

GAMBARAN HISTOPATOLOGI ORGAN PARU-PARU MENCIT GALUR BALB C YANG DIVAKSINASI DENGAN VAKSIN *MULTI-EPI TOPE* COVID-19

Abhista Reyhan^{1*}, Sayu Putu Yuni Paryati², Teja Koswara³

Program Studi Sarjana Kedokteran, Fakultas Kedokteran Universitas Jenderal Achmad Yani Cimahi¹, Departemen Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran Universitas Jenderal Achmad Yani Cimahi², Departemen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran Universitas Jenderal Achmad Yani Cimahi³

*Corresponding Author : abhistareyhan29@gmail.com

ABSTRAK

COVID-19 merupakan infeksi saluran pernapasan yang disebabkan oleh SARS-CoV-2. Vaksinasi menjadi strategi utama dalam menekan angka kejadian dan keparahan penyakit. Vaksin multi-epitope dikembangkan untuk meningkatkan efektivitas imun tanpa memicu reaksi berlebihan. Namun, imunogenisitasnya masih menjadi tantangan sehingga penggunaan adjuvant seperti chitosan diperlukan. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh vaksin multi-epitope terhadap histopatologi paru mencit Balb-C serta efek adjuvant chitosan dalam meningkatkan respons imun. Penelitian eksperimental laboratorium ini menggunakan post-test only control group design dengan mencit jantan Balb-C (6-8 minggu, 20-30 g). Subjek dibagi menjadi lima kelompok: kontrol negatif, vaksin multi-epitope, dan vaksin multi-epitope dengan chitosan, dengan pengamatan pada hari ke-21 dan ke-28. Histopatologi paru diamati menggunakan pewarnaan Hematoksin Eosin (HE). Data dianalisis secara deskriptif berdasarkan perubahan histopatologi. Hasil menunjukkan bahwa sebagian besar kelompok tidak mengalami infiltrasi sel radang akut atau kronis yang signifikan. Struktur alveoli tetap dalam batas normal tanpa fibrosis interstitial. Pada beberapa sampel ditemukan infiltrasi limfosit ringan hingga sedang di sekitar bronkiolus dan pembuluh darah, yang diduga merupakan respons imun normal terhadap antigen vaksin. Kongesti vaskuler dan perdarahan interstitial ditemukan di semua kelompok, kemungkinan akibat prosedur euthanasia menggunakan CO₂. Kesimpulan penelitian ini menunjukkan bahwa vaksin multi-epitope dengan dan tanpa adjuvant chitosan tidak menyebabkan kerusakan histopatologi paru mencit yang signifikan. Vaksin ini berpotensi menjadi kandidat yang aman dalam pengembangan vaksin COVID-19 yang lebih efektif.

Kata kunci : adjuvan chitosan, Covid-19, histopatologi paru, mencit galur BALB-C, vaksin multiepitop

ABSTRACT

COVID-19 is a respiratory infection caused by SARS-CoV-2. Vaccination is the main strategy to reduce the incidence and severity of the disease. Multi-epitope vaccines are developed to increase immune effectiveness without triggering excessive reactions. However, its immunogenicity is still a challenge so the use of adjuvants such as chitosan is needed. This study aims to evaluate the effect of multi-epitope vaccines on the lung histopathology of Balb-C mice and the effect of chitosan adjuvant in enhancing immune responses. This laboratory experimental study used a post-test only control group design with male Balb-C mice (6-8 weeks, 20-30 g). Data were analyzed descriptively based on histopathological changes. The results showed that most groups did not experience significant acute or chronic inflammatory cell infiltration. The structure of the alveoli remained within normal limits without interstitial fibrosis. In some samples, mild to moderate lymphocyte infiltration was found around the bronchioles and blood vessels, which is thought to be a normal immune response to the vaccine antigen. Vascular congestion and interstitial bleeding were found in all groups, possibly due to the euthanasia procedure using CO₂. The conclusion of this study shows that the multi-epitope vaccine with and without chitosan adjuvant does not cause significant histopathological damage to the lungs of mice. This vaccine has the potential to be a safe candidate in the development of a more effective COVID-19 vaccine.

