

## **PENGARUH SUPLEMEN VITAMIN D TERHADAP JUMLAH EOSINOFIL JARINGAN PARU PENDERITA ALERGI STUDI EKSPERIMENTAL PADA MENCIT BALB/C YANG DIINDUKSI OVALBUMIN**

Eka Yuli Padma Lestari<sup>1</sup>, Yanuar Iman Santoso<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Mahasiswa Program Pendidikan S-1 Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro

<sup>2</sup> Staf Pengajar Telinga Hidung Tenggorok, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro  
Jl. Prof. H. Soedarto, SH., Tembalang-Semarang 50275, Telp. 024-76928010

### **ABSTRAK**

**Latar Belakang :** Alergi atau reaksi hipersensitivitas yang diperantarai IgE merupakan masalah kesehatan baik di negara berkembang maupun di negara maju. Vitamin D dapat menurunkan kejadian inflamasi dan penyakit infeksi saluran pernapasan, meningkatkan fungsi paru, mengurangi sensitivitas pernapasan dan mengurangi hipersensitivitas terhadap aeroalergen.

**Tujuan :** Membuktikan ada pengaruh pemberian suplemen vitamin D terhadap jumlah eosinofil jaringan paru mencit *Balb/c* yang diinduksi ovalbumin.

**Metode :** Penelitian ini berjenis *True Experimental* dengan desain *Post Test Only Control Group Design*. Sampel sebanyak 18 ekor mencit *Balb/c* dibagi menjadi 3 kelompok, yaitu kelompok kontrol negatif yang hanya diberi pakan standar, kelompok kontrol positif diinduksi ovalbumin, dan kelompok perlakuan diinduksi ovalbumin dan suplemen vitamin D per oral. Penelitian dilaksanakan selama 30 hari. Pada hari ke 31 mencit diterminasi untuk diamati histopatologi jaringan paru.

**Hasil :** pada gambaran histopatologi jaringan paru Uji *Shapiro-Wilk* didapatkan data berdistribusi tidak normal. Kemudian dilakukan uji *Kruskal-Wallis* didapatkan data yang bermakna dengan nilai  $p = 0,006$  ( $p < 0,05$  dilanjutkan dengan uji *Mann Whitney* dengan hasil rerata jumlah eosinofil menunjukkan perbedaan yang bermakna antar kelompok kontrol positif dengan kontrol negatif yaitu  $p = 0,008$  ( $p < 0,05$ ). Selain itu ditemukan pula perbedaan bermakna antara kelompok kontrol positif dengan perlakuan dengan vitamin D yaitu  $p = 0,008$  ( $p < 0,05$ ). Akan tetapi, didapatkan perbedaan tidak bermakna antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan vitamin D yaitu  $p = 0,690$  ( $p < 0,05$ ).

**Simpulan :** Pemberian suplemen vitamin D berpengaruh menurunkan rerata jumlah eosinofil jaringan paru pada mencit *Balb/c* yang diinduksi ovalbumin

**Kata kunci :** Alergi, Rinitis alergi, Vitamin D, Paru, Eosinofil

### **ABSTRAK**

## **EFFECT OF VITAMIN D SUPPLEMENTS TO AMOUNT OF LUNG TISSUE EOSINOPHILS IN ALLERGIC PATIENTS : EXPERIMENTAL STUDIES IN MICE BALB/C INDUCED BY OVALBUMIN**

**Latar Belakang :** Allergic or hypersensitive reaction which mediated by IgE is a health problem in developing and developed country. Vitamin D can decrease the inflammation and infection in respiration canal, increase lung function, decrease respiration sensitivity and decrease the hypersensitivity of aeroalergent.

**Tujuan :** To prove the effect of vitamin D supplement administration to the number of eosinophil in the mice Balb/c's lung tissue which was induced by ovalbumin.

**Metode :** The study is *True Experimental with Post Test Only Control Group Design*. There were 18 samples of Balb/c mice which were divided by 3 groups: negative control group only given standard food, control positive group was induced by ovalbumin, and treatment group was induced by ovalbumin and per oral vitamin D supplement. This study worked during 30 days. At the thirtyone day, the mice were terminated to examine the lung tissue histopathology.

