

ARTIKEL PENELITIAN

**PENGARUH VAKSINASI MULTIEPITOP COVID-19 TERHADAP KADAR
INTERLEUKIN-6 PADA MENCIT (*Mus musculus*) GALUR *Deutschland Denken*
Yoken**

**(EFFECT OF COVID-19 MULTIEPITOPE VACCINATION ON INTERLEUKIN-6
LEVELS IN MICE (*Mus musculus*) *Deutschland Denken Yoken STRAIN*)**

Sayu Putu Yuni Paryati¹, Henny Juliastuti², Neng Elin Niamilah³

¹Departemen Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Jenderal Achmad Yani
Cimahi, Jawa Barat, Indonesia

²Departemen Biokimia, Fakultas Kedokteran, Universitas Jenderal Achmad Yani
Cimahi, Jawa Barat, Indonesia

³Program Studi Kedokteran, Fakultas Kedokteran Universitas Jenderal Achmad Yani,
Cimahi, Jawa Barat, Indonesia

Email korespondensi: yunisayu@yahoo.com

ABSTRAK

Vaksin multiepitop Covid-19 adalah vaksin yang dibentuk dari epitop protein SARS-CoV-2 melalui kultur pada inang *Escherichia coli* (*E.coli*). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui peningkatan kadar Interleukin-6 (IL-6) pada mencit galur *Deutschland Denken Yoken* (ddY) yang diimunisasi vaksin multiepitop Covid-19 dan vaksin multiepitop Covid-19 dengan adjuvan aluminium. Penelitian ini dirancang sebagai penelitian *post test-only control grup design* dengan rancangan acak lengkap pada 14 ekor mencit galur ddY yang dibagi menjadi 3 kelompok perlakuan, yaitu: (1) mencit galur ddY yang diinjeksi NaCl 0,9%, (2) mencit galur ddY yang diimmunisasi vaksin multiepitop Covid-19, dan (3) mencit galur ddY yang diimmunisasi vaksin multiepitop Covid-19 dengan adjuvan aluminium. Mencit diimmunisasi dengan vaksin multiepitop Covid-19 dan vaksin multiepitop Covid-19 dengan adjuvan aluminium masing-masing 400µg per mencit sebanyak satu kali. Hasil penelitian pada kelompok vaksin menunjukkan adanya peningkatan kadar IL-6 pada hari pertama sebesar 17,71 pg/ml; pada hari kedua sebesar 14,94 pg/ml; pada hari ketiga 16,88pg/ml; sedangkan pada kelompok perlakuan vaksin dengan adjuvan pada hari pertama sebesar 16,59pg/ml; pada hari kedua 19,18pg/ml; pada hari ketiga 7,71pg/ml. hasil pada kelompok kontrol NaCl 0,9% sebesar 18,62 pg/ml. Secara keseluruhan hasil penelitian menunjukkan adanya peningkatan kadar IL-6 pada kelompok vaksin dengan adjuvan sebesar 2,59 pg/ml pada hari kedua, sedangkan tidak ada peningkatan kadar IL-6 pada kelompok vaksin. Hal ini menunjukkan bahwa adjuvan dapat meningkatkan stimulasi respon imun IL-6 dengan lebih baik. Adjuvan yang digunakan dalam penelitian ini adalah adjuvan aluminium, yang mampu menginduksi respons antibodi dan

respons sel T helper CD4+ dan banyak digunakan sebagai bahan tambahan vaksin.