Keywords : chitosan adjuvant, Covid-19, lung histopathology, BALB-C Mice, multiepitope vaccine

PENDAHULUAN

Penyakit *Coronavirus Disease* 2019 (COVID-19) merupakan infeksi menular yang disebabkan oleh Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2). Virus ini menargetkan organ vital tubuh dan menyasar pneumosit di paru-paru yang menyebabkan gangguan pernapasan yang fatal. Infeksi covid-19 ditandai dengan penyakit saluran pernafasan bagian bawah seperti bronkitis, bronkiolitis, dan pneumonia (Abraham Peele et al., 2021; Naqvi et al., 2020a). Dalam memutuskan rantai penularan, vaksinasi SARS-CoV-2 dianggap sebagai salah satu pendekatan yang paling efektif dalam pembentukan herd immunity. (Widhiastu & Setyawati, 2022) Terdapat beberapa macam vaksin yang telah dikembangkan seperti vaksin mRNA, vaksin vektor virus, vaksin *whole-pathogen inactivated virus*, vaksin subunit, dan vaksin virus *particle like* dan sedang dikembangkan vaksin variasi baru, yaitu vaksin *multi-epitope*. (Akbar & Humaedi, 2020; Wulandari, 2021) Pemerintah Indonesia telah melaksanakan program vaksinasi nasional sebagai upaya penanganan COVID-19 yang dimulai tanggal 13 Januari 2021. Indonesia telah menggunakan 5 jenis vaksin, yakni produksi Sinovac (CoronaVac), AstraZeneca yang diproduksi SK-Bio, Sinopharm, Pfizer-BioNtech, dan Moderna. Semua jenis vaksin ini seluruhnya telah direkomendasikan WHO melalui daftar penggunaan darurat (EUL). (Tamara, 2021)

Meskipun vaksinasi telah terbukti efektif dalam mengurangi keparahan infeksi dan angka kematian akibat COVID-19, masih terdapat tantangan dalam pengembangan vaksin yang lebih aman, efektif, dan dapat menjangkau berbagai populasi secara merata. Penyakit COVID-19 juga dapat memicu berbagai sindrom merugikan yang mungkin diperparah oleh vaksin, seperti *Antibody-Dependent Enhancement* (ADE) dan *Vaccine-Associated Enhanced Respiratory Disease* (VAERD). (Zayou et al., 2023) Efek samping yang berhubungan dengan paru-paru pasca vaksinasi COVID-19 meliputi sesak napas, batuk, dan dalam kasus yang sangat jarang, peradangan paru-paru atau pneumonitis. (Naqvi et al., 2020b) Kasus pneumonitis pasca vaksinasi telah dilaporkan terutama pada vaksin mRNA seperti Pfizer dan Moderna, meskipun insidensnya sangat rendah. (Abraham Peele et al., 2020)

Sebagian besar vaksin SARS-CoV-2 yang sedang dikembangkan bertujuan untuk merangsang respon imun terhadap lonjakan protein. Namun, riset sebelumnya menunjukkan bahwa platform vaksin yang mengekspresikan secara menyeluruh glikoprotein SARS-CoV-1 atau menggunakan seluruh virus yang tidak aktif dapat meningkatkan risiko penyakit pernapasan yang parah dan menyebabkan patologi paru-paru yang merugikan pada model hewan percobaan. Oleh karena itu, melalui vaksin multiepitope penting untuk memilih epitop yang tepat pada sel CD4+, CD8 T, dan B dalam pengembangan vaksin yang aman dan efektif melawan SARS-CoV-2. (Wulandari, 2021) Keunggulan vaksin ini terletak pada efisiensinya dalam merangsang sistem imun adaptif tanpa memicu respons imun yang berlebihan. Namun, salah satu kendala dalam penggunaan vaksin multi-epitope adalah rendahnya imunogenisitasnya karena ukurannya yang kecil. Untuk mengatasi hal ini, penggunaan adjuvant seperti chitosan dapat menjadi solusi dalam meningkatkan efektivitas imunogenik vaksin multi-epitope. Chitosan diketahui memiliki karakteristik yang mendukung peningkatan respons imun, termasuk toksisitas rendah, biodegradabilitas tinggi, dan aktivitas antibakteri yang baik. (Firmansyah et al., 2021)

