

JURNAL

Biotek Medisiana Indonesia

The Indonesian Journal of Biotechnology Medicine

**Potensi Komponen Bioaktif Air Susu Ibu terhadap Perkembangan Otak
Melalui Mekanisme Aksis Usus-Otak**

*(Siti Sarahdeaz Fazzaura Putri, Irfannuddin Irfannuddin, Krisna Murti, Yudianita Kesuma,
Hardi Darmawan, Noriyuki Koibuchi)*

**Peran Ekstrak Biji Ketumbar (*Coriandrum sativum* L.) terhadap Kolesterol dan
Glukosa Plasma Darah Tikus Obes**

(Novi Silvia Hardiany, Filda Vionita Irene de Lima, Syarifah Dewi, Irah Namirah, Fadilah)

**Designing a Bivalent Multiepitope Vaccine Against Measles Virus and
Rubella Virus Using an immunoinformatic approach**

*(Luqman Abdan Syakuran, Yasinta Nida Arroyan, Fakhri Husaini Nasution,
Annisa Rizki Yuendra, Alchita Dhia Zulfa, Hernayanti)*

**Perbandingan Variasi Konsentrasi dan Waktu Perendaman Ekstrak Batang Pohon Jati Sebagai
Pewarna Alternatif Eosin 2% pada Pemeriksaan Telur *Soil Transmitted Helminth***

(Lindah Kusumawati, Dita Pratiwi Kusuma Wardani, Ikhsan Mujahid, Muhammad Luthfi Imanfaluthi)

**Kemampuan Infeksi Virus Kimera Simian Human Immunodeficiency
Virus (SHIVst) pada Kultur Sel HT-29**

(Budiman Bela, Silvia Tri Widyaningtyas, Dora Syakina Desriana)

**Ekspresi Transien Protein Rekombinan Spike S1 SARS-CoV-2 Pada Sel CHO
(Chinese Hamster Ovary)**

(Devia Puspita Natalicka, Silvia Tri Widyaningtyas, Fera Ibrahim)

**Kadar Sekresi IL-10 Hepar Mencit Galur BALB/c Setelah Pemberian Protein Pili 65,5 kDa
*Klebsiella pneumoniae***

*(Enny Suswati, Dini Agustina, Muhammad Ali Shodikin, Diana Chusna Mufida,
Ika Rahmawati Sutejo, Tio Wisnu Pradana Putra)*

Puslitbang Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan

**Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan
Kementerian Kesehatan RI**

Jl . Percetakan Negara No.23 – JAKARTA 10560

Puslitbang Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan

Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan
Kementerian Kesehatan RI
JI . Percetakan Negara No.23 – JAKARTA 10560

Current Issue

Vol 11 No 2 (2022): Jurnal Biotek Medisiana Indonesia

Published: 2023-05-11

Articles

Potensi Komponen Bioaktif Air Susu Ibu terhadap Perkembangan Otak Melalui Mekanisme Aksis Usus-Otak

Siti Sarahdeaz Putri, Irfannuddin Irfannuddin, Krisna Murti, Yudianita Kesuma, Hardi Darmawan, Noriyuki Koibuchi

83-91

 pdf

Peran Ekstrak Biji Ketumbar (*Coriandrum sativum* L.) terhadap Kolesterol dan Glukosa Plasma Darah Tikus Obes

Novi Silvia Hardiany, Filda Vionita Irene de Lima, Syarifah Dewi, Irah Namirah, Fadilah Fadilah

93-101

 pdf

Designing a bivalent multiepitope vaccine against measles virus and rubella virus using an immunoinformatic approach

Luqman Abdan Syakurana, Yasinta Nida Arroyan, Fakhri Husaini Nasution, Annisa Rizki Yuendra, Alchita Dhia Zulfaa,

103-122

Designing a bivalent multiepitope vaccine against measles virus and rubella virus using an immunoinformatic approach

Luqman Abdan Syakurana, Yasinta Nida Arroyan, Fakhri Husaini Nasution, Annisa Rizki Yuendra, Alchita Dhia Zulfaa, Hernayanti Hernayanti 103-122



Perbandingan Variasi Konsentrasi dan Waktu Perendaman Ekstrak Batang Pohon Jati Sebagai Pewarna Alternatif Eosin 2% pada Pemeriksaan Telur Soil Transmitted Helminth

Lindah Kusumawati, Dita Pratiwi Kusuma Wardani, Ikhsan Mujahid, Muhammad Luthfi Almanfaluthi 123-132



Kemampuan Infeksi Virus Kimera Simian Human Immunodeficiency Virus (SHIVst) pada Kultur Sel HT-29

Budiman Bela, Silvia Tri Widyaningtyas, Dora Syakina Desriana 151-160



Eksresi Transien Protein Rekombinan Spike S1 SARS-CoV-2 Pada Sel CHO (Chinese Hamster Ovary)

Devia Puspita Natalicka, Silvia Tri Widyaningtyas, Fera Ibrahim 151-160



Kadar Sekresi IL-10 Hepar Mencit Galur BALB/c Setelah Pemberian Protein Pili 65,5 kDa Klebsiella pneumoniae

Enny Suswati, Dini Agustina, Muhammad Ali Shodikin, Diana Chusna Mufida, Ika Rahmawati Sutejo, Tio Wisnu Pradana Putra 161-171



[cover](#)

[Register](#) [Login](#)



Jurnal Biotek Medisiana Indonesia

The Indonesian Journal of Biotechnology Medicine



HomeAboutPeopleIssueSubmissionsAnnouncementsSearch

[Home](#) / [Editorial Team](#)

Rita Marleta Dewi, drh, M.Kes (Editor in Chief) (Scopus ID = 6507350165; h-index = 7) Centre for Research and Development of Biomedical and Basic Health Technology, National Institute of Health Research and Development (NIHRD), Ministry of Health, Republic of Indonesia [Sinta ID](#), [Orchid ID](#), [Scholar Google](#)

Anorital, SKM, M.Kes (Sinta ID = 6726066; h-index = 4) Centre for Research and Development of Public Health Efforts, National Institute of Health Research and Development (NIHRD), Ministry of Health, Republic of Indonesia [Sinta ID](#), [Scholar Google](#)