**Hasil :** The histopathology of lung tissue shows that in Shapiro Wilk test the distribution data was not normal. Then Kruskal Wallis test shows that the data was significant with  $p=0,006$  ( $p>0,05$  next with Mann Whitney test and the result was the mean of eosinophil shows the significant differences between the control positive group and negative control group, which was  $p=0,008$  ( $p<0,05$ ). There were significant differences between positive control group and treatment group with vitamin D, which was  $p=0,008$  ( $p<0,05$ ). However, there was non-significant difference between negative control group and treatment group with vitamin D, which was  $p=0,690$  ( $p<0,05$ )

**Simpulan :** The administration of vitamin D supplement has effect of reducing to the mean of eosinophil lung tissue in Balb/c mice which was induced by ovalbumin.

**Kata kunci :** Allergic, rhinitis allergic, vitamin D, lung, eosinofil.

## PENDAHULUAN

Alergi merupakan masalah kesehatan baik di negara berkembang maupun di negara maju. Hal ini terjadi karena peningkatan insiden atopi dan penyakit alergi pada beberapa dekade terakhir<sup>1</sup>. Alergi adalah reaksi hipersensitivitas yang diinisiasi oleh imunologi spesifik yang diperantarai imunoglobulin E (IgE). Salah satu manifestasi alergi adalah rinitis alergi. Rinitis alergi merupakan reaksi inflamasi pada mukosa hidung yang ditandai dengan hidung tersumbat, bersin-bersin dan ingus yang encer<sup>2</sup>. Rinitis alergi tidak mengancam jiwa penderita tetapi dapat mempengaruhi kualitas hidup penderita karena adanya gejala sistemik disamping gejala lokal<sup>3</sup>.

Suatu survei yang dilakukan oleh *World Allergy Organization Specialty and Training Council*, mendapatkan angka prevalensi kejadian alergi di dunia berkisar antara 7,5 % sampai 40 %, dengan rata-rata 22 % dari populasi survei dan negara-negara yang angka prevalensi alerginya tertinggi adalah Jepang, Ukraina, dan Bulgaria<sup>4</sup>. Penelitian dengan kuesioner ISAAC pada anak sekolah dasar usia 6-7 tahun di Semarang yang dilakukan oleh Nancy, didapatkan jumlah kasus alergi berturut-turut meliputi asma 8,1%, rinitis alergi 11,5%, dan eksim 8,2%<sup>5</sup>. Sedangkan Prevalensi rinitis alergi pada siswa umur 16-19 tahun di kodya Semarang tahun 2011 sebesar 30,2%<sup>2</sup>.

OVA atau ovalbumin adalah fosfoglikoprotein monomer dengan berat molekul 45.000 dalton. Melalui berbagai penelitian dengan hewan coba, OVA telah terbukti dapat digunakan sebagai alergen untuk menimbulkan reaksi hipersensitivitas tipe I. Sensitisasi dengan ovalbumin baik secara inhalasi, oral maupun intraperitoneal terbukti dapat merubah kecenderungan respon imun mencit ke arah Th2.<sup>6</sup>

Vitamin D termasuk dalam kelompok vitamin yang larut dalam lemak<sup>7</sup>. Vitamin D terdiri dari dua jenis, yaitu vitamin D<sub>2</sub> (ergokalsiferol) dan vitamin D<sub>3</sub> (kholekalsiferol)<sup>8</sup>. Di alam, vitamin D banyak di temukan pada makanan contohnya minyak ikan, hati, kuning telur, dan beberapa makanan hewani lainnya<sup>7</sup>. Fungsi vitamin D penting untuk pengaturan tulang dan metabolisme otot dalam tubuh manusia<sup>9</sup>. Vitamin D juga berperan dalam perkembangan sistem imun termasuk perkembangan sel T regulasi. T regulasi berperan dalam keseimbangan Th1 dan Th2, pertumbuhan dan perkembangan paru setelah lahir yang dipengaruhi oleh proliferasi otot polos saluran pernafasan dan penurunan proses inflamasi otot pernafasan. Vitamin D dapat menurunkan kejadian inflamasi dan penyakit infeksi pada saluran pernafasan, meningkatkan fungsi paru, mengurangi sensitivitas saluran pernafasan dan mengurangi hipersensitivitas terhadap aeroalergen dan diet<sup>3</sup>. Vitamin D akan berpengaruh terhadap Th2 melalui peningkatan IL-4 dan IL-13 dan penurunan IL-5. IL-4 dan IL-13 menginduksi kelas IgM menjadi IgE. Molekul IgE pada permukaan sel mast menyebabkan degranulasi sel mast dan pelepasan mediator-mediator inflamasi tambahan. IL-5 berperan dalam aktivasi dan rekrutmen eosinofil ke saluran nafas<sup>10,11</sup>

Oleh karena itu, penulis melakukan penelitian untuk mengetahui apakah pemberian suplemen vitamin D berpengaruh terhadap jumlah eosinofil jaringan paru mencit *Balb/c* yang diinduksi ovalbumin.

## METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental yang didesain menggunakan desain *Post Test Only Control Group Design*. Penelitian yang telah menggunakan sampel sebanyak 18 ekor mencit *Balb/c* betina usia 6-12 minggu dengan berat badan rata-rata mencit 20-25 gram yang dibagi menjadi 3 kelompok, yaitu kelompok kontrol negatif, kelompok kontrol positif dan kelompok perlakuan. Jumlah sampel pada masing-masing kelompok terdiri dari 6 ekor mencit *Balb/c* yang ditentukan secara acak (*sample random sampling*). Sebelum

penelitian dilakukan, sampel diadaptasi selama 7 hari. Kelompok kontrol negatif adalah kelompok mencit *Balb/c* yang hanya diberi pakan standar selama 30 hari. Kelompok kontrol positif adalah kelompok mencit *Balb/c* yang diinduksi ovalbumin (injeksi intraperitoneal ovalbumin pada hari ke-0, ke-7 dan ke-14 dengan dosis 0,2 ml suspensi salin yang berisi 10 $\mu$ g ovalbumin dan 2 mg aluminium hidroksida. Inhalasi pada hari ke-19, ke-20, ke-21 dengan dosis ovalbumin 1 % selama 30 menit). Kelompok perlakuan kelompok mencit *Balb/c* yang diinduksi ovalbumin (injeksi intraperitoneal ovalbumin pada hari ke-0, ke-7 dan ke-14 dengan dosis 0,2 ml suspensi salin yang berisi 10 $\mu$ g ovalbumin dan 2 mg aluminium hidroksida, Inhalasi pada hari ke-19, ke-20, ke-21 dengan dosis ovalbumin 1 % selama 30 menit) serta vitamin D per oral dengan dosis 1,56 IU.

Penelitian dilaksanakan selama 30 hari, setelah itu pada hari ke 31 semua mencit *Balb/c* diterminasi dengan cara dekapitasi. Organ paru dari setiap sampel diambil untuk membuat preparat histologi dengan menggunakan pengecatan Hematoxyllin Eosin (HE).

## HASIL

Rerata jumlah eosinofil dilakukan uji normalitas menggunakan *Shapiro-Wilk* dan didapatkan data berdistribusi tidak normal ( $p > 0,05$ ) karena terdapat 2 kelompok yang rerata jumlah eosinofilnya tidak normal yaitu kelompok kontrol negatif dengan rerata jumlah eosinofil 0,006 ( $p > 0,05$ ) dan kelompok perlakuan vitamin D dengan rerata jumlah eosinofil 0,032 ( $p > 0,05$ ). Karena data berdistribusi tidak normal maka uji yang dapat dilakukan selanjutnya yaitu *Kruskal Wallis*.

**Tabel 1.** Uji Normalitas (Rerata Jumlah Eosinofil Jaringan Paru)

Kelompok	Hasil
Kontrol Negatif	0,006
Kontrol Positif	0,062*
Perlakuan Vitamin D	0,032

Keterangan: Signifikan  $p > 0,05$

Dari *Kruskal Wallis Test* didapatkan nilai  $p < 0,05$ , atau signifikan sehingga dilanjutkan dengan uji *Mann Whitney* untuk mengetahui perbedaan antar kelompok.

**Tabel 7. Kruskal Wallis Test (Rerata Jumlah Eosinofil Jaringan Paru)**

Kelompok	Hasil
Kontrol Negatif	
Kontrol Positif	0,006*
Perlakuan Vitamin D	

Keterangan : \*Signifikan  $p < 0,05$

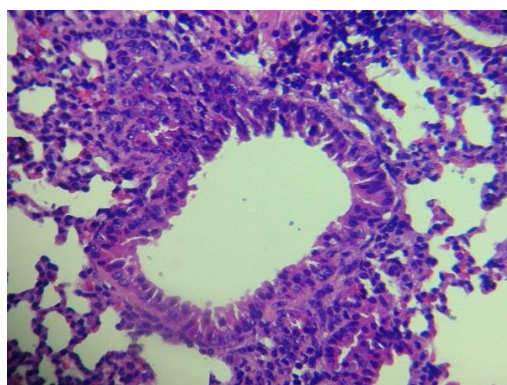
**Tabel 8. Mann Whitney Test (Rerata Jumlah Eosinofil Jaringan Paru)**

