

Profile of the Anti-inflammatory Mediator Interleukin-10 (IL-10) in Patients Suspected of Covid-19

Pauzan¹, & Edy Kurniawan^{1*}

¹Teknologi Laboratorium Medis, Politeknik Medica Farma Husada Mataram, Mataram, Indonesia;

Article History

Received : Agustus 28th, 2024

Revised : September 19th, 2024

Accepted : October 01th, 2024

*Corresponding Author: **Edy Kurniawan**, Teknologi Laboratorium Medis, Politeknik Medica Farma Husada Mataram, Mataram, Indonesia;
Email: edykurniawanw@yahoo.com

Abstract: *Severe acute respiratory syndrome corona virus 2 (SARSCOV-2)* is a virus that causes corona virus disease (Covid-19), namely a respiratory syndrome disease that comes from the beta corona virus group. A serious problem with Sarscov-2 infection is when a cytokine storm appears which is produced as the body's response to an inflammatory reaction, but the presence of interleukin (cytokine)-10 as an anti-inflammatory cytokine can suppress inflammatory reactions to avoid cytokine storms. The study's objective was to characterize IL-10 levels in people who may have Covid-19. The research method is to use an analytical survey with a retrospective design. Interleukin-10 levels were measured utilizing the ELISA (*Enzyme Linked Immunosorbant Assay*) method. Result: The average level of IL-10 in SARSCOV-2 utilizing the Real Time Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) method to detect positive Covid-19 suspect samples (83.16 pg/ml) was higher than SARSCOV-2 negative Covid-19 suspects (81.03 pg/ml). Conclusion: the comparison of IL-10 levels in positive Covid-19 suspects and negative Covid-19 suspects using the RT-PCR technique has an insignificant difference in levels because naturally Pro- and anti-inflammatory cytokines' reciprocal responses show that the immune response of the samples from suspected Covid-19 patients used is still very strong (IL-10).

Keywords: Anti-inflammatory mediator, cytokin IL-10, suspected Covid-19.

Pendahuluan

Severe Acute Respiratory Syndrome Corona Virus 2 (SARSCOV-2) merupakan virus penyebab penyakit virus corona (Covid-19), yaitu penyakit sindrom pernapasan yang berasal dari kelompok virus corona beta (Wu, et al., 2020). Masifnya penyebaran Covid-19 keseluruh dunia, maka Organisasi Kesehatan Dunia (WHO) pada tanggal 11 Maret 2020 menyatakan infeksi Covid-19 telah menjadi pandemi global (Cucinotta & Vanelli, 2020). Seiring dengan penyebaran kasus di seluruh dunia, kasus Covid-19 di Indonesia mengalami peningkatan yang cukup signifikan, pada tanggal 13 Desember 2020 terjadi penambahan kasus positif sebanyak 617.820 orang, sembuh sebanyak 505.836 orang, meninggal dunia sebanyak 18.819 orang, dan kasus suspek positif. 63.698 orang (Covid-19 Hotline, 2020).

Covid-19 menimbulkan ancaman yang cukup tinggi bagi manusia, dengan angka kematian sebesar 6,4% (Cucinotta & Vanelli, 2020).

Virus SARSCOV-2 tersusun atas RNA untai tunggal berukuran 30 kb dan dapat menginfeksi berbagai spesies inang yang terbagi menjadi empat genera berdasarkan struktur genomnya: α , β , γ , dan δ . Genera α dan β hanya menginfeksi mamalia, khusus genera α -coronavirus hanya menimbulkan gejala flu biasa, namun sebaliknya terjadi pada genera β -coronavirus yang menyebabkan kasus SARS-COV, MERS-COV, dan SARS-COV-2 (Channappanavar & Perlman, 2017).