Kata kunci: Covid-19, IL-6, multiepitope, vaksin

ABSTRACT

Covid-19 Multiepitope vaccine is a vaccine formed from SARS-CoV-2 spike protein epitopes through culture in Escherichia coli (E.coli) hosts. This study aims to determine the response of increased IL-6 levels in ddY mice immunized with the Covid-19 multi-epitope vaccine and the Covid-19 multi-epitope vaccine with aluminum adjuvant. This study was designed as a post test-only control group design study with a complete randomized design on 14 mice of the Deutschland Denken Yoken (ddY) strain which were divided into 3 treatment groups, namely: (1) ddY strain mice injected with NaCl 0.9%, (2) ddY strain mice immunized with Covid-19 multiepitope vaccine, and (3) ddY strain mice immunized with Covid-19 multiepitope vaccine with aluminum adjuvants. Mice were immunized with the multi-epitope Covid-19 vaccine and the multi-epitope Covid-19 vaccine with aluminum adjuvant, each 400 µg per mice once. The results of the study in the vaccine group showed an increase in IL-6 levels on the first day of 17.71 pg/ml; on the second day of 14.94 pg/ml; on the third day 16.88 pg/ml; while in the vaccine treatment group with adjuvant on the first day of 16.59 pg/ml; on the second day 19.18 pg/ml; on the third day 7.71 pg/ml. the results in the 0.9% NaCl control group were 18.62 pg/ml. Overall, the results showed an increase in IL-6 levels in the vaccine group with adjuvant of 2.59 pg/ml on the second day, while there was no increase in IL-6 levels in the vaccine group. This suggests that adjuvants can better stimulate the IL-6 immune response. The adjuvant used in this study is aluminum adjuvant, which is able to induce antibody responses and CD4+ helper T cell responses and is widely used as a vaccine additive.

Keywords: Covid-19, IL-6, multiepitope, vaccine

PENDAHULUAN

Coronavirus disease-19 (Covid-19) merupakan penyakit akibat infeksi SARS-CoV-2.¹ SARS-CoV2 termasuk dalam salah satu family β -coronavirus, yang membutuhkan reseptor Angiotensin Converting Enzyme 2 (ACE2) untuk masuk ke dalam sel secara fusi membran langsung antara virus dan membran plasma, sehingga menyebabkan proses inflamasi secara lokal pada organ paru dan merangsang respons imun humoral dan seluler yang dimediasi oleh sel T dan sel B.^{1,2} Sel-sel yang terinfeksi akan hancur dan akan memicu

sekresi sitokin-sitokin proinflamasi seperti Interleukin-6 (IL-6), dan diikuti dengan keluarnya sel-sel imun seperti makrofag dan sel dendritik.¹ Pasien yang terkonfirmasi positif Covid-19 dengan gejala klinis yang berat terdapat *hypercytokinemia* atau *Cytokine storm* yang disebut “badai sitokin” berupa terjadi peningkatan mediator sitokin dan kemokin. Salah satu sitokin tersebut adalah IL-6 yang mampu meningkat lebih dari 50-80pg/mL dan dapat menyebabkan gagal napas pada pasien terinfeksi Covid-19, dan IL-6 dianggap menjadi prediktor kematian.^{3,4} Interleukin-

6 diproduksi oleh berbagai jenis sel seperti monosit/makrofag, sel endotel, fibroblas, keratinosit, sel mesangial, sel otot, adiposit, dan sel hematopoietik.⁵

Vaksinasi bersifat profilaksis bertujuan untuk menghasilkan sistem imun protektif terhadap SARS-CoV-2 yang dapat mengurangi risiko penularan, mengurangi dampak berat dari infeksi virus dan mencapai *herd immunity*.^{6,7} Hingga saat ini terdapat lima jenis vaksin yang telah digunakan secara global untuk melakukan vaksinasi seperti virus utuh (inaktivasi), asam nukleat (DNA dan RNA), vektor virus (bereplikasi dan tidak bereplikasi), dan subunit protein virus. Salah satu vaksin sub unit yang sering digunakan adalah vaksin *chimeric*/subunit berbasis epitop spike sel T CD4⁺ dan CD8⁺ yang dianggap aman, karena tidak mengandung seluruh patogen, stabil dan sangat spesifik. Epitop memiliki berat molekul yang kecil, dan dengan penambahan *carrier* dapat menambah berat dan ukuran sehingga dapat meningkatkan imunogenitas antigen. Selain itu, penambahan adjuvan pada vaksin diketahui juga dapat meningkatkan imunogenitas vaksin.^{7,8,9} Salah satu vaksin yang sedang dikembangkan yaitu vaksin multiepitop Covid-19. Vaksin multiepitop memiliki kelebihan berupa biaya yang lebih murah, waktu yang lebih cepat, stabilitas dan spesifitas yang lebih baik. Vaksin tersebut dibentuk dari epitope protein spike SARS-

CoV-2 melalui kultur pada inang *Escherichia coli* (*E. coli*) sehingga diperoleh antigen rekombinan. Struktur peptida tersebut kemudian ditambahkan adjuvan *Cholera Toxin B*. Hasil kultur menunjukkan bahwa kombinasi peptida tersebut optimal untuk diekspresikan pada *E. coli*. Hingga saat ini telah dilakukan uji vaksin secara *in vivo* dan terbukti dapat menginduksi terbentuknya antibodi terhadap Covid 19. Vaksin multiepitope Covid 19 telah diketahui karakteristiknya, meliputi tingkat kemurnian dan aktivitasnya dalam pengikatan antibodi, titer antibodi pasca imunisasi dan kadar sitokin terkait (interleukin dan TNF).^{10,11}

