

PERAN VITAMIN D₃ TERHADAP EKSPRESI IL-10 DAN IL-12 PADA SEL EPITEL KOLON MENCIT MODEL *INFLAMMATORY BOWEL DISEASE*

Centaura Naila*✉, Satrio Wibowo**, Wisnu Barlianto**

Abstrak

Inflammatory Bowel Disease (IBD) pada anak-anak menyebabkan komplikasi meliputi gagal tumbuh dan pubertas yang terlambat, serta 60% mengalami hipovitaminosis D. Patogenesis IBD melibatkan peran interleukin 10 (IL-10) dan IL-12 dalam meregulasi proses homeostasis sistem imun dan epitel usus. Vitamin D dengan bentuk aktif vitamin D₃, memiliki sifat antiinflamasi, namun peran suplementasi vitamin D₃ belum diketahui. Penelitian ini untuk mengetahui peran vitamin D₃ terhadap ekspresi IL-10 dan IL-12 pada sel epitel kolon mencit model IBD. Penelitian berdesain eksperimental *randomized control trial*, 21 sampel ekor mencit, terbagi ke dalam 3 kelompok perlakuan. Penelitian dilakukan di Laboratorium Farmakologi, Laboratorium Biokimia-Biomolekuler, dan Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang, pada bulan Januari - Maret 2018. Suplementasi vitamin D₃ pada sampel dilakukan setelah diinduksi dekstran 3%. Pengukuran ekspresi IL-10 dan IL-12 menggunakan teknik imunohistokimia, skor DAI (*Daily Activity Index*) untuk tingkat inflamasi makroskopis, dan skor MCHI (*The Mouse Colitis Histology Index*) untuk inflamasi berdasarkan histopatologi. Data dianalisis dengan uji ANOVA, Mann Whitney, uji beda Kruskal-Wallis dan uji T, diolah menggunakan SPSS-23. Hasil skor DAI tampak pada penurunan berat badan. Skor MCHI tertinggi tampak pada kontrol positif. Terdapat perbedaan signifikan ekspresi IL-10 antar kelompok kontrol negatif dengan kontrol positif ($p = 0,038$), kontrol negatif dengan perlakuan ($p = 0,001$), dan kontrol positif dengan perlakuan ($p = 0,017$). Uji Kruskal-Wallis antar kelompok berbeda signifikan, pemberian vitamin D₃ meningkatkan ekspresi IL-10 ($p = 0,001$). Terdapat perbedaan signifikan ekspresi IL-12 antar kelompok ($p = 0,000$; $p = 0,000$; $p = 0,000$). Uji ANOVA antar kelompok berbeda signifikan, pemberian vitamin D₃ menurunkan ekspresi IL-12 ($p = 0,000$). Kesimpulannya, pemberian vitamin D₃ dapat meningkatkan ekspresi IL-10 dan menurunkan ekspresi IL-12 pada sel epitel kolon model mencit IBD.

Kata kunci: IL-10, IL-12, *inflammatory bowel disease*, vitamin D₃.