Penempelan, penetrasi, biosintesis, pematangan, dan pelepasan virus Sars-cov-2 adalah mekanisme yang digunakan virus tersebut untuk menyusup ke organisme inang. Virus menggunakan mekanisme endositosis/fusi untuk memasuki sel inang setelah menempel

pada reseptor. RNA virus kemudian bereplikasi di dalam inti sel inang, dan mekanisme biosintesis menggunakan m-RNA virus untuk menghasilkan protein virus. Tahap pematangan dan pelepasan virus merupakan tahap terakhir. Empat protein struktural membentuk virus corona: nukleokapsid (N), membran (M), selubung (E), dan protein lonjakan (S). Protein S, yang terdiri dari glikoprotein trimetrik transmembran yang menonjol pada permukaan virus, mampu mengidentifikasi tropisme inang dan keanekaragaman virus corona (Bosch et al., 2003). Patogenesis infeksi SARS-COV, MERS-COV, dan SARS-COV-2 adalah sama, terbukti dari temuan klinis dan hasil laboratorium. Ini termasuk demam, batuk kering, dispnea, mialgia, kelelahan, leukopenia, dan tanda-tanda radiologis pneumonia progresif. Predisposisi terhadap monositosis dibandingkan limfositosis, termasuk badai sitokin (Rosyanti & Hadi, 2020).

Variasi gejala yang timbul tentu berbeda-beda antar individu. Namun sejauh ini diketahui keparahan gejala yang muncul disebabkan oleh produksi sitokin proinflamasi yang berlebihan tanpa diimbangi dengan sitokin antiinflamasi (Gemmati et al., 2020). "Badai sitokin", atau pelepasan sitokin pro-inflamasi secara signifikan, merupakan efek samping infeksi Covid-19 yang memicu respons peradangan yang intens. Saat terkena virus SARS-COV-2, sistem kekebalan tubuh menjadi terlalu aktif sehingga memicu respons peradangan berlebihan. Menurut beberapa penelitian yang meneliti profil sitokin pasien Covid-19, kerusakan paru-paru, kegagalan multi-organ, dan prognosis yang buruk semuanya berhubungan langsung dengan badai sitokin pada pasien Covid-19 yang parah (Chen, et al., 2020).

Badai sitokin dipengaruhi oleh pelepasan interleukin 6 (IL-6) yang merupakan sitokin pro inflamasi, namun secara alami tubuh akan merespon dengan memproduksi IL-10 sebagai sitokin anti inflamasi sehingga dapat mencegah terjadinya badai sitokin. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa pada pasien ICU ditemukan kadar IL-10 yang signifikan dibandingkan pada pasien dengan tingkat keparahan rendah. IL-10 juga akan berkorelasi dengan IL-6 dan CRP (C-Reactive Protein). Sebaliknya, signifikansi klinis dari jumlah IL-10 yang sangat tinggi dalam serum pasien Covid-

19 umumnya dianggap sebagai mekanisme anti-inflamasi atau penghambatan kekebalan (dan karenanya merupakan biomarker), yang dirangsang oleh akumulasi pro-inflamasi yang cepat sebagai umpan balik negative (Dhar et al., 2021).

Interleukin (IL)-10 diketahui memiliki potensi anti-inflamasi dengan efek immunosupresif yang kuat. Pada awal penemuannya, IL-10 diidentifikasi sebagai produk sel Th2, namun seiring berjalannya waktu diketahui bahwa sel limfoid dan myeloid menghasilkan IL-10. Fungsi utama IL-10 pada infeksi adalah menghambat respon host terhadap agen infeksi, yang berhubungan dengan pencegahan kerusakan jaringan dan imunopatologi. Dalam prosesnya, IL-10 akan menghambat sintesis sitokin pro inflamasi (seperti IL-6) dan presentasi antigen oleh APC sehingga respon imun terhambat dan proliferasi sel T berlebih dapat dicegah (Zeng, et al., 2020).