Frans Dany, dr. (Sinta ID = 6733216; h-index = 2) Centre for Research and Development of Biomedical and Basic Health Technology, National Institute of Health Research and Development (NIHRD), Ministry of Health, Republic of Indonesia [Sinta ID](#), [Scholar Google](#)

Ariyani Noviantari, S.Si. M.Biomed (Scopus ID = 57208311735; h-index = 1) Centre for Research and Development of Biomedical and Basic Health Technology, National Institute of Health Research and Development (NIHRD), Ministry of Health, Republic of Indonesia [Sinta ID](#), [Orchid ID](#), [Scholar Google](#)

Uly Alfi Nikmah, drh., M.Biomed (Scopus ID = 57190855527; h-index = 1) Centre for Research and Development of Biomedical and Basic Health Technology, National Institute of Health Research and Development (NIHRD), Ministry of Health, Republic of Indonesia [Sinta ID](#), [Scholar Google](#)

Information

[For Readers](#)

[For Authors](#)

[For Librarians](#)

Ariyani Noviantari, S.Si. M.Biomed (Scopus ID = 57208311735; h-index = 1) Centre for Research and Development of Biomedical and Basic Health Technology, National Institute of Health Research and Development (NIHRD), Ministry of Health, Republic of Indonesia [Sinta ID](#), [Orchid ID](#), [Scholar Google](#)

Uly Alfi Nikmah, drh., M.Biomed (Scopus ID = 57190855527; h-index = 1) Centre for Research and Development of Biomedical and Basic Health Technology, National Institute of Health Research and Development (NIHRD), Ministry of Health, Republic of Indonesia [Sinta ID](#), [Scholar Google](#)

Sarwo Handayani, Dra., M.Kes (Sinta ID = 6670780; h-index = 4) Centre for Research and Development of Biomedical and Basic Health Technology, National Institute of Health Research and Development (NIHRD), Ministry of Health, Republic of Indonesia [Sinta ID](#), [Scholar Google](#)

Christina Safira Whinie Lestari, dr., M.Kes., Dr. (Sinta ID = 6670782 ; h-index = 2) Centre for Research and Development of Biomedical and Basic Health Technology, National Institute of Health Research and Development (NIHRD), Ministry of Health, Republic of Indonesia [Sinta ID](#), [Scholar Google](#)

[Open Academic Journal Index \(OAJI\)](#)

00116301 [View My Stats JBMI](#)

Kadar Sekresi IL-10 Hepar Mencit Galur BALB/c Setelah Pemberian Protein Pili 65,5 kDa *Klebsiella pneumoniae*

IL-10 Secretion Levels of Liver in Mice BALB/c Strain After Administration of 65,5 kDa Pili Protein Klebsiella pneumoniae

Enny Suswati^{1*}, Dini Agustina¹, Muhammad Ali Shodikin¹, Diana Chusna Mufida¹, Ika Rahmawati Sutejo², Tio Wisnu Pradana Putra³

¹Departemen Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Jember

²Departemen Biokimia, Fakultas Kedokteran, Universitas Jember

³Mahasiswa Kedokteran, Fakultas Kedokteran, Universitas Jember

*E_mail: ennysuswati.fk@unej.ac.id

ABSTRACT

Klebsiella pneumoniae belongs to the genus *Klebsiella* in the family Enterobacteriaceae, which is often found as a nosocomial disease in hospitals. *K. pneumoniae* is easily resistant to antibiotics because it has the Extended-Spectrum-Lactamase enzyme. The death rate from this bacterium reaches 28.3% and continues to increase. This study used the organelle protein pili *K. pneumoniae*. This immune reaction can be measured by looking at the increased levels of Interleukin-10 as a post-infection resolution protein, so the aim of the study was to find a relationship between increased liver IL-10 levels and exposure to *K. pneumoniae* pili protein in mice. The variables in this study were IL-10 levels in the liver of mice and pili protein concentrations of 65.5 kDa *K. pneumoniae* in each group. The correlation analysis test of this study used the One-way Anova correlation test and continued with the Post Hoc test. This study used 21 liver samples which were divided into 3 groups. The first group is the control group given PBS, the second group is the treatment group with pili protein, and the third group is the adjuvant group. Liver samples were processed using Sandwich ELISA. The results showed an increase in IL-10 levels in the treatment group given the pili protein 65.5 kDa *Klebsiella pneumoniae*. The data also showed differences in the total mean of each group in IL-10 levels after administration of *K. pneumoniae* pili protein ($p=0.008$). The treatment group had the highest mean levels of IL-10 so there was an increased relationship between exposure to pili protein and IL-10 levels in mice based on crude data. There was a significant increase in IL-10 levels in the treatment group compared to the adjuvant group and there was an average increase in IL-10 levels in the treatment group compared to the control group, although statistically the increase was not different and the relationship increased significantly. *M.*

Keywords: *Klebsiella pneumoniae*, Interleukin-10, pili protein 65,5 kDa.

ABSTRAK

Klebsiella pneumoniae termasuk genus *Klebsiella* dalam famili Enterobacteriaceae, sering ditemukan sebagai penyakit nosokomial di rumah sakit. *K. pneumoniae* termasuk bakteri mudah resisten terhadap antibiotik dikarenakan memiliki enzim Extended Spectrum β -Lactamase. Tingkat kematian akibat bakteri ini mencapai 28,3% dan terus meningkat. Penelitian ini menggunakan organel protein pili *K. pneumoniae*. Reaksi imun ini dapat diukur dengan melihat peningkatan kadar Interleukin-10 sebagai protein resolusi pasca infeksi sehingga tujuan penelitian menemukan hubungan peningkatan kadar IL-10 hepar terhadap paparan protein pili *K. pneumoniae* pada mencit. Variabel penelitian ini adalah kadar IL-10 pada hepar mencit dan kadar konsentrasi protein pili 65,5 kDa *K. pneumoniae* pada setiap kelompok. Uji analisis korelasi penelitian ini menggunakan uji korelasi One-way Anova dan dilanjutkan dengan uji Post Hoc. Penelitian ini menggunakan 21 sampel hepar yang dibagi dalam 3 kelompok. Kelompok pertama adalah kelompok kontrol dengan pemberian PBS, kelompok kedua adalah kelompok perlakuan dengan pemberian protein pili, dan kelompok ketiga adalah kelompok adjuvan. Sampel hepar diproses dengan menggunakan Sandwich ELISA. Hasil penelitian menunjukkan peningkatan kadar IL-10 pada kelompok perlakuan yang diberikan protein pili 65,5 kDa *Klebsiella pneumoniae*. Data juga menunjukkan perbedaan mean total setiap kelompok pada kadar IL-10 setelah pemberian protein pili *K. pneumoniae* ($p=0,008$). Kelompok perlakuan memiliki mean kadar IL-10 tertinggi sehingga terdapat hubungan peningkatan antara paparan protein pili dengan kadar IL-10 pada mencit secara data kasar. Peningkatan kadar IL-10 signifikan terdapat pada kelompok perlakuan dibanding kelompok adjuvan dan terdapat peningkatan rata-rata kadar IL-10 pada kelompok perlakuan dibandingkan dengan kelompok kontrol meskipun secara statistik peningkatan tidak berbeda dan hubungan peningkatan secara signifikan.