Kelompok	Kontrol Negatif	Kontrol Positif	Perlakuan Vitamin D
Kontrol Positif	-	0,008*	0,690
Kontrol Negatif	0,008*	-	0,008*
Perlakuan Vitamin D	0,690	0,008*	-

Keterangan : Signifikan  $p < 0,05$

Hasil *Mann Whitney Test* didapatkan data rerata jumlah eosinofil menunjukkan perbedaan yang bermakna antar kelompok kontrol positif dengan kontrol negatif yaitu  $p=0,008$  ( $p < 0,05$ ). Selain itu ditemukan pula perbedaan bermakna antara kelompok kontrol positif dengan perlakuan dengan vitamin D yaitu  $p = 0,008$  ( $p < 0,05$ ). Akan tetapi, didapatkan perbedaan tidak bermakna antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan vitamin D yaitu  $p=0,690$  ( $p < 0,05$ ).

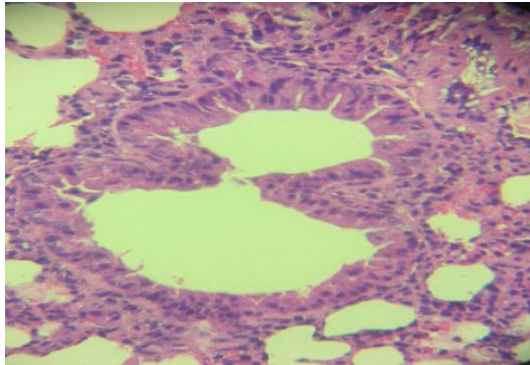
- **Kelompok Kontrol Negatif**



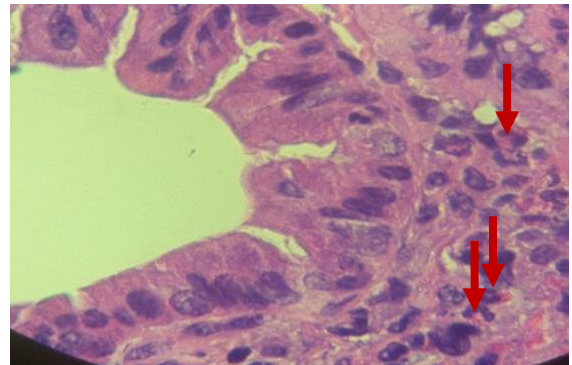
Perbesaran 400x

**Tidak ditemukan infiltrasi eosinofil di jaringan paru.**

- **Kelompok Kontrol Positif**



Perbesaran 400x

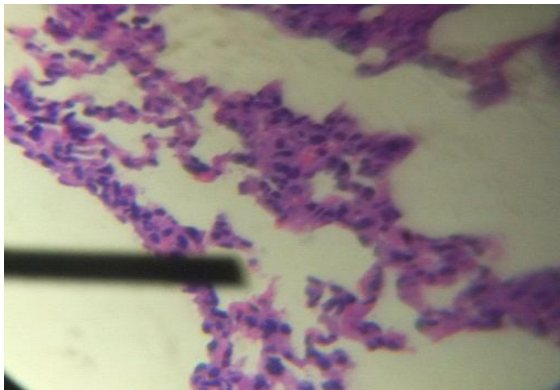


Perbesaran 1000x

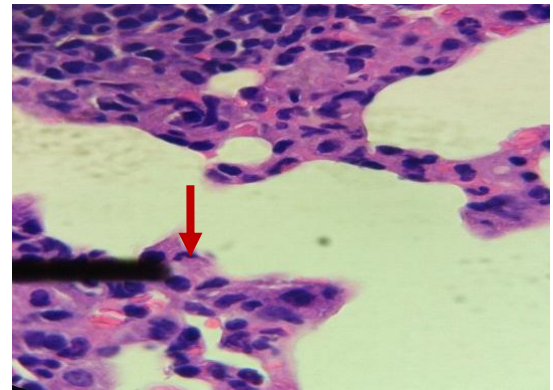
→ Eosinofil

**Ditemukan banyak infiltrasi eosinofil di jaringan paru**

- **Kelompok Perlakuan Vitamin D**



Perbesaran 400x



Perbesaran 1000x

→ Eosinofil

**Ditemukan infiltrasi eosinofil minimal**

## **PEMBAHASAN**

Kondisi yang diberikan pada penelitian ini adalah kondisi alergi, dimana kondisi yang membuat alergi adalah induksi ovalbumin. Ovalbumin merupakan protein alergenic (antigen) dapat mengaktivasi jaringan mesenterium tikus dan sering digunakan untuk menginduksi reaksi alergi pada pemberian yang berulang.<sup>14</sup> Reaksi alergi terjadi melalui tahap-tahap aktivasi sel-sel imunokompeten dan aktivasi sel-sel struktural. Setelah antigen menjadi

komplek antigen, protein sel APC menyajikan antigen kepada sel T CD4+ (*Cluster of Differentiation 4+*) dan molekul CD3, saat inilah terjadi pengenalan antigen. Selanjutnya sel APC mengeluarkan IL-1 (interleukin-1) yang akan merangsang sel T untuk mengeluarkan interleukin seperti IL-2, IL-5, IL-4, IL-13. IL-2 akan mengakibatkan proliferasi sel T.<sup>15,16</sup> IL-5 berperan pada aktivasi dan rekrutmen eosinofil ke saluran napas. IL-4 dan IL-13 menginduksi kelas IgM menjadi IgE dimana molekul IgE pada permukaan sel mast menyebabkan degranulasi dan pelepasan mediator-mediator inflamasi tambahan.<sup>17</sup>