Aktivitas immunosupresif IL-10 mungkin bermanfaat bagi inang ketika respon imun terhadap rangsangan yang tidak berbahaya berlebihan. Mengingat pasien COVID-19 memiliki profil sitokin yang khas dari keadaan hiperinflamasi yang disebabkan oleh virus, IL-10 mungkin berperan dalam badai sitokin COVID-19. Sitokin dan kemokin yang berlebihan dalam sirkulasi mempunyai efek merugikan pada berbagai organ. Sitokin immunosupresif, seperti IL-10 dan sekresinya oleh sel imun, merupakan alat penting dalam melawan kondisi patologis karena sitokin tersebut mengurangi respon imun yang berlebihan namun tetap menghasilkan pertahanan yang cukup kuat terhadap inang untuk menyingkirkan infeksi (Fadhilah, et al., 2021). Pasien suspek Covid-19, gejala yang muncul umumnya ringan hingga sedang. Oleh karena itu, sangat diperlukan penelitian dengan tujuan untuk mengetahui profil kadar IL-10 pada penderita suspek Covid-19 antara penderita Covid-19 positif dan negatif yang didiagnosis menggunakan teknik real-time PCR (RT-PCR).

Bahan dan Metode

Metode survei analitik dengan desain retrospektif digunakan dalam penelitian ini. Sampel yang digunakan adalah serum pasien

terduga Covid-19 asal Provinsi Nusa Tenggara Barat yang telah diperiksa sampel usap nasofaring menggunakan teknik real time PCR. Prosedur kerja mengacu pada kit Laboratorium Teknologi Bioassay. Data yang diperoleh dari pengukuran kadar IL-10 menggunakan teknik ELISA dianalisis secara kuantitatif.

Prosedur

Prosedur pemeriksaan IL-10 dengan teknik ELISA:

Persiapan Larutan Standar

Larutkan kembali 120ul standar (8000pg/L) dengan 120ul pengencer standar untuk menghasilkan larutan stok standar dengan konsentrasi 4000pg/L. Diamkan selama 15 menit agar pengencerannya tercampur sempurna. Siapkan larutan standar dengan pengenceran serial untuk mendapatkan konsentrasi 2000pg/L, 1000pg/L, 500pg/L dan 250pg/L. Standar pengencer berfungsi sebagai standar nol (0pg/L). Larutan yang tersisa disimpan pada suhu -20°C dan digunakan dalam waktu satu bulan.

Membuat Washing Buffer

Larutkan 20ml *washing buffer* konsentrasi 30x dengan aquadest untuk menghasilkan 500ml *washing buffer* 1x.

Teknik ELISA

Sesuai petunjuk, siapkan semua reagen, larutan standar, dan sampel. Sebelum digunakan, pastikan semua reagen berada pada suhu kamar. Siapkan strip sesuai jumlah sampel yang akan diuji, sisa strip disimpan pada suhu 2-8°C. Tambahkan standar 500µl ke standar Well. Catatan: Karena larutan standar sudah mengandung antibodi yang terbiotinilasi, jangan ditambahkan lagi ke dalamnya.

Sebelum menambahkan 50 µl streptavidin-HRP ke dalam sampel dan well standar (tetapi bukan well kontrol), tambahkan 40 µl sampel dan 10 µl antibodi anti-IL-B ke dalam sumur sampel. Aduk rata, lalu tutup dengan sealer dan diamkan pada suhu 37°C selama 60 menit. Buka sealer dan cuci plate 5x dengan wash buffer. Untuk setiap pencucian, rendam well selama 30 hingga 60 detik dengan setidaknya 0,35 mililiter buffer pencuci. Untuk mengaktifkan pencucian otomatis, tiriskan well

sepenuhnya, cuci lima kali menggunakan buffer, lalu isi kembali well dengan buffer. Tepuk-tepuk plate ke tisu.

Isi setiap lubang dengan masing-masing lima puluh mikroliter larutan substrat A dan substrat B. Setelah mengaplikasikan sealant baru, inkubasi plate yang tersegel pada suhu 37°C selama 10 menit (dalam gelap). Isi setiap sumur dengan 50 µL larutan stop (larutan akan berubah dari biru menjadi kuning). Dengan menggunakan ELISA reader, tentukan nilai kerapatan optik (OD) pada 450 nm (dalam waktu 10 menit setelah menambahkan stop solution).