Kata kunci: *Klebsiella pneumoniae*, Interleukin-10, protein pili 65,5 kDa.

Pendahuluan

Klebsiella pneumoniae termasuk genus *Klebsiella* dalam famili Enterobacteriaceae, yang menjadi flora normal kulit dan mulut serta hidup bebas di tanah, air maupun tanaman. Penyakit yang sering disebabkan *K. pneumoniae* adalah infeksi saluran pernafasan, infeksi saluran kemih hingga sepsis. *K. pneumoniae* paling sering ditemukan sebagai penyakit nosokomial di rumah sakit¹. Sebanyak 477 pasien terdiagnosis infeksi *K. pneumoniae*, memiliki tingkat morbiditas tinggi ditandai masuknya pasien ke ICU sebanyak 63,3% dan tingkat kematian sebanyak 28,3%. *K. pneumoniae* merupakan penyumbang terbesar angka penyebab pneumoniae yaitu sebesar 56,25 % dibandingkan dengan *Streptococcus pneumoniae* (18,25 %)².

Klebsiella pneumoniae termasuk bakteri mudah resisten terhadap antibiotik dikarenakan memiliki enzim *Extended Spectrum β -Lactamase* yang membuat bakteri ini beradaptasi terhadap antibiotik. Penelitian oleh Nirwati (2019) menemukan sebanyak 91 sampel dari 167 sampel (54,5%) *K. pneumoniae* merupakan jenis yang resisten terhadap berbagai jenis antibiotik atau Multi Drug Resistance (MDR). Infeksi *K. pneumoniae* yang resisten antibiotik di Indonesia relatif tinggi, terlihat dari penelitian tahun 2019 yang menyimpulkan sebanyak 112 dari 213 sampel *K. pneumoniae* resisten terhadap ampicilin dan 91 sampel resisten terhadap seftriakson³. Penelitian oleh Osman (2019) juga menemukan tingkat kematian akibat sepsis pada 72 sampel oleh *K. pneumoniae* yang memproduksi β -laktamase.

Penelitian sebelumnya membuktikan perlunya pencegahan yang adekuat, salah satunya adalah vaksin terhadap *K. pneumoniae*^{4,5}.

Pili *K. pneumoniae* berfungsi memfasilitasi adhesi pada sel eukariotik. Protein pili *K. pneumoniae* juga digunakan dalam berinteraksi dengan makrofag, pembentukan biofilm, dan agregasi bakteri. Menggunakan mekanisme tersebut, protein pili *K. pneumoniae* dapat memicu pembentukan imun tubuh inang⁶. Proses kontaminasi *K. pneumoniae* melibatkan sistem imun seperti sitokin dan kemokin, mencakup TNF- α , IL-6, dan IL-10. Vaksin dari protein pili memiliki beberapa kelebihan yaitu tidak memiliki banyak sub tipe dan dimiliki oleh seluruh strain *K. pneumoniae* sehingga diharapkan vaksin jenis ini memiliki cakupan yang luas⁷.

Vaksin memanfaatkan sitokin sebagai respon kekebalan tubuh. Proses ini melalui hubungan timbal balik antara sitokin pro inflamasi (TNF- α) dan anti inflamasi (IL-10). *K. pneumoniae* menginfeksi tubuh dan memicu IL-10 (*Interleukin-10*) melakukan clearance terhadap bakteri^{8,9}. IL-10 dihasilkan oleh sel Th2 (*T helper 2*) yang merupakan produsen dari sel B memori yang merupakan hasil akhir yang ingin dicapai dari vaksin. Sel B memori dapat mengingat antigen yang masuk pada masa mendatang sehingga dapat mengurangi penyebaran infeksi. Sel Th2 apabila merespon pengeluaran IL-10, maka sel Th2 juga merespon pada produksi sel B memori⁹. IL-10 bersirkulasi melalui vaskuler dan deposit terbesar ditemukan pada lien dan hepar.

Pemberian intraperitoneal juga memaksa sirkulasi obat untuk melewati vena porta hepatica sehingga detoksifikasi dari antigen dengan IL-10 serta ekskresi antigen dan antibodi akan berfokus pada hepar. Hepar menjadi pusat metabolisme dan detoksifikasi antigen protein pili *K. pneumoniae* menyebabkan pemeriksaan kadar IL-10 melalui ELISA pada hepar menjadi mudah.

Oleh karena itu, IL-10 pada hepar dipilih menjadi parameter keberhasilan protein pili *K. pneumoniae* memicu pembentukan imun sebagai promotor vaksin¹⁰. Belum ada vaksin *K. pneumoniae* yang berlisensi FDA (Food and Drug Administration) maupun BPOM. Penelitian ini merupakan penelitian lanjutan dari penelitian sebelumnya yang menggunakan metode sama, namun dengan penggunaan berat massa protein pili berbeda, yaitu 38,6 kDa dengan pemeriksaan IL-10 melalui serum. Pemilihan 65,5 kDa dikarenakan pemeriksaan berat massa pili penelitian sebelumnya ditemukan band tertebal pada 65,5 kDa yang merupakan tanda berat molekul protein terbanyak, sehingga diharapkan efek pembentukan antibodi dapat maksimal. Beberapa pendekatan teraupetik berfokus pada pembentukan imun terbukti berhasil, sehingga peneliti berharap penelitian ini membuka jalan dalam pengembangan vaksin sebagai salah satu bentuk preventif memerangi infeksi *K. pneumoniae*⁶.