Pada penelitian ini vaksin multiepitop Covid-19 akan ditambahkan adjuvan aluminium karena antigen memiliki berat molekul kurang dari 10.000 dalton atau yang disebut hapten dan kurang bersifat imunogen, sehingga untuk meningkatkan imunogenitas antigen tersebut dapat dengan cara menambah berat molekul antigen.¹²

Adjuvan adalah zat yang ditambahkan ke dalam vaksin untuk menstimulasi dan meningkatkan *magnitude* dan daya tahan respons imun. Aluminium adalah adjuvan yang paling sering digunakan dan menginduksi respons antibodi dan respons sel T helper CD4⁺ pada manusia. Aluminium diperkirakan memediasi efek adjuvan terutama melalui mekanisme '*depot effect*' yang melibatkan pelepasan

antigen secara perlahan dari tempat imunisasi. Aluminium juga digunakan dalam vaksin COVID-19 virus inaktif yang telah disetujui untuk penggunaan terbatas atau darurat di beberapa negara.⁹ *Insoluble aluminium salts (alum)* tetap menjadi satu-satunya adjuvan yang disertakan dalam produk berlisensi, seperti vaksin untuk hepatitis B, difteri, tetanus, dan pertusis atau virus papiloma manusia.⁹

Hingga saat ini terdapat 40 kandidat vaksin dalam uji klinis dan 149 vaksin dalam evaluasi praklinis, sebanyak 67 subunit dan 15 *inactivated Covid-19 vaccine* telah dikembangkan dan di antaranya bahan adjuvan aluminium telah diformulasikan dengan protein S atau RBD untuk menginduksi antibodi penetral yang telah disarankan untuk perlindungan terhadap SARS-CoV2.¹³

Berdasarkan hal-hal yang diuraikan di atas, diketahui terdapat hubungan keparahan infeksi Covid-19 dengan peningkatan kadar IL-6. Oleh karena itu, peneliti tertarik untuk mengetahui kadar IL-6 pada mencit yang diimunisasi vaksin multiepitop Covid-19. Berdasarkan penelitian SARS-CoV-2 di Jerman diketahui bahwa mencit menjadi salah satu hewan coba yang paling banyak digunakan (89,5%),^{10,14} sehingga pada penelitian ini akan digunakan hewan coba mencit galur ddY.

BAHAN DAN METODE

Penelitian yang dilakukan adalah penelitian eksperimental dengan rancangan *post test-only control grup design* yang menggunakan hewan coba mencit (*Mus musculus*) galur *Deutschland denken yoken (ddY)* sebagai subjek penelitian dengan kriteria inklusi berjenis kelamin jantan, berusia 6-8 minggu, berat badan 20-30 gram dan dengan kondisi tubuh yang sehat. Mencit dipilih secara acak, dipisahkan menjadi 3 kelompok perlakuan, yaitu: (1) mencit galur ddY yang diinjeksi NaCl 0,9%, (2) mencit galur ddY yang diimunisasi vaksin multiepitop Covid-19, dan (3) mencit galur ddY yang diimunisasi vaksin multiepitop Covid-19 dengan adjuvan aluminium, dengan desain Rancangan Acak Lengkap (RAL). Objek penelitian yang digunakan yaitu vaksin multiepitop Covid-19 yang diperoleh dari hasil kultur pada *E. coli* yang sudah dimurnikan dan adjuvan aluminium. Jumlah hewan coba yang digunakan sebanyak 14 ekor didasarkan pada perhitungan jumlah sampel hewan berisiko tinggi.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah bahan untuk pemurnian yang terdiri dari lima jenis *buffer* dan elektroforesis sampel vaksin, Bahan yang digunakan untuk hewan coba mencit yaitu pelet untuk makanan mencit, air untuk minum mencit. Bahan penelitian terkait

objek penelitian yaitu vaksin multiepitope Covid-19, dan adjuvan aluminium. Untuk pemeriksaan ELISA digunakan pelat mikro yang sudah dilapisi antibodi, standar (terliofilisasi), antibodi biotinilasi (100x), wash buffer (25x), streptavidin-horseradish peroksidase (HRP) (100x), buffer pengencer standar/sampel, pengencer antibodi biotinilasi, pengencer HRP, solusi substrat TMB, *Double distilled water*.