Hasil dan Pembahasan

Hasil Penelitian

Peningkatan kadar IL-10 pada sampel RT-PCR positif dan RT-PCR negatif covid-19 berdasarkan nilai rata-rata menunjukkan bahwa kadar IL-10 sampel positif lebih tinggi (83,16 pg/ml) dibandingkan sampel negatif (81,03 pg/ml), hasil tersebut relevan dengan penelitian yang dilakukan oleh (Mouna, et al., 2022) bahwa tidak ditemukan perbedaan signifikan pada peningkatan rasio IL-10 antara pasien sembuh dan meninggal dunia akibat Covid-19, seperti ditampilkan pada tabel 1, 2 dan gambar 1.

Tabel 1. Sebaran Kadar Interleukin-10 (IL-10) Pada Sampel RT-PCR Negatif Covid-19

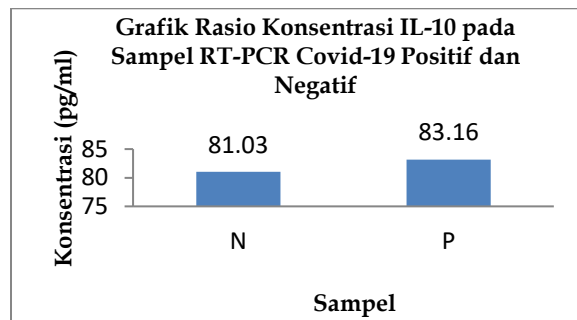
Sitokin (pg/ml)	IL-10 Frequency	% IL-10
23 - 88	15	80
89 - 153	1	5
154 - 218	0	0
219 - 283	0	0
284 - 348	3	15

Tabel 2. Sebaran Kadar Interleukin-10 (IL-10) Pada Sampel RT-PCR Positif Covid-19

Sitokin (pg/ml)	IL-10 Frequency	% IL-10
21 - 83	13	68
84 - 146	2	11
147 - 209	1	5
210 - 272	1	5
273 - 335	2	11

Persentase kadar IL-10 tertinggi dengan kisaran 23-88 pg/ml (80%) pada sampel RT-PCR negatif covid-19, dan persentase kadar IL-

10 tertinggi dengan kisaran 21-83 pg/ ml (68%) pada sampel covid -19 RT-PCR positif.



Gambar 1. Rasio Kadar IL-10 Pada Sampel RT-PCR Covid-19 Positif (P) dan Negatif (N)

Pembahasan

Data pasien yang menjadi sampel penelitian ini memiliki gejala klinis sebagai suspek Covid-19 atau setidaknya memiliki riwayat flu, pilek, batuk, dan demam. Kadar IL-10 pada penelitian ini meningkat pada kedua sampel (RT-PCR positif dan negatif covid-19). Hal ini disebabkan oleh fakta bahwa IL-10, sitokin yang paling sering dikeluarkan monosit, memiliki efek pleiotrofik (antibakteri) pada peradangan dan sistem kekebalan tubuh. Salah satu sitokin yang terkenal kemampuannya dalam menekan aktivitas dan fungsi efektor sel T, monosit, dan makrofag adalah IL-10 (Mau & Tallan, 2016).

Fakta bahwa IL-10 berfungsi sebagai sitokin anti-inflamasi utama dalam respons imun alami dan membantu mencegah respons inflamasi berlebihan dengan menonaktifkan makrofag dan sel T menjelaskan peningkatan kadar sitokin (IL-10) pada pasien Covid-19 positif dan negatif. Sitokin ini merupakan mediator inflamasi sistemik dan lokal yang diproduksi tubuh dalam jumlah cukup besar agar mudah diidentifikasi dalam serum (Dodoo, *et al.*, 2002).

Fakta dari beberapa publikasi dan penelitian yang telah dilakukan adalah bahwa usia dan jenis kelamin berdampak pada kadar IL-6 dan IL-10 pada pasien Covid-19. Orang lanjut usia dengan sistem kekebalan tubuh yang lemah memiliki respons imun yang kurang efektif terhadap infeksi Covid-19, sehingga dapat menyebabkan peradangan yang lebih parah dibandingkan pasien pada usia produktif (20-60 tahun) (Chen, *et al.*, 2020). Proses peradangan yang disebabkan oleh Covid-19

juga berdampak pada kadar sitokin proinflamasi IL-6 dan sitokin antiinflamasi IL-10 (He, *et al.*, 2020).