Metode

Penelitian ini merupakan eksperimental murni dengan model dengan *randomized post test only controlled grup design*. Penelitian menggunakan 3 kelompok mencit dengan pembagian untuk kelompok pertama menggunakan mencit yang diberikan PBS 200 μ L secara intraperitoneal. Kelompok kedua diberikan larutan PBS sebanyak 192 μ L ditambah dengan 8 μ L larutan protein pili 65,5 kDa *Klebsiella pneumoniae*. Kelompok 3 menggunakan larutan adjuvan dengan menggunakan *freund's adjuvant* dengan perbandingan IFA (*incomplete freunds's adjuvant*) sebesar 100 L dan CFA (*complete freunds's adjuvant*) sebesar 100 L.

Penelitian diawali dengan Uji Kelayakan etik, Identifikasi Berat molekul protein pili *K. pneumoniae*,

Pemurnian dari protein pili, Uji hemaglutinasi, Induksi mencit dengan protein pili, dan diakhiri dengan pengukuran kadar IL-10 hepar dengan metode *Sandwich ELISA*. Penelitian dilakukan di Laborarium FMIPA (Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan) UNEJ (Universitas Jember) dan Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran UNEJ.

Populasi penelitian ini adalah mencit jantan putih galur BALB/c yang akan diekstrasi organ hepar nya.

Sampel penelitian adalah 21 buah hepar dari mencit jantan galur BALB/c berusia 6-8 minggu dengan berat \pm 25-gram yang berada dalam keadaan baik tanpa adanya kerusakan pada sampel. Kriteria eksklusi penelitian ini adalah sampel rusak dikarenakan penyimpanan pada penelitian sebelumnya. Sampel rusak ditandai dengan perubahan warna menjadi kekuningan dan adanya deposit debris berlebih pada permukaan sampel¹¹.

Besar sampel keseluruhan yang dibutuhkan dalam penelitian ini yaitu 21 buah yang dibagi dalam 3 kelompok, masing-masing terdiri dari 7 buah. Total sampel dihitung dengan menggunakan G power¹². Perlakuan yang pertama adalah identifikasi berat molekul protein pili *K. pneumoniae*. Identifikasi berat protein pili *K. pneumoniae* molekul dilakukan dengan SDS PAGE menurut metode penelitian Laemmli¹³. Pada uji ini ditemukan berat molekul dengan tingkat protein paling banyak pada 65,5 kDa. Identifikasi protein pili dilaksanakan pada 20-29 Oktober 2020.

Langkah yang kedua, pemurnian dan pengukuran konsentrasi protein pili *K. pneumoniae*. Berat protein yang membentuk *band* gel hasil elektroforesis dihitung dan dipotong sesuai berat yang diperlukan. Hasil potongan *band* dikumpulkan dan dimasukkan dalam lembar *nitrosellulosa*

untuk dilakukan elektroelusi dalam elektroforesis horizontal *chamber* yang telah terisi *buffer*. Pemurnian protein pili *K. pneumoniae* dilaksanakan pada 18-20 November 2020 dan pengukuran konsentrasi pada 29 Desember 2020.

Langkah yang ketiga, uji hemaglutinasi menunjukkan hasil titer tertinggi yaitu 1/8. Uji hemaglutinasi digunakan sebagai sarana untuk mengukur tingkat patogenitas dari bakteri *K. pneumoniae*¹¹. Uji hemaglutinasi dilaksanakan pada bulan 11 Januari 2021.

Langkah yang keempat, Induksi Mencit dengan Protein Pili. Lakukan aklimatisasi selama 7 hari pada mencit. Setelah 7 hari, mencit dirandomisasi sebelum dilakukan induksi sesuai kelompok perlakuan. Adapun terdapat tiga kelompok perlakuan yakni kelompok 1 diberi PBS, kelompok 2 diberi antigen protein pili dan *freund's adjuvant*, kelompok 3 diberi *freund's adjuvant* saja. Induksi dilakukan secara intraperitoneal sebanyak 3x dengan interval selama 14 hari¹⁴. Dosis antigen yang digunakan untuk tiap ekor yaitu 50 µg¹⁵, dengan *freund's adjuvant* dalam volume yang sama dengan antigen yang diencerkan dalam PBS. *Priming* digunakan CFA, sementara untuk *booster* digunakan IFA. Berikut merupakan pengukuran dosis induksi untuk setiap mencit.

Langkah yang terakhir, Pengukuran Kadar IL-10 Hepar dengan Metode *Sandwich* ELISA. Penelitian ini menggunakan produk dari BT LAB dengan metode yang digunakan adalah *Sandwich* ELISA.

Pengukuran menggunakan pipet ukur mikroliter untuk mengukur jumlah larutan yang akan diberikan pada mencit. *ELISA reader* juga digunakan dalam pengukuran. Pengukuran kadar menggunakan metode *Sandwich* ELISA dan analisa menggunakan *ELISA reader* untuk mengukur kadar absorbansi yang akan dimasukkan kedalam rumus dari kurva standar.

Kurva akan membentuk rumus pada x dan y, x untuk konsentrasi IL-10 dan y untuk absorbansi IL-10.

Peneliti memilih uji normalitas *Shapiro wilk* karena data berjumlah <50 dan uji homogenitas data menggunakan *Bartlett Test*, pengujian homogenitas menggunakan *Levene Test*. Data variabel independen menggunakan data kualitatif yaitu pengujian dari kelompok mencit dibagi dalam 3 kelompok serta variabel dependen menggunakan data kuantitatif yaitu kadar IL-10 pada hepar mencit masing-masing kelompok¹⁶. Setelah dilakukan uji One-way Anova maka dilakukan uji Post Hoc.

Hasil

Data sampel menggunakan data duplet atau melakukan pengulangan sebanyak 2 kali pada setiap sampel. Hal itu juga dilaksanakan pada larutan standar sehingga absorbansi dimasukan rumus pada kurva larutan standar. Pengambilan data absorbansi menggunakan ELISA (*enzyme linked immunosorbent assay*).

Pada Gambar 1 dapat dilihat adanya sumuran yang merupakan tempat uji dari IL-10 dengan menggunakan metode *sandwich* ELISA. Gambar 2 menunjukkan total jumlah sampel ELISA. 12 sumuran pertama digunakan untuk larutan standar dan 42 sumuran selanjutnya untuk mengukur IL-10 hepar. 42 sumuran selanjutnya digunakan untuk mengukur IL-10 pada lien mencit sehingga total 96 sumuran.