Organ paru-paru menjadi salah satu organ yang paling terdampak dalam infeksi COVID-19, sehingga analisis histopatologi paru-paru pada hewan model yang divaksinasi dapat memberikan wawasan penting terkait keamanan dan efektivitas vaksin multi-epitope. (Mutiarahmi et al., 2021) Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh pemberian vaksin multi-epitope COVID-19 terhadap gambaran histopatologi organ paru-paru mencit galur Balb-C, serta menganalisis efek penggunaan chitosan sebagai adjuvant dalam meningkatkan respons imun terhadap vaksin tersebut. Dengan demikian, penelitian ini

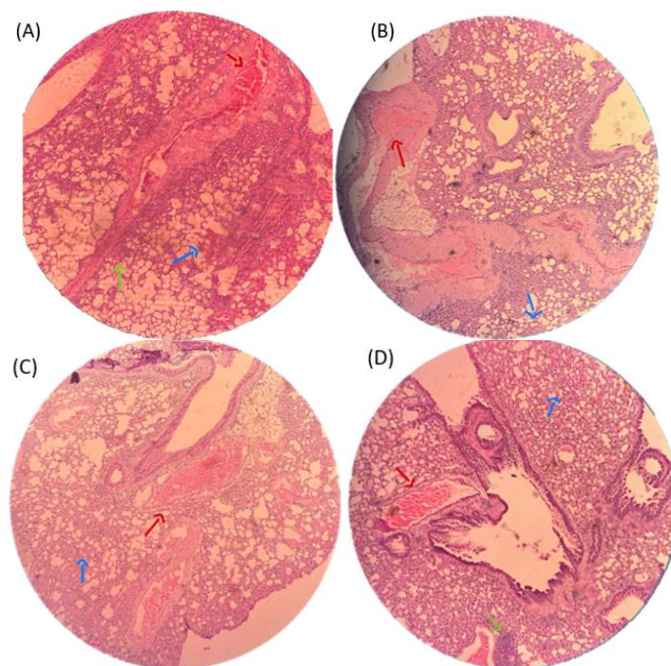
diharapkan dapat memberikan kontribusi dalam pengembangan vaksin COVID-19 yang lebih aman dan efektif serta menjadi dasar bagi penelitian lanjutan mengenai vaksin multi-epitope dalam pencegahan penyakit infeksi lainnya.

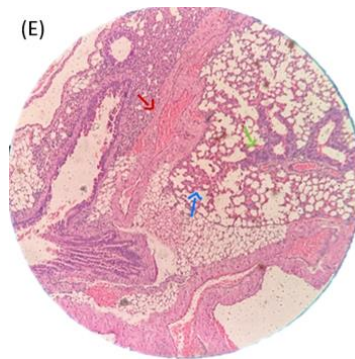
METODE

Penelitian ini merupakan penelitian laboratorium eksperimental dengan desain *post-test only control group design*, yang melibatkan mencit jantan galur Balb-C sebagai hewan percobaan. Penelitian dilakukan di Laboratorium Hewan Fakultas Kedokteran Universitas Jenderal Achmad Yani (FK Unjani) pada Agustus-September 2024. Subjek penelitian adalah mencit jantan berusia 6-8 minggu dengan berat 20-30 g. Lima kelompok perlakuan diberikan vaksin Covid-19 multiepitop dengan variasi, yaitu tanpa perlakuan (kontrol negatif), vaksin multiepitop, vaksin multiepitop dengan tambahan chitosan, dengan pengamatan pada hari ke-21 dan ke-28. Penelitian ini menggunakan *Rancangan Acak Lengkap* (RAL) untuk distribusi perlakuan secara acak pada setiap kelompok.

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah jenis vaksin yang diberikan (vaksin multiepitop, vaksin multiepitop dengan chitosan), sementara variabel terikatnya adalah gambaran histopatologi paru. Data dikumpulkan melalui pengamatan histopatologi organ paru setelah hewan diuji dan dieuthanasia pada hari ke-21 atau ke-28. Pengambilan sampel organ dilakukan setelah proses euthanasia dan organ dianalisis menggunakan mikroskop dengan pewarnaan Hematoksin Eosin (HE). Penelitian ini telah mendapatkan persetujuan etis dari Komite Etik Hewan Fakultas Kedokteran Universitas Jenderal Achmad Yani untuk memastikan bahwa semua prosedur sesuai dengan standar etik yang berlaku. Data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif untuk melihat perbandingan antara kelompok perlakuan dan kontrol berdasarkan perubahan histopatologis yang diamati pada jaringan paru mencit.