Pria memiliki tingkat sitokin pro-inflamasi (IL-6) dan anti-inflamasi (IL-10) yang lebih tinggi dibandingkan wanita (Zeng, *et al.*, 2020). Klaim ini konsisten dengan mayoritas pasien laki-laki mengalami gejala yang lebih parah dibandingkan pasien perempuan (Sama *et al.*, 2020). Lebih besarnya proporsi laki-laki dibandingkan perempuan dalam kasus infeksi Covid-19 terkait dengan fungsi hormon seksual yang meningkatkan kerentanan laki-laki terhadap Covid-19. Ekspresi ACE2 (Angiotensin Converting Enzyme 2) dikodekan oleh gen pada kromosom X, perempuan heterozigot sedangkan laki-laki homozigot, sehingga berpotensi meningkatkan ekspresi ACE2 (Gemmati *et al.*, 2020).

Sitokin anti-inflamasi IL-10 dan sitokin pro-inflamasi IL-6 memiliki hubungan langsung. Hal ini konsisten dengan temuan penelitian yang menunjukkan tidak ada perbedaan nyata pada peningkatan kadar sitokin anti-inflamasi IL-10 antara sampel Covid-19 positif dan negatif, karena secara alami untuk mencegah terjadinya badai sitokin, tubuh meresponsnya dengan memproduksi sitokin anti inflamasi sehingga terjadi reaksi timbal balik. Respon tersebut menunjukkan bahwa daya tahan tubuh pasien terduga positif atau negatif Covid-19 yang menjadi sampel penelitian ini masih sangat baik (Mau & Tallan, 2016).

Kesimpulan

Disimpulkan bahwa, perbandingan peningkatan kadar IL-10 pada suspek positif Covid-19 dan negatif Covid-19 dengan menggunakan teknik RT-PCR mempunyai perbedaan kadar yang tidak signifikan karena secara alami respon imun dari sampel pasien suspek Covid-19 yang digunakan masih sangat baik dibuktikan dengan adanya reaksi timbal balik antara sitokin pro inflamasi dan sitokin anti inflamasi (IL-10)

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Politeknik Medica Farma Husada Mataram yang

telah memfasilitasi kami untuk melakukan dan menyelesaikan penelitian ini.