Sel T CD4+ yang teraktivasi juga merekrut sel-sel inflamasi efektor seperti sel mast, eosinofil dan limfosit ke jalan napas dan mengendalikan pelepasan mediator-mediator inflamasi dari sel-sel ini. Rekrutmen sel mast merupakan ikatan silang antara antigen (alergen) dengan antibodi (IgE) pada membran mast sel melalui reseptor IgE (FcεRI) yang kemudian akan menyebabkan degranulasi mast sel. Pemberian ovalbumin pada penelitian ini akan menyebabkan peningkatan terjadinya jumlah prosentase mast sel yang terdegranulasi. Degranulasi mast sel bisa terjadi bila antigen diregulasi oleh suatu kompleks seri dari proses signaling intraseluler yang menginisiasi agregasi FcεRI mast cell. Agregasi FcεRI mengaktifkan fosforilasi sehingga terjadi sinyal transduksi. Sinyal transduksi ini berlanjut dengan mengaktifkan lyn kinase memfosforilasi rantai beta dan gamma. Syk kinase menjadi teraktivasi, kemudian diikuti oleh keterlibatan fosfolipase Cy (PLCy), mitogen activated protein kinases (MAPK) dan fosfoinositol 3 kinase. Pembentukan inositol triphosfat dan diasil gliserol serta second messenger lainnya menggiring untuk melepaskan Ca<sup>2+</sup> intraseluler dan aktivasi kinase C. Mobilisasi Ca<sup>2+</sup> dan aktivasi protein kinase C menyebabkan degranulasi.<sup>18,19</sup>

Penelitian ini menggunakan histopatologi jaringan paru karena terdapat komorbiditas rhinitis alergi dengan asma, dimana penyakit inflamasi pada rinitis alergi dan asma memiliki gambaran histopatologis yang sama, begitu pula dengan kondisi eosinofilia yang terjadi di kedua lokasi yaitu saluran pernapasan atas dan bawah. Asma memiliki karakteristik obstruktif pada bronkus dapat diperberat dengan rinitis alergi. Hubungan antara keduanya dikaitkan dengan beberapa teori, seperti aliran mediator inflamasi dengan adanya post-nasal drip dan aliran sistemik dari mukosa hidung menuju bronkus dan paru. Histamin dan prostaglandin D<sub>2</sub> sebagai mediator inflamasi rinitis alergi berperan dalam vasodilatasi mukosa dan konstriksi otot polos bronkus, sehingga menyebabkan penyempitan dari saluran napas. Hipersekresi mukus terjadi pada saluran pernapasan atas dan bawah.<sup>5,13</sup>