Alat untuk adaptasi mencit yaitu kandang, botol air minum, tempat makan, sarung tangan dan timbangan digital. Alat untuk pemurnian elektroforesis terdiri dari *beaker glass*, pengecek pH, spatula kimia, *aluminium foil*, timbangan digital, *vortex*. Alat untuk pemberian vaksin adalah *handscoon*, jarum suntik ukuran 24 *gauge*, *syringe* ukuran 1 mL, kapas alkohol 70%. Alat untuk pengambilan sampel adalah mikrohematokrit, *syringe* 1 mL dan tabung dan alat untuk pemeriksaan ELISA yaitu *Microplate reader capable of measuring absorbance at 450 ± 10 nm*, *High-speed centrifuge*, mikroplate, mikropipet, inkubator, tabung, dan kertas penyerap.

Prosedur penelitian dimulai dari proses aklimatisasi yang dilakukan selama 14 hari dengan melakukan penimbangan dan pengecekan homogenitas agar sesuai dengan kriteria inklusi hewan coba. Prosedur pemurnian menggunakan kromatografi dan elektroforesis menggunakan metode SDS-Page dan

didapatkan hasil bahwa berat molekul protein target sampel adalah 47,75 kDa. Persiapan vaksin meliputi penentuan dosis, dengan dosis vaksin multiepitop Covid-19 sebanyak 400µg per mencit, dosis adjuvan aluminium 0,05 ml per mencit dan dosis NaCl 0,9% sebanyak 0,4mL. Pemberian vaksin dilakukan secara intramuskular (IM) di otot paha pada hari ke-0 setelah aklimatisasi dan pengambilan sampel darah melalui sinus orbital mata dan melalui intrakardial pada hari 1,2,3 setelah imunisasi. Sampel darah yang telah diambil dilakukan inkubasi selama 30 menit dalam suhu 37 °C, dan disimpan dalam suhu 8 °C selama 24 jam untuk selanjutnya dilakukan sentrifugasi sehingga terjadi pemisahan antara serum, *buffy coat*, dan darah. Serum yang didapat dipergunakan untuk pemeriksaan *sandwich* ELISA untuk mengukur kadar IL-6.^{15,16,17}

Penelitian ini telah disetujui oleh Komisi Etik Penelitian dan Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Jenderal Achmad Yani dengan No. Protokol H1.2309.017 pada 29 September 2023. Pemeliharaan, perlakuan, pengambilan sampel, pemeriksaan ELISA dilakukan di Laboratorium Hewan dan Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Jenderal Achmad Yani pada September-Desember 2023, sedangkan proses pemurnian dan elektroforesis dilakukan di Laboratorium Biokimia Pusat

Riset Bioteknologi Molekuler dan Bioinformatika Universitas Padjadjaran. Hasil penelitian diuji dengan menggunakan uji statistik *One Way ANOVA* untuk peningkatan kadar IL-6 terhadap tiga kelompok perlakuan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Selama masa aklimatisasi, hewan coba mencit menunjukkan perilaku normal, lincah dengan kondisi sehat. Hasil penimbangan badan menunjukkan rerata berat badan mencit sebesar 23,85gram, sehingga sudah memenuhi kriteria inklusi

subjek penelitian. Pengambilan darah mencit digabung per kelompok untuk dipisahkan serumnya sebagai sampel pemeriksaan. Pemeriksaan serum mencit dilakukan menggunakan teknik *sandwich* ELISA dengan sampel diuji secara duplo. Setelah dilakukan pengukuran kadar IL-6 melalui pemeriksaan ELISA, hasil pemeriksaan tersebut dilakukan perhitungan nilai absorbansi, penentuan persamaan garis linier dan penentuan nilai konsentrasi sampel, sehingga didapatkan rata-rata konsentrasi sampel sesuai dengan Tabel 1 dan Gambar 1.