Referensi

- Bosch, B. J., van der Zee, R., de Haan, C. A., & Rottier, P. J. (2003). The Coronavirus Spike Protein Is a Class I Virus Fusion Protein: Structural and Functional Characterization of the Fusion Core Complex. *Journal of Virology*, 77(16), 8801–8811
<https://doi.org/10.1128/jvi.77.16.8801-8811.2003>.
- Channappanavar, R., & Perlman, S. (2017). Pathogenic human coronavirus infections: causes and consequences of cytokine storm and immunopathology. *Seminars in Immunopathology*, 39(5), 529–539
<https://doi.org/10.1007/s00281-017-0629-x>.
- Chen, L. D., Wei, X. J., Cai, Y. Q., Yao, W. Z., Wang, M. H., Huang, Q. F., & Zhang, X. B. (2020). Association between cytokine profiles and lung injury in COVID-19 pneumonia. *Respiratory Research*, 21(1), 1–8. <https://doi.org/10.1186/s12931-020-01465-2>.
- Covid-19 Hotline*. (2020). Retrieved from <https://covid19.go.id/>
- Cucinotta, D., & Vanelli, M. (2020). WHO declares COVID-19 a pandemic. *Acta Biomedica*, 91(1), 157–160
<https://doi.org/10.23750/abm.v91i1.9397>.
- Dhar, S., V. K., Damodar, S., Gujar, S., & Das, M. (2021). IL-6 and IL-10 as predictors of disease severity in COVID-19 patients: results from meta-analysis and regression. *Heliyon*, 7(2), 1-5.
[doi:https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e06155](https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e06155)
- Dodoo, D., Omer, F. M., Todd, J., Akanmori, B. D., Koram, K. A., & Riley, E. M. (2002). Absolute levels and ratios of proinflammatory and anti-inflammatory cytokine production in vitro predict clinical immunity to Plasmodium falciparum malaria. *Journal of Infectious Diseases*, 185(7), 971–979
[doi:https://doi.org/10.1086/339408](https://doi.org/10.1086/339408)
- Fadhilah, N., Soegiarto, G., Budhy, T., & Kes, M. (2021). Potential of IL-10 as Targeted Therapy in Severe COVID-19 Patients. *Malaysian Journal of Medicine and Health Sciences*, 17, 165-168. Retrieved from <https://scholar.unair.ac.id/en/publications/potential-of-il-10-as-targeted-therapy-in-severe-covid-19-patient>
- Gemmati, D., Bramanti, B., Serino, M. L., Secchiero, P., Zauli, G., & Tisato, V. (2020). COVID-19 and Individual Genetic Susceptibility/Receptivity: Role of ACE1/ACE2 Genes, Immunity, Inflammation and Coagulation. Might the Double X-chromosome in Females Be Protective against SARS-CoV-2 Compared to the Single X-Chromosome in Males? *Int. J. Mol. Sci*, 21(10), 1–23.
[doi:https://doi.org/10.3390/ijms21103474](https://doi.org/10.3390/ijms21103474)
- He, S., Zhou, C., Lu, D., Yang, H., Xu, H., Wu, G., . . . Wu, X. (2020). Relationship between chest CT manifestations and immune response in COVID-19 patients. *International Journal of Infectious Diseases*, 98, 125–129.
[doi:https://doi.org/10.1016/j.ijid.2020.06.059](https://doi.org/10.1016/j.ijid.2020.06.059)
- Mau, F., & Tallan, M. M. (2016). Gambaran Peningkatan Kadar Inter Leukin-10 (IL-10) dan Tumor Necrosis Faktor – Alfa (TNF- α) dengan Gejala Klinis pada Penderita Malaria. *Buletin Penelitian Kesehatan*, 44(3), 181–186
[doi:https://doi.org/10.22435/bpk.v44i3.4806](https://doi.org/10.22435/bpk.v44i3.4806).
- Mouna, B. A., Awatef Ben, J., Walid, S., Chihebeddine, R., Ridha, O., Hedi, G., . . . Mustapha, F. (2022). Deciphering the balance of IL-6/IL-10 cytokines in severe to critical COVID-19 patients. *Immunobiology*, 227(4), 1-12.
[doi:https://doi.org/10.1016/j.imbio.2022.152236](https://doi.org/10.1016/j.imbio.2022.152236)
- Rosyanti, L., & Hadi, I. (2020). The Immunity Response and Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2 Cytokine Storm Literature Review. *Jurnal Kesehatan Madani Medika*, 11(2), 176–201. Retrieved from www.jurnalmadanimedika.ac.id
- Sama, I. E., Ravera, A., Santema, B. T., Goor, H. v., Maaten, J. M., Cleland, J. G., . . . Filippatos, G. (2020). Circulating plasma concentrations of angiotensin-converting

- enzyme 2 in men and women with heart failure and effects of renin-angiotensin-aldosterone inhibitors. *Eur Heart J*, 41(19), 1810-1817. doi:<https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehaa373>
- Wu, F., Zhao, S., Yu, B., Chen, Y. M., Wang, W., Song, Z. G., . . . & Zhang, Y. Z. (2020). A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. *Nature*, 579(7798), 265–269 <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2008-3>.
- Zeng, Z., Yu, H., Chen, H., Qi, W., Chen, L., Chen, G., . . . Wu, D. (2020). Longitudinal changes of inflammatory parameters and their correlation with disease severity and outcomes in patients with COVID-19 from Wuhan, China. *Critical Care*, 24(1), 1–12 <https://doi.org/10.1186/s13054-020-03255-0>.