Tabel 1, tabel 2, dan tabel 3 menunjukkan data konsentrasi IL-10 setelah data dimasukan pada rumus $y=0,0009x+0,25$ (Gambar 3), y menggambarkan absorbansi IL-10 dan x menggambarkan konsentrasi IL-10. Kurva standar digunakan sebagai dasar penentuan konsentrasi IL-10. Kurva standar sangat berpengaruh pada konsentrasi sampel.

Kelompok kontrol menunjukkan konsentrasi terendah pada 344,44 pg/mL dan kadar tertinggi adalah 472,22 pg/mL. Mean pada kelompok kontrol adalah $394,6 \pm 43,9$

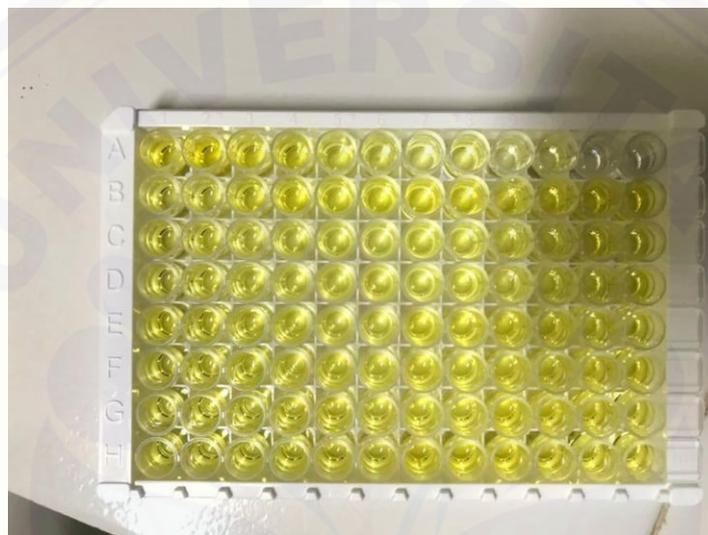
pg/mL. Konsentrasi juga hampir merata pada setiap kelompok sampel. Rata-rata dari nilai normal digunakan sebagai nilai normal penelitian (Tabel 1).

Kelompok perlakuan menunjukkan konsentrasi terendah pada 365,6 pg/mL dan kadar tertinggi adalah 598,9 pg/mL. Mean pada kelompok perlakuan adalah $454,3 \pm 74,1$ pg/mL (Tabel 2). Terjadi peningkatan pada kadar tertinggi dan rata-rata apabila

dibandingkan dengan data pada kelompok kontrol.

Kelompok adjuvan menunjukkan konsentrasi terendah pada 237,2 pg/mL dan kadar tertinggi adalah 412,7 pg/mL. Mean pada kelompok adjuvan adalah $340,5 \pm 56,6$ pg/mL (Tabel 3). Data pada kelompok adjuvan cenderung rendah dibandingkan kelompok kontrol dan perlakuan

Gambar 1. Sumuran ELISA

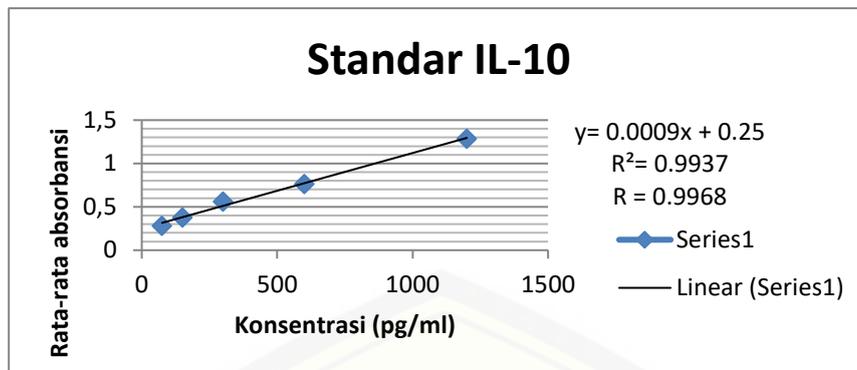


Gambar 2. Hasil ELISA reader

	1	2	3	4	5	6
A	001 1.322	002 1.254	003 0.772	004 0.759	005 0.587	006 0.540
B	013 0.662	014 0.560	015 0.774	016 0.615	017 0.598	018 0.626
C	025 0.579	026 0.575	027 0.497	028 0.579	029 0.582	030 0.615
D	037 0.536	038 0.627	039 0.669	040 0.534	041 0.625	042 0.618
E	049 0.585	050 0.537	051 0.445	052 0.482	053 0.438	054 0.630
F	061 0.601	062 0.603	063 0.534	064 0.559	065 0.635	066 0.570
G	073 0.556	074 0.600	075 0.522	076 0.514	077 0.535	078 0.581
H	085 0.534	086 0.536	087 0.533	088 0.514	089 0.503	090 0.791

	7	8	9	10	11	12
A	007 0.372	008 0.381	009 0.284	010 0.278	011 0.154	012 0.190
B	019 0.735	020 0.633	021 0.580	022 0.601	023 0.725	024 0.675
C	031 0.677	032 0.577	033 0.656	034 0.616	035 0.789	036 0.684
D	043 0.543	044 0.542	045 0.619	046 0.574	047 0.602	048 0.550
E	055 0.640	056 0.387	057 0.582	058 0.715	059 0.512	060 0.572
F	067 0.657	068 0.571	069 0.666	070 0.582	071 0.835	072 0.522
G	079 0.657	080 0.508	081 0.585	082 0.526	083 0.717	084 0.534
H	091 0.586	092 0.679	093 0.613	094 0.524	095 0.499	096 0.614

Gambar 3. Kurva Larutan Standar



Tabel 1. Data absorbansi dan konsentrasi IL-10 pada sampel hepar kelompok kontrol