HASIL





Gambar 1 Mikroskopis Paru Mencit pada Tiap Kelompok
(A) Kelompok Kontrol; (B) Kelompok Perlakuan 1; (C) Kelompok Perlakuan 2; (D) Kelompok Perlakuan 3; (E) Kelompok Perlakuan 4.
Kongesti Vaskular Ditunjukkan Panah Merah, Perdarahan Interstitial dan Intraalveolar Ditunjukkan Panah Biru, Infiltrasi Sel Radang Ditunjukkan Panah Hijau.

Berdasarkan pengamatan, hasil menunjukkan bahwa sebagian besar kelompok tidak mengalami infiltrasi sel radang akut atau kronis yang signifikan. Struktur alveoli tetap dalam batas normal, dan tidak ditemukan fibrosis interstitial. Meski demikian, pada beberapa sampel (P1 dan P3), ditemukan infiltrasi sel radang limfosit ringan hingga padat di sekitar pembuluh darah (perivaskuler) dan bronkiolus (peribronchial). Kondisi ini tidak disertai oleh tanda-tanda alveolitis, fibrosis interstitial, atau kerusakan struktur alveolus dan bronkiolus. Fenomena ini kemungkinan besar bersifat fisiologis dan bukan indikasi kerusakan yang signifikan akibat vaksinasi, melainkan bisa disebabkan oleh respons imun normal terhadap antigen vaksin. Pada seluruh sampel sediaan (kontrol negatif, kelompok perlakuan (P1-P4)) terdapat gambaran pembendungan darah / 'kongesti vaskuler' yang disertai dengan perdarahan setempat-setempat di jaringan interstitial dan didalam lumen alveoli.

PEMBAHASAN

Infiltrasi sel radang merupakan peningkatan permeabilitas pembuluh darah yang terjadi karena adanya respon normal sehingga proses biokimia internal maupun eksternal yang menghasilkan suatu radikal bebas endogen yang pada akhirnya dapat menimbulkan terjadinya suatu inflamasi yang ditunjukkan dengan adanya leukosit terutama neutrofil pada mikrovaskuler pulmonal pada dinding alveolus. (Mamonto & Rahmawati, 2021) Infiltrasi sel radang yang diamati pada beberapa sampel bersifat ringan dan tidak merata di semua kelompok perlakuan. Hal ini menunjukkan bahwa infiltrasi tersebut mungkin merupakan respons imun normal terhadap pemberian antigen vaksin dan bukan indikasi kerusakan jaringan yang signifikan. Secara fisiologis, infiltrasi sel radang dapat terjadi sebagai mekanisme pertahanan tubuh terhadap antigen asing. (Kumar et al., 2013) Namun, perlu dipertimbangkan bahwa prosedur euthanasia menggunakan CO₂ juga dapat berkontribusi terhadap respons inflamasi yang diamati.

Prosedur euthanasia menggunakan CO₂ dapat menyebabkan hipoksia jaringan yang kemudian dapat menyebabkan kerusakan pada sel epitel paru-paru melalui mekanisme stres oksidatif dan perubahan pH lokal yang memicu asidosis respiratorik. Proses ini menciptakan lingkungan inflamasi yang menarik berbagai jenis sel imun ke lokasi kerusakan. (The Swedish 3Rs Center, 2024; Turner et al., 2020) Paparan CO₂ terbukti dapat meningkatkan aktivasi sel dendritik melalui jalur yang melibatkan reseptor CO₂. Aktivasi ini menghasilkan pelepasan sitokin seperti TNF- α , IL-1 β , dan IL-6, yang mempercepat infiltrasi sel-sel imun lainnya, termasuk neutrofil dan makrofag. Paparan CO₂ tidak hanya mengaktifkan sel dendritik tetapi juga menginduksi proliferasi dan diferensiasi sel T. Khususnya, subset Th1 dan Th17 memainkan peran dominan dengan memproduksi interferon- γ (IFN- γ) dan IL-17. Sitokin-

sitokin ini berfungsi untuk memperkuat respons inflamasi dan meningkatkan permeabilitas pembuluh darah, sehingga memungkinkan migrasi sel imun ke jaringan paru-paru. (Cummins et al., 2014)