Tabel 1 Hasil konsentrasi IL-6 sampel

Hari		N	Rerata Kadar Il-6 (pg/ml)
1	Kontrol	2	18,62 ± 4,13
	P1	2	17,71±1,13
	P2	2	16,59±5,87
2	P1	2	14,94±9,98
	P2	2	19,18±1,97
3	P1	2	16,88±1,11
	P2	2	7,71±1,17

Keterangan:

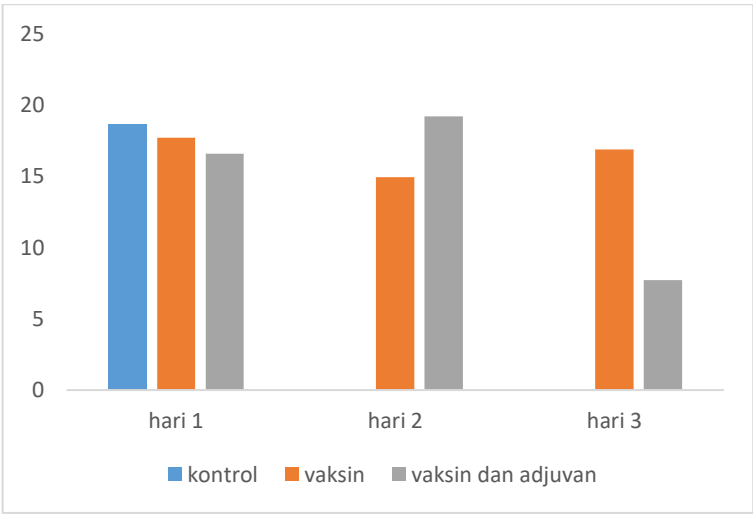
- Kontrol : mencit galur ddY yang diinjeksi NaCl 0,9%,
- P1 : mencit galur ddY yang diimunisasi vaksin multiepitop Covid-19
- P2 : mencit galur ddY yang diimunisasi vaksin multiepitop Covid-19 dengan adjuvan aluminium

Berdasarkan Tabel 1 dan Gambar 1 dijelaskan rerata kadar IL-6 pada setiap kelompok perlakuan. Pada kelompok vaksin menunjukkan adanya peningkatan kadar IL-6 pada hari pertama sebesar 17,71 pg/ml; pada hari kedua sebesar 14,94 pg/ml; pada hari ketiga 16,88 pg/ml; sedangkan pada kelompok perlakuan vaksin dengan

adjuvan pada hari pertama sebesar 16,59 pg/ml; pada hari kedua 19,18 pg/ml; pada hari ketiga 7,71 pg/ml dan hasil pada kelompok kontrol NaCl 0,9% sebesar 18,62 pg/ml. Secara keseluruhan hasil penelitian menunjukkan adanya peningkatan kadar IL-6 pada kelompok vaksin dengan adjuvan sebesar 2,59 pg/ml pada hari kedua,

sedangkan tidak ada peningkatan kadar IL-6 pada kelompok vaksin. Hal ini menunjukkan bahwa adjuvan dapat

meningkatkan stimulasi respons imun IL-6 dengan lebih baik.



Gambar 1 Histogram Kadar IL-6

Sebelum melakukan analisis statistik, dilakukan uji normalitas data menggunakan *Saphiro Wilk Test*, menunjukkan bahwa variabel numerik kadar IL-6 berdistribusi normal dengan nilai $p>0,05$ dan uji

homogenitas data dengan *levene test* menunjukkan seluruh data homogen dengan nilai $p>0,05$. Selanjutnya data dilakukan uji parametrik, test yaitu *One-Way ANOVA* (Tabel 2).

Tabel 2 Kadar IL-6 serum mencit ddY pada kelompok perlakuan

Kelompok Perlakuan	N	Rerata	Standar Deviasi	F	P
Kontrol	1	18,62	4,12	0,512	0,613
P1	3	16,50	4,68		
P2	3	14,49	6,07		

Hasil analisis menunjukkan bahwa ketiga kelompok perlakuan tidak memiliki perbedaan yang bermakna ($p>0,05$). Hal ini berarti bahwa tidak terdapat peningkatan kadar IL-6 di antara perlakuan jika

dibandingkan dengan kelompok kontrol. Oleh karena itu, maka uji lanjut tidak diperlukan.