No	Pengulangan	Absorbansi (nm)	Konsentrasi (pg/mL)
1.	K1.1.1	0,662	344,4444444
	K1.1.2	0,56	
2.	K1.2.1	0,774	405,5555556
	K1.2.2	0,615	
3.	K1.3.1	0,598	386,6666667
	K1.3.2	0,626	
4.	K1.4.1	0,735	425,5555556
	K1.4.2	0,633	
5.	K1.5.1	0,58	366,6666667
	K1.5.2	0,601	
6.	K1.6.1	0,725	472,2222222
	K1.6.2	0,675	
7.	K1.7.1	0,579	361,1111111
	K1.7.2	0,575	
Mean			394 ±43,9

Tabel 2. Data absorbansi dan konsentrasi IL-10 pada sampel hepar kelompok perlakuan

No.	Pengulangan	Absorbansi (nm)	Konsentrasi (pg/mL)
1.	K2.1.1	0,497	365,5555556
	K2.1.2	0,579	
2.	K2.2.1	0,582	405,5555556
	K2.2.2	0,615	
3.	K2.3.1	0,677	474,4444444
	K2.3.2	0,577	
4.	K2.4.1	0,656	451,1111111
	K2.4.2	0,616	
5.	K2.5.1	0,789	598,8888889
	K2.5.2	0,684	
6.	K2.6.1	0,536	418,8888889
	K2.6.2	0,627	
7.	K2.7.1	0,669	465,5555556
	K2.7.2	0,534	
Mean			454,3 ±74,1

Tabel 3 Data absorbansi dan konsentrasi IL-10 pada sampel hepar kelompok adjuvan

No.	Pengulangan	Absorbansi (nm)	Konsentrasi (pg/mL)
1.	K2.1.1	0,625	412,7777778
	K2.1.2	0,618	
2.	K2.2.1	0,543	325
	K2.2.2	0,542	
3.	K2.3.1	0,619	385
	K2.3.2	0,574	
4.	K2.4.1	0,602	362,2222222
	K2.4.2	0,55	
5.	K2.5.1	0,585	345,5555556
	K2.5.2	0,537	
6.	K2.6.1	0,445	237,2222222
	K2.6.2	0,482	
7.	K2.7.1	0,438	315,5555556
	K2.7.2	0,63	
Mean			340,5 ±56,6

Uji perbedaan mean menunjukkan hasil $p=0,008$ dengan menggunakan uji *One-way Anova*. Data menunjukkan secara statistik terdapat peningkatan kadar IL-10 pada mencit setelah pemberian protein pili *K. pneumoniae*. Nilai p dikatakan ada perbedaan mean signifikan pada setiap kelompok pada hepar mencit akibat pemberian protein pili apabila $p<0,05$.

Hasil uji *Post Hoc* menggunakan metode *Bonferonni*. Perbandingan variabel kontrol dengan perlakuan menunjukkan nilai $p=0,231$ yang berarti kadar IL-10 pada kelompok kontrol tidak memiliki perbedaan mean yang signifikan dibandingkan dengan kelompok perlakuan.

Uji selanjutnya membandingkan antara kelompok perlakuan dan kelompok adjuvan menunjukkan nilai $p=0,006$ yang berarti adanya perbedaan mean yang signifikan antara kelompok perlakuan dengan adjuvan. Uji terakhir adalah kelompok adjuvan dengan kelompok kontrol menunjukkan nilai $p=0,318$ berarti nilai mean yang tidak signifikan berbeda antara adjuvan dan kontrol.

Pembahasan

Peneliti menyimpulkan terjadi peningkatan kadar IL-10 dan kadar IL-10 tertinggi pada kelompok perlakuan. Kelompok kontrol menjadi nilai normal IL-10 pada suatu percobaan.

Nilai normal IL-10 kurang dari mean kelompok perlakuan namun lebih dari kelompok adjuvan¹⁷. Urutan mean kadar IL-10 tertinggi seharusnya mulai dari kelompok perlakuan, kelompok adjuvan, dan diikuti kelompok kontrol namun pada penelitian ini urutan mean kadar IL-10 tertinggi dari kelompok perlakuan, kelompok kontrol dan kelompok adjuvan.

Uji *Post Hoc* menunjukkan hasil perbedaan signifikan pada kelompok perlakuan dibandingkan kelompok adjuvan. Hasil ini disebabkan karena tingkat imunogen dari protein pili jauh lebih tinggi dibandingkan dengan adjuvan. Protein pili memicu sistem imun secara spesifik dengan membentuk anti-*K. pneumoniae*. Adjuvan menggunakan *freund's adjuvant* memicu sistem imun secara menyeluruh dan tidak spesifik.

Hal ini membuat perbedaan mean kadar IL-10 antara kelompok perlakuan dan kelompok adjuvan terdapat perbedaan signifikan¹⁸.

Kelompok kontrol dibandingkan dengan kelompok perlakuan dan kelompok kontrol dibanding adjuvan tidak menunjukkan perbedaan mean yang signifikan. Ada dua faktor yang kemungkinan memengaruhi hasil uji kadar IL-10 pada mencit. Faktor yang pertama, mencit merasa stres akibat pemberian larutan PBS, protein pili, dan adjuvan secara intraperitoneal. Stres memicu peningkatan kadar sitokin pada mencit melalui mekanisme *positive feedback*. Sitokin dikeluarkan saat terjadi respon stres untuk menurunkan permeabilitas *triptofan* dan menyebabkan penurunan neurotransmisi serotonergik yang berakibat pada stres. Faktor tersebut dapat memengaruhi hasil yang diberikan terutama pada kelompok kontrol yang seharusnya memiliki kadar IL-10 terendah^{19,20}.

Faktor yang kedua terdapat perbedaan mekanisme pertahanan imun pada masing-masing mencit. Perbedaan mekanisme imunitas menimbulkan kadar IL-10 yang berbeda masing individu. Setiap mencit memiliki variasi antibodi yang memberikan respon imun berbeda. Perbedaan imunitas ini dapat kita lihat pada salah satu individu pada kelompok adjuvan dengan kadar IL-10 237,22 pg/mL. Perbedaan ini terpaut jauh apabila kita bandingkan dengan mean kelompoknya. Hal ini dapat mengaburkan hasil penelitian meskipun peneliti sudah memilih galur mencit BALB/c yang memiliki variasi paling rendah dibandingkan dengan galur lain, namun kemungkinan perbedaan variasi antibodi masih ada²¹.