Kongesti merupakan gejala patologis pertama dari kerusakan jaringan dan terjadi peningkatan jumlah darah di dalam pembuluh darah sehingga akan tampak kapiler darah melebar berisi eritrosit. (Ringgi et al., 2023) Kongesti pembuluh darah yang ditemukan dalam penelitian ini bukan disebabkan oleh vaksin COVID-19. Temuan ini sejalan dengan berbagai penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa vaksin COVID-19 bekerja dengan merangsang respons imun adaptif tanpa memicu reaksi inflamasi berlebihan yang dapat mengganggu sirkulasi darah tetapi lebih mungkin disebabkan oleh efek hipoksia akibat prosedur euthanasia menggunakan CO₂ daripada akibat pemberian vaksin. (Costa et al., 2024; Shomer et al., 2020) Paparan konsentrasi tinggi CO₂ mengganggu pertukaran gas di alveolus paru-paru, sehingga menyebabkan hipoksia sistemik. Kondisi ini diakibatkan oleh peningkatan tekanan parsial CO₂ (PaCO₂) yang menggeser keseimbangan oksigen dalam darah.

Perdarahan interstitial dan intraalveolar pada paru mencit mengacu pada kondisi keluarnya darah ke dalam jaringan interstitial dan rongga alveolar di paru-paru. Kondisi ini dapat disebabkan oleh berbagai faktor, termasuk infeksi, paparan zat toksik, atau respons inflamasi yang berlebihan. (Dimbath et al., 2021) Zat karbon dioksida yang terhirup dalam konsentrasi tinggi dapat menginduksi stres oksidatif pada sel endotel pembuluh darah paru-paru. Stres oksidatif ini memicu disfungsi endotel melalui produksi radikal bebas dan aktivasi jalur sinyal inflamasi. Akibatnya, terjadi peningkatan permeabilitas vaskuler yang memungkinkan plasma dan sel imun bermigrasi ke ruang interstitial dan alveolus. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa peningkatan kadar CO₂ (hiperkapnia) memperburuk kerusakan endotel, yang berkontribusi terhadap perdarahan intraalveolar. (Fisher et al., 2016; Zhang et al., 2022) Peningkatan permeabilitas vaskuler pada paru mencit yang dipapar CO₂ dihubungkan dengan perubahan ekspresi protein junction interendotelial, seperti VE-cadherin dan occludin. CO₂ memengaruhi jalur kalsium intraseluler yang mengganggu integritas membran sel endotel, sehingga terjadi kebocoran plasma dan infiltrasi eritrosit ke jaringan alveolar.

Vaksin multiepitop dirancang untuk menginduksi respons imun spesifik tanpa memicu badai sitokin yang berlebihan. Hal ini disebabkan oleh sifat epitop yang diambil dari bagian spesifik protein virus yang berukuran kecil dan bekerja spesifik dengan reseptor inang. Dengan demikian, vaksin mampu menginduksi respons imun yang terkontrol dan protektif tanpa menimbulkan efek samping berlebihan. (Shehzad et al., 2022; Shehzada et al., 2022) Adjuvant kitosan memiliki peran penting dalam meningkatkan efektivitas vaksin multiepitop. Adjuvant yang digunakan bersama vaksin berfungsi meningkatkan imunogenisitas dengan cara memperbesar ukuran epitop dan memastikan pelepasan antigen yang bertahap (depot antigen). Hal ini membantu mengurangi risiko pelepasan antigen dalam jumlah besar yang dapat memicu badai sitokin. (Jamali et al., 2023)