Aktivasi respon imun adaptif berlangsung setelah aktivasi respons imun

alami yang berlangsung pada 0 hingga 12 jam setelah infeksi dan merupakan pertahanan pertama yang dilakukan oleh barier epitel kulit dan mukosa. Selanjutnya terjadi aktivasi respons imun adaptif yang berlangsung hingga lebih dari 5 hari setelah infeksi. Respons imun adaptif akan mengaktivasi limfosit T untuk mengaktivasi *T helper*, sehingga limfosit *T helper* akan mengaktivasi sel makrofag untuk mengeliminasi mikroba yang difagositosis, dan dapat mengsekresikan IL-6.¹⁸

Dari Gambar 1, tampak adanya kadar IL-6 pada kelompok kontrol, yaitu yang diinjeksi dengan NaCl 0,9% yang tidak berbeda dengan kelompok mencit yang divaksinasi dengan vaksin multiepitop dengan atau tanpa adjuvant, Hasil ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Pathak *et al*, 2022. Pada pasien yang dilakukan pengobatan menggunakan NaCl menunjukkan stimulasi NaCl pada *peripheral blood mononuclear cell (PBMC)* dengan menunjukkan peningkatan sekresi IL-1 β dan IL-6.¹⁹

Penambahan adjuvan dapat meningkatkan imunogenitas atau respons imun terhadap vaksin, dengan cara mempertahankan vaksin agar tetap berada di lokasi suntikan untuk waktu yang sedikit lama atau dengan cara menstimulasi sel imun lokal.²⁰ Aluminium memediasi efek adjuvan terutama melalui mekanisme

'*depot effect*' yang melibatkan pelepasan antigen secara perlahan dari tempat imunisasi.⁹ Begitu pula pada penelitian yang dilakukan oleh Castrodeza, *et al* (2023), adjuvan telah terbukti bermanfaat dalam meningkatkan respons vaksin dengan membentuk endapan antigen dan menginduksi sekresi sitokin dalam mekanisme kerjanya. Vaksin dengan adjuvan mampu meningkatkan respons imun dibandingkan dengan vaksin antigen saja, salah satunya melalui stimulasi respons imun seluler.²¹ Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Zhu, *et al* (2023), kadar IL-6 pada individu yang terinfeksi SARS-CoV-2 yang telah dilakukan vaksinasi menunjukkan kadar yang lebih rendah dibandingkan yang tidak menerima vaksinasi dalam jangka pendek dan jangka panjang setelah gejala SARS-CoV-2, yang menunjukkan bahwa vaksinasi memainkan peran protektif terhadap proses inflamasi.²²

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, didapatkan simpulan bahwa tidak ada peningkatan kadar IL-6 pada mencit galur *Deutschland denken yoken* setelah diimunisasi vaksin multiepitope Covid-19 dan vaksin multiepitop Covid-19 dengan adjuvan aluminium dibandingkan kontrol dan tidak terdapat perbedaan antara kadar IL-6 pada mencit galur *Deutschland*

denken yoken setelah diimunisasi vaksin multiepitop Covid-19 dan vaksin multiepitop Covid-19 dengan adjuvan alumunium.

KONFLIK KEPENTINGAN

Dengan ini penulis menyatakan bahwa tidak terdapat konflik kepentingan dalam artikel ilmiah yang ditulis

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan melalui Ditjen Dikti serta Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat yang telah mendanai penelitian ini pada tahun anggaran 2024. Penulis juga menyampaikan terima kasih kepada para staf Laboratorium Hewan dan Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Jenderal Achmad Yani dan Laboratorium Biokimia Pusat Riset Bioteknologi Molekuler dan Bioinformatika Universitas Padjadjaran yang telah membantu pelaksanaan penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

1. Covid-19- Infeksi Emerging Kementrian Kesehatan RI [Internet]. [cited 2023 Jun 24]. Available from: <https://infeksiemerging.kemkes.go.id/dashboard/covid-19>
2. Ariandra A. Covid-19: Epidemiologi, Virologi, Penularan, Gejala Klinis, Diagnosa, Tatalaksana, Faktor Resiko dan Pencegahan. J Penelit Perawat Prof [Internet]. 2021;3(November):653–60. Available from: <http://jurnal.globalhealthsciencegroup.com/index.php/JPPP/article/download/83/65>
3. E.O. Gubernatorova, E.A. Gorshkova, A.I. Polinova MSD. IL-6_ Relevance for immunopathology of SARS-CoV-2 [Internet]. Elsevier Ltd. 2020 [cited 2023 Jun 25]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32475759/>
4. Moore JB, June CH. Cytokine Release Syndrome in Severe COVID-19. Science (80-) [Internet]. 2020 May 1 [cited 2023 Jun 27];368(6490):473–4. Available from: <https://www.science.org/doi/10.1126/science.abb8925>
5. Jasmine J, Purwanto DS, Kaligis SHM. Peran Interleukin-6 Sebagai Faktor Prediktif Derajat Keparahan COVID-19. 2022;10:98–106. Available from: <https://doi.org/10.35790/ebm.v10.i1.38840URLHomepage:https://ejournal.unsra.t.ac.id/index.php/ebiomedik>
6. Levani Y, Prastya AD MS. Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): Patogenesis, Manifestasi Klinis dan Pilihan Terapi [Internet]. Vol. 17, Jurnal Kedokteran