Penelitian lain yang dilaksanakan oleh Won-Hee Lee (2015) mendapatkan

peningkatan yang signifikan pada kadar IL-4 yang merupakan satu keluarga dengan IL-10. IL-4 berfungsi sebagai *anti inflammatory* dengan hasil akhir berupa pengeluaran sel B memori yang akan diedarkan ke seluruh tubuh. Penelitian Won-Hee Lee menggunakan vesikel ekstraseluler dari *K. pneumoniae* yang disuntikan secara intra peritoneal ke dalam mencit dengan tujuan mencari kandidat vaksin terbaik namun pada penelitian ini tingkat kematian dari mencit masih terlalu tinggi dengan pemberian *lethal dose K. pneumoniae* sebesar (1×10^8 CFU) sehingga masih diperlukan penelitian lebih lanjut²². Penelitian serupa oleh Gaowei Hu (2022) yang membandingkan efektivitas antara pemberian *K. pneumoniae* secara IWB (*inactivated whole bacteria*) dengan *outer membrane phosphoprotein* dengan 3x pemberian secara intraperitoneal. Penelitian ini menggunakan strain dengan berat molekul 38 kDa dan didapatkan peningkatan IL-4 3x lebih tinggi dari normal dan mencit yang telah diimunisasi diberikan *K. pneumoniae* dengan dosis letal. IL-4 masih satu keluarga dengan IL-10 dengan efek yang hampir sama. Mencit yang telah diimunisasi dengan IWB dan *outer membrane phosphoprotein* memiliki tingkat survivalitas tinggi dengan minim kerusakan organ mencit. Penelitian ini membuktikan *Outer membrane protein* memiliki kemungkinan untuk dapat digunakan sebagai kandidat vaksin²³.

Hasil penelitian ini berbeda, seharusnya terdapat perbedaan mean signifikan antara kelompok perlakuan dan kelompok kontrol secara statistik. Protein pili *K. pneumoniae* sebenarnya berhasil menimbulkan respon imun inang diperlihatkan dengan peningkatan mean kadar IL-10 pada kelompok perlakuan yang melebihi nilai mean kelompok kontrol. Hal ini dapat terjadi karena protein pili memicu sel T dan sel B

untuk opsonisasi protein pili dan menimbulkan peningkatan kadar pada IFN (*Interferon*) sebagai pro inflamasi. Respon humoral (antibodi) berperan penting mengendalikan infeksi *K. pneumoniae*. Pada mencit yang telah diinfeksi *K. pneumoniae*, antibodi anti-*K. pneumoniae* mencit menyebabkan respons protektif berupa sel T *helper* yang akhirnya menjadi IL-10²⁴.

Infeksi dianggap tidak ada apabila tidak terjadi peningkatan kadar IL-10 dan pemberian protein pili *K. pneumoniae* sebagai pemicu pembentukan sistem imun dianggap gagal²⁵.

Kelompok adjuvan menunjukkan mean kadar IL-10 terendah pada penelitian ini. Secara teori, mean kadar IL-10 kelompok adjuvan harus lebih tinggi dari mean kelompok kontrol. Kelompok adjuvan pada penelitian ini berfungsi untuk melihat dan membandingkan efektivitas protein pili sebagai antigen. Adjuvan kedepannya akan ditambahkan ke antigen untuk membantu memicu imun. Protein pili dianggap sebagai pemicu imun lemah dibandingkan dengan organel lain dari *K. pneumoniae* sehingga dibutuhkan *booster* dari pemicu imun (*immunopotentiator*) yaitu *freund's adjuvant*. Kadar pemberian adjuvan sudah sesuai yaitu kadar maksimal <0,2 mL pada pemberian hanya CFA (*Complete Freund's Adjuvant*). Penelitian ini adjuvan dicampur antara CFA dan IFA (*Incomplete Freund's Adjuvant*) sebanyak 0,05 ml masing-masing. IFA diharapkan mampu memicu Th2 (T *helper* 2) yang bertugas membentuk sel B memori. IFA berisi organel dari *M. tuberculosis* sehingga tidak seimmunopoten CFA. Hal ini dapat menjadi salah satu faktor rendahnya peningkatan kadar IL-10 selain adanya perbedaan variasi imunitas pada mencit pada kelompok adjuvan²⁶.

Penelitian ini memperlihatkan protein

pili sebagai kandidat vaksin *K. pneumoniae* berhasil memicu respon imun jika membandingkan mean dengan kelompok adjuvan namun tidak memiliki perubahan mean yang signifikan jika dibandingkan dengan kelompok kontrol. Kelompok perlakuan tetap memiliki mean paling tinggi. Alasan tidak signifikannya mean antara kelompok kontrol dan perlakuan karena adanya faktor stres pada mencit saat pemberian PBS (*Phosphate Buffer Saline*) secara IP (*Intraperitoneal*) sehingga meningkatkan kadar IL-10 jauh melebihi dari kelompok adjuvan dan mendekati mean pada kelompok kontrol dan juga faktor perbedaan variasi imunitas pada mencit.

Kesimpulan

Kesimpulan penelitian ini adalah terdapat peningkatan kadar IL-10 pada mencit jantan galur BALB/c yang diberikan protein pili 65,5 kDa *Klebsiella pneumoniae* secara intraperitoneal. Kelompok perlakuan atau kelompok dengan pemberian protein pili 65,5 kDa *K. pneumoniae* menunjukkan kadar IL-10 tertinggi diantara semua kelompok. Terdapat hubungan antara peningkatan kadar IL-10 hepar terhadap paparan protein pili *K. pneumoniae* pada mencit jantan galur BALB/c apabila melihat data peningkatan kadar IL-10 secara kasar. Data juga menunjukkan perbedaan mean total setiap kelompok pada kadar interleukin-10 setelah pemberian protein pili *K. pneumoniae* pada *One way Anova* namun pada uji *Post Hoc*, perbedaan mean kurang signifikan pada kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol yang membuat tidak adanya pengaruh dan hubungan pemberian protein pili 65,5 kDa terhadap kadar IL-10 pada mencit secara statistik.

Ucapan Terima Kasih

Penelitian ini telah didanai oleh Hibah Kelompok Riset Universitas Jember.

Saran

Saran pada penelitian selanjutnya diperlukannya penelitian lebih lanjut tentang efek samping dan sifat imunogenik protein pili 65,5 kDa *Klebsiella pneumoniae* pada mencit galur BALB/c.