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil kajian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa kombinasi vaksin multiepitop dengan adjuvant kitosan dapat meningkatkan efektivitas imun tanpa risiko badai sitokin. Analisis histopatologi paru mencit pasca-imunisasi tidak menunjukkan adanya tanda-tanda kerusakan atau inflamasi, mengindikasikan bahwa vaksin multiepitope ini aman untuk organ paru. Dengan demikian, vaksin ini dapat dianggap aman pada dosis yang digunakan dalam penelitian ini. Hal ini menjadikan vaksin multiepitop sebagai alternatif yang menjanjikan dalam pengembangan vaksin Covid-19 yang lebih aman dan efektif di masa depan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada pembimbing yang telah membimbing selama proses pelaksanaan penelitian ini. Terimakasih kepada pihak Fakultas Kedokteran Universitas Jenderal Achmad Yani atas dukungan yang diberikan, serta kepada seluruh pihak yang telah berkontribusi dan memberikan bantuan dalam proses penyusunan karya ilmiah ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Abraham Peele, K., Srihansa, T., Krupanidhi, S., Ayyagari, V. S., & Venkateswarulu, T. C. (2020). Design of multi-epitope vaccine candidate against SARS-CoV-2: a in-silico study. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 1–9. <https://doi.org/10.1080/07391102.2020.1770127>
- Abraham Peele, K., Srihansa, T., Krupanidhi, S., & Ayyagari, V. S. Venkateswarulu, T. C. (2021). Design of multi-epitope vaccine candidate against SARS-CoV-2: A in-silico study. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 39(10), 3793–3801.
- Akbar, U. R., & Humaedi, S. (2020). Peran Csr Dalam Upaya Mengatasi Pandemi Covid-19. *Prosiding Penelitian Dan Pengabdian Kepada Masyarakat*, 341.
- Costa, C. J. S., Wadt, D., Conti, L. C., Landi, M. F. de A., Cintra, L., de Oliveira, F. A., & Mori, C. M. C. (2024). Histological Alterations in the Internal Organs of Wistar Han Rats (*Rattus norvegicus*) Euthanized by Five Different Methods. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*, 63(1), 81–88. <https://doi.org/10.30802/AALAS-JAALAS-23-000007>
- Cummins, E. P., Selfridge, A. C., Sporn, P. H., Sznajder, J. I., & Taylor, C. T. (2014). Carbon Dioxide-Sensing in Organisms and Its Implications for Human Disease. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 71(5), 831–845. <https://doi.org/10.1007/s00018-013-1470-6>
- Dimbath, E., Maddipati, V., Stahl, J., Sewell, K., Domire, Z., George, S., & Vahdati, A. (2021). Implications of Microscale Lung Damage for COVID-19 Pulmonary Ventilation Dynamics: A Narrative Review. *Life Sciences*, 274, 119341. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2021.119341>
- Firmansyah, M. A., Susilo, A., Haryanti, S. D., & Herowati, R. (2021). Desain Vaksin Berbasis Epitop dengan Pendekatan Bioinformatika untuk Menekan Glikoprotein Spike SARS-CoV-2. *Jurnal Farmasi Indonesia*, 18(2), 82–96.
- Fisher, S., Burgess, W. L., Hines, K. D., Mason, G. L., & Owiny, J. R. (2016). Interstrain Differences in CO₂-Induced Pulmonary Hemorrhage in Mice. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*, 55(6), 811–815.
- Jamali, S., Zamanzadeh, Z., Asadzadeh, A., Owji, F., & Abkar, M. (2023). Design of a Multi-epitope Vaccine Using HA and M1 Proteins from Influenza and S, E, and M Proteins from SARS-CoV-2 by in Silico Tools. *Informatics in Medicine Unlocked*, 43, 101397. <https://doi.org/10.1016/j.imu.2023.101397>
- Kumar, V., Abbas, A. K., & Aster, J. C. (2013). *Buku Ajar Patologi Robbins* (9th ed.). Elsevier Saunders.
- Mamonto, S., & Rahmawati, Y. (2021). Systematic Review: Perbandingan Struktur Histologi Alveolus Paru Mencit (*Mus Musculus*) Normal dan Yang Diinduksi Asap Rokok. *Student of Medical Laboratory Technology*, 1–17.
- Mutiarahmi, C. N., Hartady, T., & Lesmana, R. (2021). Use of Mice As Experimental Animals in Laboratories That Refer To the Principles of Animal Welfare: a Literature Review. *Indonesia Medicus Veterinus*, 10(1), 134–45.

