

**PENGARUH EKSTRAK ROYAL JELLY TERHADAP  
VIRULENSI *Pseudomonas aeruginosa*  
(Analisis Ekspresi mRNA NFAT1, TNF- $\alpha$ , dan IL-8 pada Sel HeLa, serta  
Produksi Pyocyanin)**

**INTISARI**

*Pseudomonas aeruginosa* merupakan bakteri Gram-negatif yang resisten terhadap antibakteri dan memiliki faktor virulensi, berupa *pyocyanin*. Bakteri ini menginduksi respon inflamasi yang ditandai dengan teraktivasinya NFAT1 dan peningkatan ekspresi mRNA TNF- $\alpha$  dan IL-8. *Royal jelly* merupakan produk lebah yang memiliki efek antiinflamasi dan antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak *royal jelly* terhadap penurunan ekspresi mRNA NFAT1, TNF- $\alpha$ , dan IL-8 pada sel HeLa pascapaparan *P. aeruginosa*, serta peningkatan produksi *pyocyanin* pada *P. aeruginosa*.

Sel HeLa ( $1,2 \times 10^6$  sel/ml per well) digunakan untuk menguji antiinflamasi dan diberi perlakuan awal dengan ekstrak *royal jelly* dan ibuprofen selama 30 menit sebelum paparan  $1,5 \times 10^7$  CFU/ml *P. aeruginosa* ATCC<sup>®</sup> 10145<sup>TM</sup> selama 2 jam. Kuantifikasi ekspresi mRNA NFAT1, TNF- $\alpha$ , dan IL-8 dilakukan dengan menggunakan metode *relative quantification* ( $2^{-\Delta\Delta C_t}$ ). *Pseudomonas aeruginosa* ATCC<sup>®</sup> 10145<sup>TM</sup> dan isolat klinis digunakan untuk uji kuantifikasi produksi *pyocyanin*. Bakteri dikultur pada media BHI selama 36 jam dan analisis produksi *pyocyanin* dilakukan dengan mengukur absorbansi  $\lambda=690$  nm.

Analisis statistik parametrik ANOVA menunjukkan bahwa terdapat perbedaan signifikan ( $p < 0,05$ ) dari ekspresi mRNA NFAT1, TNF- $\alpha$ , dan IL-8 di antara kelompok perlakuan. Uji *post hoc* Games-Howell dan Tukey HSD menunjukkan bahwa ekstrak *royal jelly* 25% memiliki ekspresi mRNA NFAT1, TNF- $\alpha$ , dan IL-8 yang secara signifikan lebih rendah dibandingkan ekstrak *royal jelly* 6,25%. Uji *One way ANOVA* juga menunjukkan adanya perbedaan signifikan ( $p < 0,05$ ) dari produksi *pyocyanin* di antara konsentrasi-konsentrasi *royal jelly*. Uji *post hoc* Tukey HSD menunjukkan konsentrasi 12,5% dan 6,25% secara signifikan meningkatkan produksi *pyocyanin* pada kedua strain *P. aeruginosa*.

Kesimpulan dari penelitian ini adalah ekstrak *royal jelly* dapat menurunkan ekspresi mRNA NFAT1, TNF- $\alpha$ , dan IL-8 pada sel HeLa pascapaparan *P. aeruginosa* dan ekstrak *royal jelly* pada konsentrasi subinhibitor dapat meningkatkan produksi *pyocyanin* pada *P. aeruginosa*, baik ATCC<sup>®</sup> 10145<sup>TM</sup> maupun isolat klinis.

Kata kunci: *Pseudomonas aeruginosa*, NFAT1, TNF- $\alpha$ , IL-8, *Pyocyanin*, *Royal jelly*

***THE EFFECT OF ROYAL JELLY ON *Pseudomonas aeruginosa* VIRULENCY***

***(Analysis of NFAT1, TNF- $\alpha$ , IL-8 mRNA Expression on HeLa Cells, and Pyocyanin Production)***

**ABSTRACT**

*Pseudomonas aeruginosa* is multidrug resistant Gram-negative bacteria, possessing pyocyanin as one of virulence factor. These bacteria are able to induce an inflammatory response characterized by activation of NFAT1 and increased TNF- $\alpha$  and IL-8 mRNA expression. Royal jelly is natural product produced by bees and has anti-inflammatory and antibacterial effects. This research aimed to determine the effect of royal jelly extract on decreasing of NFAT1, TNF- $\alpha$ , and IL-8 mRNA expression in *P. aeruginosa*-stimulated HeLa cells, as well as on increasing pyocyanin production in *P. aeruginosa*.

HeLa cells were used to test anti-inflammatory. HeLa cells ( $1.2 \times 10^6$  cells/ml per well) were pretreated with royal jelly extract and ibuprofen for 30 minutes before exposure to  $1.5 \times 10^7$  CFU/ml *P. aeruginosa* ATCC<sup>®</sup> 10145<sup>™</sup> for 2 hours. The quantification of the mRNA expressions of NFAT1, TNF- $\alpha$ , and IL-8 was carried out using the relative quantification method ( $2^{-\Delta\Delta Ct}$ ). *Pseudomonas aeruginosa* ATCC<sup>®</sup> 10145<sup>™</sup> and clinical isolate were used for the quantification test of pyocyanin production. The bacteria were cultured on BHI media for 36 hours and analysis of pyocyanin production was carried out by measuring the absorbance  $\lambda = 690$  nm.

The statistical analysis of parametric ANOVA showed that there was a significant difference ( $p < 0.05$ ) of NFAT1, TNF- $\alpha$ , and IL-8 mRNA expression between the treatment groups. Post hoc Games-Howell and Tukey HSD tests showed that 25% royal jelly extract had significantly lower NFAT1, TNF- $\alpha$ , and IL-8 mRNA expression than 6.25%. The One way ANOVA test also showed a significant difference ( $p < 0.05$ ) in pyocyanin production between royal jelly extract concentrations. Post hoc Tukey HSD test showed that the concentrations of 12.5% and 6.25% significantly increased pyocyanin production in both *P. aeruginosa* strains.

This study concluded that royal jelly can reduce the expression of NFAT1, TNF- $\alpha$ , and IL-8 mRNA in *P. aeruginosa*-stimulated HeLa cells and the subinhibitory concentration of royal jelly extract can increase pyocyanin production in *P. aeruginosa*, both ATCC<sup>®</sup> 10145<sup>™</sup> and clinical isolate.

**Keywords:** *Pseudomonas aeruginosa*, NFAT1, TNF- $\alpha$ , IL-8, Pyocyanin, Royal jelly