Daftar Rujukan

- Dewi N, Tarini NMA, Fatmawati NND. Deteksi Gen fimH Pada Isolat Klinis *Klebsiella pneumoniae* Di RSUP Sanglah Denpasar. *E-Jurnal Med.* 2019;8(4).
- Fasciana T, Gentile B, Aquilina M, et al. Co-existence of virulence factors and antibiotic resistance in new *Klebsiella pneumoniae* clones emerging in south of Italy. *BMC Infect Dis.* 2019;19(1):1-10. doi:10.1186/s12879-019-4565-3
- Virawan H, Nuryastuti T, Nirwati H. Multidrugresistant *Klebsiella pneumoniae* from clinical isolates at dr. Soeradji Tirtonegoro central hospital Klaten. *J Kedokt dan Kesehat Indones.* 2020;11(2):109-120. doi:10.20885/jkki.vol11.iss2.art3
- Nirwati H, Sinanjung K, Fahrnunissa F, et al. Biofilm formation and antibiotic resistance of *Klebsiella pneumoniae* isolated from clinical samples in a tertiary care hospital, Klaten, Indonesia. *BMC Proc.* 2019;13(Suppl 11):1-8. doi:10.1186/s12919-019-0176-7
- Russo T. Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*. 2019;32(3):1-42.
- Arato V, Raso MM, Gasperini G, Scorza FB, Micoli F. Prophylaxis and treatment against *klebsiella pneumoniae*: Current insights on this emerging anti-microbial resistant global threat. *Int J Mol Sci.* 2021;22(8). doi:10.3390/ijms22084042
- Joseph L, Merciecca T, Forestier C, Balestrino D, Miquel S. From *klebsiella pneumoniae* colonization to dissemination: An overview of studies implementing murine models. *Microorganisms.* 2021;9(6). doi:10.3390/microorganisms9061282
- Paczosa MK. *Klebsiella pneumoniae* : Going on the Offense with a Strong Defense. *Microbiol Mol Biol Rev.* 2016;80(3):629-661. doi:10.1128/MMBR.00078-15.Address
- Gonzalez S, Peñaloza HF, Budnick JA, et al. Finding order in the chaos: Outstanding questions in *Klebsiella pneumoniae* Pathogenesis. *Infect Immun.* 2021;89(4):1-17. doi:10.1128/IAI.00693-20
- Produced I-, Cells MS, Peñaloza HF, et al. Interleukin-10 Produced by Myeloid-Derived Suppressor Cells Provides Protection to Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae* Sequence Type 258 by Enhancing Its Clearance in the Airways. *Infect Immun.* 2019;87(5):1-15.
- Ratundima E, Suartha I, Ngurah Kade Mahardhika I. Deteksi Antibodi Terhadap Virus Classical Swine Fever Dengan Teknik Enzyme-Linked Immunosorbent Assay. *Indones Med Veterinus.* 2012;1(2):217-227.
- Faul F. G*Power 3: A flexible statistical power analysis program for the social, behavioral, and biomedical sciences. *Behav Res Methods.* 2007;2(39):175-191.
- Podmirseg SR, Jäkel H, Ranches GD KM, Sohm B, Villunger A, Lindner H HL. Caspases uncouple p27kip1 from cell cycle regulated degradation and abolish its ability to stimulate cell migration and invasion. *Oncogen.* 2016;35(35):4580-4590.
- Stevani H. *Praktikum Farmakologi.* 1st ed. Jakarta: Kemenkes RI; 2016.
- Greenfield. Standard Immunization of Mice, Rats, and Hamsters. *Cold Spring Harb Protoc.* 2020;3(2).
- Swarjana IK. *Statistik Kesehatan.* 1st ed. (Ari A, ed.). Yogyakarta: Penerbit Andi; 2016.
- Rofii M, Satoto H, Harahap MS. Perbandingan Kadar IL-10 Serum dengan dan Tanpa Infiltrasi Levobupivakain pada Nyeri Pasca Insisi. *JAI (Jurnal Anestesiologi Indones).* 2012;2(2). doi:10.14710/jai.v2i2.6462
- Gregoriadis G, Popovic MO, Centar L, Perrie Y. *Vaccine Adjuvants Preparation Methods.;* 2018. doi:10.1385/1-59259-083-7
- Shantanam S. 乳鼠心肌提取 HHS Public Access. *Physiol Behav.* 2018;176(1):139-

148. doi:10.1038/mi.2012.62.STAT1-Regulated
20. Rosyanti L, Devianti R, Hadi I, Syahrianti S. Hubungan antara Depresi dengan Sistem Neuroimun (Sitokin-HPA Aksis). *Heal Inf J Penelit.* 2017;9(2):35-52.
21. Kadek E, Purnama E, Anas R. Stereozotosin berulang sebagai hewan model multiple dose streptozotocin-induced Diabetes in Balb-C Mice (Mus musculus): An Effort to. *J Kedokt Hewan.* 2012;6(1):47-50.
22. Lee WH, Choi H II, Hong SW, Kim KS, Gho YS, Jeon SG. Vaccination with Klebsiella pneumoniae-derived extracellular vesicles protects against bacteria-induced lethality via both humoral and cellular immunity. *Exp Mol Med.* 2015;47(9). doi:10.1038/emm.2015.59
23. Hu G, Chen X, Chu W, et al. Immunogenic characteristics of the outer membrane phosphoprotein as a vaccine candidate against Klebsiella pneumoniae. *Vet Res.* 2022;53(1):5. doi:10.1186/s13567-022-01023-2
24. Pennini ME, De Marco A, Pelletier M, et al. Immune stealth-driven O2 serotype prevalence and potential for therapeutic antibodies against multidrug resistant Klebsiella pneumoniae. *Nat Commun.* 2017;8(1):1-12. doi:10.1038/s41467-017-02223-7
25. Sudiono J. Sistem Kekebalan Tubuh. *Penerbit Buku Kedokt EGC.* 2014;(June):1-86.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/810049>
<http://doi.wiley.com/10.1002/anie.197505391>
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780857090409500205>
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21918515>
<http://www.cabi.org/cabebooks/ebook/20083217094>.
26. Policy for Adjuvant Use with Special Emphasis on Complete Freund's Adjuvant. *UNMC Anim Care Use Progr.* 2017:1-5.