based production of xenogenic proteins. *Curr. Opinion in Biotechnol*. 10: 382-386.
- Kapusta J., J.M. Modelska, M. Figlerowicz, T. Pniewski, M. Letellier, O. Lisowa, V. Yusibov, H. Kaprowski, A. Plucienniezak, and A.B. Legocki. 1999. A plant-derived edible vaccine against hepatitis B virus. *FASEB Journal*. 13: 1796-1799.
- Kong Q., L.Richter, Y.F. Yang, C.J.Arntzen, H.S. Mason and Y. Thanavala. 2001. Oral immunization with hepatitis B surface antigen expressed in transgenic

- plants. *Proc.Natl. Acad. Sci. USA*. 98: 11539-11544.
- Mason H.S., D.M.K.Lam and C.J. Arntzen. 1992. Expression of hepatitis B surface antigen in transgenic plants. *Proc.Natl. Acad. Sci. USA*. 89: 11745-11749.
- Mason H.S. J.M.Ball, J.J. Shi, X. Jiang, M.K. Estes and C.J.Arntzen. 1996. Expression of Norwalk virus capsid protein in transgenic tobacco and its oral immunogenicity in mice. *Proc.Natl. Acad. Sci. USA*. 93: 5335-5340.
- Mason H.S., T.A. Haq, J.D. Clements and C.J. Arntzen. 1889. Edibel vaccine protects mice against E.coli Heat-labile enterotoxin (LT): Potatoes expressing a synthetic LT-B gene. *Vaccine* 16: 1336-1343.
- Modelska A.B. Dietzschold, N. Sleysh, F.Z. Fu, K. Steplewski, D.C. Hooper, H. Koprowski and V. Yusibov. 1998. Immunization against rabies with plant-derived antigen. *Proc.Natl. Acad. Sci. USA*. 95: 2481-2485.
- Mor T.S., M.A. Gomez-Lim and K.E. Palmer. 1998. Edible vaccines: a concept comes of age. *Trends Microbiol.* 6:449-453.
- Nemchinov L.G., T.J. Liang, M.M. Rifaat, H.M. Mazyad, A. Hadidi and J.M. Keith. 2000. Development of plant-derived subunit vaccine candidate against hepatitis C virus. *Arch. Virol.* 145; 2557-2573.
- Richter L.J., Y. Thanavala, C.J. Arntzen and H.S. Mason. 2000. Production of hepatitis B surface antigen in transgenic plants for oral immunization. *Nat. Biotechnol.* 18: 1167-1171.
- Ruf S., M. Hermann, I.J. Berger, H. Carrer and R. Bock. 2001. Stable genetic transformation of tomato plattids and expression of a foreign protein in fruit. *Nat. Biotechnol.* 19: 870-875.
- Tacket C.O., H.S. Mason, G. Losonsky, J.D. Clements, S.S. Wasserman, M.M. Levine, and C.J. Arntzen. 1998. Immunogenicity in humans of a recombinant bacterial-antigen delivered in transgenic potato. *Nat Med.* 4: 607-609.
- Tacket C.O., and H.S.Mason. 1999. A review of oral vaccination with transgenic vegetables. *Microbes Infect.* 1: 777-787.
- Tacket C.O., H.S. Masin, G. Losonsky, M.K. Estes, M.M. Levine ad C.J. Arntzen. 2000. Human immune responses to novel Norwalk virus vaccine delivered in transgenic potatoes. *J. Infect .Dis.* 182:302-305.
- Thanavala Y., Y.F.Yang, P. Lyons, H.S. Mason and C.J. arntzen. 1995. Immunogenicity of transgenic plant-derived hepatitis B surface antigen. *Proc.Natl. Acad. Sci. USA*. 92: 3358-3361.
- Wigdorovitz, A., C. Carrillo, M.J. Dus Santos, K. Trono, A. Peralta, M.C. Gomes, R.d. Rios, P.M. Tranzone, A.M. Sadir, J.U. Escribano, and M.V. Borca. 1999. Induction of a protective anti-

body response to foot and mouth disease virus in mice following oral and parenteral immunization with alfalfa transgenic plants expressing the viral structural protein VP1. *Virology*. 255: 347-353.

Yu J. and W.H. Langridge. 2001. A plant-based multicomponent vaccine protects mice from enteric diseases. *Nat. Biotechnol.* 19: 548-552.