Berdasarkan penelitian ini, pemberian vitamin D per oral memberikan pengaruh kepada jumlah eosinofil pada jaringan paru mencit *Balb/c* yang diinduksi ovalbumin. Vitamin D dapat menurunkan reaksi inflamasi pada alergi yang ditandai dengan penurunan infiltrasi eosinofil.<sup>3</sup> Vitamin D berperan dalam perkembangan sistem imun baik sistem imun bawaan ataupun sistem imun adaptif. Efek vitamin D pada sistem imun bawaan adalah semua mekanisme yang menolak infeksi, tetapi tidak membutuhkan pengenalan spesifik akan patogen. Ekspresi reseptor pengenalan pola, yang mengaktifkan reaksi kekebalan bawaan seperti reseptor Toll-like (TLR) pada monosit dihambat oleh Vitamin D, yang menyebabkan supresi TLR inflamasi. Vitamin D memicu autophagy pada makrofag manusia, yang membantu dalam pertahanan terhadap infeksi oportunistik. Vitamin D juga menginduksi peptida antimikroba endogen dalam sel epitel kulit manusia dan paru, sehingga memperkuat barrier untuk melawan alergen lingkungan.<sup>3,12</sup>

Efek vitamin D pada sistem imun adaptif berpengaruh terhadap Th2 melalui peningkatan IL-4 dan IL-13 dan penurunan IL-5. IL-4 dan IL-13 menginduksi kelas IgM menjadi IgE. Molekul IgE pada permukaan sel mast menyebabkan degranulasi sel mast dan pelepasan mediator-mediator inflamasi tambahan. IL-5 berperan dalam aktivasi dan rekrutmen eosinofil ke saluran nafas.<sup>10,11</sup>

Perbandingan rerata jumlah eosinofil pada jaringan paru menunjukkan perbedaan yang bermakna antar kelompok kontrol negatif dan kelompok kontrol positif serta perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol positif dan kelompok perlakuan vitamin D secara per oral. Hal ini menunjukkan bahwa:

- Pada kelompok kontrol negatif tidak diberi perlakuan apapun hanya diberi pakan standar selama 30 hari. Hasil histopatologi menunjukkan kenaikan sedikit rerata jumlah eosinofil di jaringan paru pada mencit *Balb/c* yang diinduksi ovalbumin.
- Pada kelompok kontrol positif diinduksi ovalbumin hasil histopatologi menunjukkan peningkatan rerata jumlah eosinofil lebih tinggi jika dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif. Sensitisasi dengan ovalbumin baik secara inhalas, oral maupun intraperitoneal terbukti dapat merubah kecenderungan respon imun mencit ke arah Th2. Th2 akan menghasilkan berbagai sitokin seperti IL-3, IL-4, IL-5, dan IL-13. IL-4 dan IL-13 dapat diikat oleh reseptornya dip permukaan sel limfosit B, sehingga limfosit B menjadi aktif dan akan memproduksi imunoglobulin E (IgE). IgE adalah antibodi



yang berperan dalam alergi. IgE di sirkulasi darah akan masuk ke jaringan dan di ikat oleh reseptor IgE di permukaan sel mastosit atau basofil (sel mediator) sehingga kedua sel ini menjadi aktif. Degradasi dari sel mast akan mengeluarkan zat – zat yang menyebabkan reaksi alergi.<sup>6</sup>

- Kelompok perlakuan vitamin D hasil histopatologinya menunjukkan rerata jumlah eosinofil jaringan paru kelompok perlakuan vitamin D peroral menunjukkan penurunan jika dibandingkan dengan kelompok kontrol positif. Vitamin D akan berpengaruh terhadap Th2 melalui peningkatan IL-4, IL-13 dan penurunan IL-5. IL-4 dan IL-13 menginduksi kelas IgM menjadi IgE. Molekul IgE pada permukaan sel mast menyebabkan degranulasi sel mast dan pelepasan mediator mediator inflamasi tambahan. Sedangkan penurunan IL-5 berperan dalam penurunan aktivasi dan recrutmen eosinofil ke saluran nafas.<sup>10,11</sup>

## **SIMPULAN DAN SARAN**

### **Simpulan**

- Pemberian suplemen vitamin D berpengaruh menurunkan rerata jumlah eosinofil jaringan paru pada mencit *Balb/c* yang diinduksi ovalbumin.
- Rerata jumlah eosinofil jaringan paru mencit pada kelompok yang diberi pakan standar lebih rendah dengan kelompok yang diinduksi ovalbumin.
- Rerata jumlah eosinofil jaringan paru mencit kelompok yang diinduksi ovalbumin lebih tinggi daripada kelompok yang diinduksi ovalbumin dan diberi suplemen vitamin D.