- dan Kesehatan. 2021. p. 44–57. Available from: <https://jurnal.umj.ac.id/index.php/JKK/article/view/6340>
7. Firouzabadi N, Ghasemiyeh P, Moradishooli F, Mohammadi-Samani S. Update on the Effectiveness of COVID-19 Vaccines on Different Variants of SARS-CoV-2. *Int Immunopharmacol* [Internet]. 2023;117:109968. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2023.109968>
 8. Doolan DL, Bettencourt P, Fournel S, Naz A, Shahid F, Tahir Butt T, et al. Designing Multi-Epitope Vaccines to Combat Emerging Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) by Employing Immuno-Informatics Approach. *Front Immunol* | www.frontiersin.org [Internet]. 2020 [cited 2023 Jul 6];1:1663. Available from: www.frontiersin.org
 9. Pulendran B, S. Arunachalam P, O'Hagan DT. Emerging Concepts in the Science of Vaccine Adjuvants. *Nat Rev Drug Discov* [Internet]. 2021;20(6):454–75. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41573-021-00163-y>
 10. Kurnia D, Effendi R. Inflamasi pada Coronavirus Disease 2019. *Baiturrahmah Med J*. 2019;1(1):77–86.
 11. Paryati S P, Hasan K, Juliastuti H, Kusmala Y, Halimah L, Pratiwi S, Sinta G, Andani D RS. De Novo Epitope Focused Vaccine Analysis for Covid-19 Prophylaxis. 2(December 2019).
 12. Sadi S, Arifin M. Pembuatan Antigen dari Trypanosoma Evansi yang Diradiasi dan Kaitannya dengan Pembentukan Antibodi. 1998;(3):141–6.
 13. Liang Z, Zhu H, Wang X, Jing B, Li Z, Xia X, et al. Adjuvants for Coronavirus Vaccines. *Front Immunol* [Internet]. 2020;11(November). Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7677582/>
 14. Wang S, Li L, Yan F, Gao Y, Yang S, Xia X. Covid-19 animal models and vaccines: Current landscape and future prospects. *Vaccines* [Internet]. 2021;9(10):1–24. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8537799/>
 15. Scott DL, et al. 2000. ELISA Basics Guide. Valid Pharm Process Third Ed [Internet]. 2017;42. Available from: <https://www.bio-rad-antibodies.com/static/2017/an-introduction-to-elisa/elisa-basics-guide.pdf>
 16. ELISA. elisa Encycl [Internet]. Available from: <http://www.elisa-antibody.com/>
 17. Santosa B. Teknik Elisa. 2020. 35 p.
 18. Abbas AK, Lichtman AH, Prillai S. Fungsi dan Kelainan Sistem Imun.

- Imunologi Dasar Abbas. 2016. 1–357 p.
19. Pathak S, Vambutas A. NaCl exposure results in increased expression and processing of IL-1 β in Meniere's disease patients. *Sci Reports* | [Internet]. 123AD;12:4957. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41598-022-08967-7>
20. Cara Vaksin Dikembangkan [Internet]. World Health Organization. Available from: <https://www.who.int/indonesia/news/novel-coronavirus/qa/qa-vaksin-dikembangkan>
21. Castrodeza-sanz J, Sanz-muñoz I. Adjuvants for COVID-19 Vaccines. 2023;1–17. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10222622/pdf/vaccines-11-00902.pdf>
22. Zhu Xianming, Gebo Kelly A, Abraham Alison G H feben. Dynamics Of Inflammatory Responses After SARS-CoV-2 Infection by Vaccination Status in the USA: A Prospective Cohort Study. *Physiol Behav* [Internet]. 2023;176(1):139–48. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10475695/pdf/nihms-1923654.pdf>