THE ROLE OF VITAMIN D₃ ON IL-10 AND IL-12 EXPRESSION IN COLON EPITHELIAL CELL OF INFLAMMATORY BOWEL DISEASE MICE MODEL

Abstract

Inflammatory Bowel Disease (IBD) in children can cause failure to grow and puberty delay, which is 60% have hypo-vitamin D. The pathogenesis of IBD involving interleukin 10 (IL-10) and IL-12 homeostatic regulation of immune system and intestine epithelial. Vitamin D₃ (Vitamin D active form), has anti-inflammation properties, but the role of vitamin D₃ supplementation still unknown. This research aims to determine the role of vitamin D₃ in IL-10 and IL-12 expression in colon epithelial cells of IBD mice model. This is a randomized control trial experiment with 21 samples, define to 3 groups, at pharmacology, biochemistry-biomolecular, anatomic pathology laboratory of Faculty of Medicine, Universitas Brawijaya, January-March 2018. Vitamin D₃ supplementation in sample after dextran 3% induced. IL-10 and IL-12 measured by immunohistochemistry, DAI (*Daily Activity Index*) and MCHI (*The Mouse Colitis Histology Index*) score for inflammation level. Statistical analysis was done by ANOVA, Mann-Whitney, Kruskal Wallis and T-test utilizing SPSS-23. DAI score found at bodyweight decreasing, the highest MCHI score found at the positive control group. There were significant IL-10 expression between negative control and positive control group ($p = 0.038$), negative control and experiment group ($p = 0.001$), positive control and experiment group ($p = 0.017$). Kruskal-Wallis between groups were significantly different, vitamin D₃ increases IL-10 expression ($p = 0.001$). There were significantly difference in IL-12 expression between groups ($p = 0.000$; $p = 0.000$; $p = 0.000$). ANOVA test showed differences significantly between groups, vitamin D₃ decrease IL-12 expression ($p = 0.000$). In **conclusion**, vitamin D₃ supplementation increase IL-10 but decrease IL-12 expression in colon epithelial cell of IBD rat model.

Keywords: IL-10, IL-12, *inflammatory bowel disease*, vitamin D₃.

*Program Magister ilmu Biomedik, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya.

**Departmen Ilmu Kesehatan Anak, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya-RS. Dr. Saiful Anwar Malang.

E-mail: centa.naila@gmail.com

Pendahuluan

Inflammatory Bowel Disease (IBD) merupakan sebuah istilah kelompok gangguan gastrointestinal yang meliputi penyakit Crohn (*Crohn's disease/CD*) dan kolitis ulseratif (*ulcerative colitis/UC*). Insiden puncak dari IBD terjadi pada pasien antara usia 15 dan 30 tahun. Sekitar 20% pasien CD dan 12% pasien UC mengalami IBD sebelum usia 20 tahun. Anak-anak dengan IBD dapat mengalami komplikasi meliputi gagal tumbuh dan pubertas yang terlambat. Oleh karena itu, klinisi perlu memperhatikan pertumbuhan linear, perkembangan tulang, dan pubertas pada pasien anak dengan IBD.¹

Sebesar 60% pasien IBD dilaporkan mengalami hipovitaminosis D. Penyebabnya masih belum jelas apakah akibat malabsorpsi karena kerusakan mukosa usus atau karena hal lain. Kekurangan vitamin D menjadi kontributor terhadap onset penyakit dan perkembangannya. Beberapa studi telah menunjukkan kekurangan vitamin D dapat menyebabkan gangguan saluran gastrointestinal seperti penurunan klirens bakteri, penurunan ekspresi *tight junction* pada epitel usus, dan peningkatan inflamasi oleh Th1. Vitamin D telah dibuktikan memiliki peran pada penyakit yang dimediasi oleh sistem imun seperti IBD baik secara *in vivo* maupun *in vitro*.²

Vitamin D merupakan prohormon steroid yang terutama terdapat pada hewan, tanaman, dan ragi. Melalui berbagai perubahan metabolik tubuh, vitamin D menghasilkan hormon kalsitriol yang mempunyai peran sentral dalam metabolisme kalsium dan fosfat. Terdapat beberapa bentuk vitamin D, yaitu vitamin D₁, vitamin D₂, vitamin D₃, vitamin D₄, dan vitamin D₅. Bentuk utama dari vitamin D adalah vitamin D₂ atau ergokalsiferol dan vitamin D₃ atau kolekalsiferol, yang merupakan bentuk aktif dari vitamin D adalah vitamin D₃.³

Interleukin 10 merupakan sitokin pluripoten dan dapat dianggap sebagai sitokin antiinflamasi paling penting yang ditemukan pada respons imun manusia. Produksi IL-10 dilakukan oleh banyak jenis sel yaitu limfosit B, limfosit T, makrofag, monosit, sel dendritik, dan sel mast. Sitokin IL-10 memiliki kemampuan untuk mempengaruhi kelompok sel imun yang berbeda, sehingga mempengaruhi sistem imun *innate* dan adaptif. Hal ini menjadikan IL-10 memiliki efek luas pada imunoregulasi dan pertahanan tubuh. Sitokin IL-10 secara umum menghambat produksi mediator proinflamasi namun meningkatkan produksi mediator antiinflamasi.^{4,5}