### **Saran**

- Pada peneliti berikutnya diharapkan dapat melakukan teknik pengambilan dan pengelola jaringan yang lebih baik.

**DAFTAR PUSTAKA**

1. Fahimi M, Fetarayani D, Baskoro A, Soegiarto G, Effendi C. Asosiasi Antara Polusi Udara dengan IgE Total Serum dan Tes Faal Paru Polisi Lalu Lintas. 2012;Volume 13:1-9.
2. Yulian Prasetya. Prevalensi dan Faktor Resiko Rhinitis Alergi pada Siswa Sekolah Umur 16-19 Tahun di Kodya Semarang. 2011.
3. Ghaffari J, Ranjbar A, Quade A. Vitamin D Deficiency and Allergic Rhinitis in Children: A Narrative Review. *J Pediatr Rev.* 2015;3(2).
4. Warner JO, Kaliner MA, Crisci CD, et al. Allergy practice worldwide: A report by the World Allergy Organization Specialty and Training Council. *Int Arch Allergy Immunol.* 2006;139(2):166-174.
5. Paramita OD, Harsoyo N, Setiawan H. Hubungan Asma, Rinitis Alergik, Dermatitis Atopik dengan IgE Spesifik Anak Usia 6-7 Tahun. 2013;14(6):391-397.
6. Kartikawati H. Pengaruh Polifenol Teh Hijau terhadap respon Alergi pada Mencit Balb/c yang disensitisasi Ovalbumin. 2003.
7. Vlaykov A, Vicheva D, Stoyanov V. The Role of Vitamin D in the Pathogenesis of Allergic Rhinitis and Atopy. 2013;51(3):63-66.
8. Kulie T, Groff A, Redmer J, Hounshell J, Schragger S. Vitamin D: An Evidence-Based Review. *J Am Board Fam Med.* 2009;22(6):698-706.
9. Ful G, Vita W, Fulg G, Szent A. Association Between Vitamin D Deficiency and Allergic Diseases. *J Int Fed Clin Chem Lab Med.*
10. Matheu V et al. *Dual Effects of Vitamin D-induced Alteration of TH1/TH2 Cytokine Expression: Enhancing IgE Production and Decreasing Airway Eosinophilia in Murine Allergic Airway Disease.* Vol 112.; 2003.
11. Gorman S. et al. *Reversible Control by Vitamin D of Granulocytes and Bacteria in the Lungs of Mice: An Ovalbumin-Induced Model of Allergic Airway Disease.* Vol 8.; 2013.
12. Modh D, Katarkar A, Thakkar B, Jain A, Shah P, Joshi K. Role of Vitamin D Supplementation in Allergic Rhinitis. 2014;28(1):35-39.

13. Shaver JR, O'Connor J, Pollice M, Cho SK K, GC FJ. *Pulmonary Inflammation after Segmental Ragweed Challenge in Allergic Asthmatic and Nonasthmatic.*; 1995.
14. Hong, S. H., Kim, S. R., Choi, H. S., Ku, J. M., Seo, H. S., Shin, Y. C., & Ko, S. G. (2014). Effects of Hyeonggaeyeongyo-Tang in Ovalbumin-Induced Allergic Rhinitis Model. *Mediators of inflammation*, 201.
15. Pramantara, I., & Brathiarta, I. (2014). DERMATITIS KONTAK AKIBAT KERJA PADA PEKERJA GARMEN. *E-Jurnal Medika Udayana*, 3(1), 97-108.
16. Meilandani, Santin. Proliferasi Limfosit pada Mencit Balb/c setelah Pemberian Ekstrak Etanol Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea batatas L.*) Diinduksi Ovalbumin. 2014
17. Akers IA, Parsons M, Hill MR, Hollenberg MD, Sanjar S, Laurent GJ, et al. *Mast cell tryptase stimulates human lung fibroblast proliferation via protease-activated receptor-2 Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2000;278: 193 201.
18. Liang X, H Wang, H Tian, H Luo & J Chang. *Synthesis, structure and properties of novel quaternized carboxymethyl chitosan with drug loading capacity . Acta Physico-Chimica Sinica.* 2008;24(2):223-229.
19. Ibrahim, Nur. (2009). "Karboksimetil Kitosan Menurunkan Degranulasi Mast Cell yang Diinduksi Oleh Ovalbumin". *Jurnal Kedokteran Brawijaya.* 25(1):1-9