- Naqvi, A. A. T., Fatima, K., Mohammad, T., Fatima, U., Singh, I. K., Singh, A., Atif, S. M., Hariprasad, G., Hasan, G. M., & Hassan, Md. I. (2020a). Insights into SARS-CoV-2 genome, structure, evolution, pathogenesis and therapies: Structural genomics approach. *Molecular Basis of Disease*, 1–17.
- Naqvi, A. A. T., Fatima, K., Mohammad, T., Fatima, U., Singh, I. K., Singh, A., Atif, S. M., Hariprasad, G., Hasan, G. M., & Hassan, Md. I. (2020b). Insights into SARS-CoV-2 genome, structure, evolution, pathogenesis and therapies: Structural genomics approach. *Molecular Basis of Disease*, 1–17.
- Ringgi, T. N., Sitompul, Y. Y., Amalo, F. A., & Winarso, A. (2023). Gambaran Patologi Anatomi Dan Histopatologi Organ Visceral Kambing Kacang (*Capra aegagrus hircus*) yang Terinfeksi Sistiserkus. *Jurnal Veteriner Nusantara*, 6(24), 1–12.
- Shehzad, A., Sumartono, C., Nugraha, J., Susilowati, H., Wijaya, A. Y., Ahmad, H. I., Kashif, M., Tyasningsih, W., & Rantam, F. A. (2022). Development of a Multi-Epitope Spike Glycoprotein Vaccine To Combat SARS-Cov-2 Using The Bioinformatics Approach. *Journal of Pharmacy & Pharmacognosy Research*, 10(3), 445–458. https://doi.org/10.56499/jppres21.1210_10.3.445
- Shehzada, A., Sumartono, C., Nugraha, J., Susilowati, H., Wijayab, A. Y., Ahmad, H. I., Tyasningsih, W., & Rantam, F. A. (2022). Engineering of a Multi-Epitope Subunit Vaccine Against SARS-CoV-2 Through the Viroinformatic Approach. *Karbala International Journal of Modern Science*, 8(2), 275–291. <https://doi.org/10.33640/2405-609X.3221>
- Shomer, N. H., Allen-Worthington, K. H., Hickman, D. L., Jonnalagadda, M., Newsome, J. T., Slate, A. R., Valentine, H., Williams, A. M., & Wilkinson, M. (2020). Review of Rodent Euthanasia Methods. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*, 59(3), 242–253. <https://doi.org/10.30802/AALAS-JAALAS-19-000084>
- The Swedish 3Rs Center. (2024). *Support in Choosing Method of Euthanasia for Mice*.
- Turner, P. V., Hickman, D. L., van Luijk, J., Ritskes-Hoitinga, M., Sargeant, J. M., Kurosawa, T. M., Agui, T., Baumans, V., Choi, W. S., Choi, Y.-K., Flecknell, P. A., Lee, B. H., Otaegui, P. J., Pritchett-Corning, K. R., & Shimada, K. (2020). Welfare Impact of Carbon Dioxide Euthanasia on Laboratory Mice and Rats: A Systematic Review. *Frontiers in Veterinary Science*, 7. <https://doi.org/10.3389/fvets.2020.00411>
- Widhiastu, A., & Setyawati, T. (2022). Peran Vaksinasi Covid-19 Untuk Pembentukan Herd Immunity. *Jurnal Medical Profession (MedPro)*, 4(2), 191–200.
- Wulandari, D. (2021). Mutasi Genetik Virus SARS COV-2 dan Dampaknya pada Pemeriksaan Laboratorium dan Vaksinasi." Pendidikan Berkesinambungan Patologi Klinik 2021: Challenges And Opportunities In Covid-19 Laboratory Testing (2021). *Pendidikan Berkesinambungan Patologi Klinik 2021: Challenges And Opportunities In Covid-19 Laboratory Testing (2021)*.
- Zayou, L., Prakash, S., Dhanushkodi, N. R., Quadiri, A., Ibraim, I. C., Singer, M., Salem, A., Shaik, A. M., Suzer, B., Chilukuri, A., Tran, J., Nguyen, P. C., Sun, M., Belmouden, A., Vahed, H., Gil, D., Ulmer, J. B., & Benmohamed, L. (2023). A multi-epitope/CXCL11 prime/pull coronavirus mucosal vaccine boosts the frequency and the function of lung-resident memory CD4⁺ and CD8⁺ T cells and enhanced protection against COVID-19-like symptoms and death caused by SARS- CoV-2 infection. *Journal of Virology*, 97(12), 1–17.
- Zhang, L., Xinpeng, H., Vidya Devanathadesikan, S., Ibrahim Abdel Aziz, I., & Ou, L. (2022). Tiliatin Alleviates Airway Inflammation in Ovalbumin-Induced Allergic Asthma in Mice Through the Regulation of Th2 Cytokines And TGF- β 1/Smad Markers. *Arabian Journal of Chemistry*, 15(8), 103961. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2022.103961>