Sitokin IL-10 mempunyai fungsi penting dalam meregulasi proses homeostasis dari sistem imun dan epitel usus. Sitokin IL-10 mengatur fungsi beberapa leukosit terutama dalam menekan respons inflamasi yang berlebih, dan melindungi kerusakan epitelial yang disebabkan invasi oleh berbagai patogen.⁶

Selain sitokin IL-10, sitokin proinflamasi seperti IL-12 juga berperan dalam patogenesis dari IBD. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa IL-12 diproduksi berlebihan pada mukosa lambung, sel mononuklear lamina propria, dan makrofag dalam CD, dan makrofag yang diisolasi dari lesi inflamasi pada pasien dengan CD menghasilkan peningkatan jumlah IL-12 *ex vivo*.⁷

Efek vitamin D pada sel T meliputi induksi dari sel T reg yang memproduksi IL-10 dan supresi proliferasi sel T dan Th1 serta Th17 yang memproduksi IL-12 atau IFN- γ . Vitamin D merupakan faktor utama dalam perkembangan sel iNKT dan sel T CD8 α di dalam mempertahankan proses toleransi pada saluran gastrointestinal.⁸ Peran ekstraskeletal dari vitamin D saat ini masih terus diteliti. Vitamin D telah dibuktikan memiliki sifat antiinflamasi, tetapi peran suplementasi vitamin D₃ dalam menurunkan inflamasi masih belum banyak diketahui.

Oleh karena vitamin D memiliki peran pada respons imunologi dan IBD merupakan penyakit inflamasi yang berhubungan erat dengan penurunan kadar vitamin D₃. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui peran vitamin D₃ terhadap ekspresi IL-10 dan IL-12 pada sel epitel kolon mencit model IBD.

Bahan dan Metode

Penelitian ini menggunakan desain eksperimental *randomized control trial*. Sampel dan perlakuan diharapkan terkendali, terukur dan pengaruh perlakuan dapat lebih dipercaya. Penelitian ini dilakukan untuk memperoleh informasi mengenai mekanisme vitamin D₃ dalam regenerasi mukosa usus yang rusak. Rancangan penelitian disusun untuk membuktikan bahwa pemberian Vitamin D₃ mempercepat regenerasi mukosa yang rusak setelah pemberian dekstran 3% dan kaitannya dengan IL-10 dan IL-12.

Populasi dan Sampel

Sebanyak 21 ekor mencit sebagai sampel untuk 3 kelompok perlakuan. Pemeliharaan hewan coba dilakukan di Laboratorium Farmakologi, pemrosesan jaringan di Laboratorium Patologi Anatomi, dan pemeriksaan imunohistokimia di Laboratorium Biokimia-Biomolekuler, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pengamatan *slide* menggunakan mikroskop dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi FKUB-RS. Dr. Saiful Anwar Malang. Penelitian dilakukan pada bulan Januari–Maret 2018. Fase adaptasi dilakukan selama 7 hari, sedangkan fase perlakuan dan pengamatan gejala selama 17 hari. Penelitian ini telah dinyatakan laik etik oleh Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya No. 434/EC/KEPK/12/2017.

Subjek yang digunakan berupa mencit BALB/c dengan kriteria inklusi sebagai

berikut: berusia 8-10 minggu, berjenis kelamin jantan, berat badan 20-25 gram. Sampel penelitian dieksklusi dari penelitian bila: dalam pengamatan menderita sakit yang tampak dari perubahan perilaku hewan (perubahan pola makan/minum, aktivitas hewan), dan tanda-tanda klinis lainnya (penurunan berat badan, pola nafas, diare, muntah, dan sebagainya), dalam pengamatan subjek penelitian mati, terjadi kerusakan pada organ atau jaringan pada saat pengambilan sampel untuk pemeriksaan imunohistokimia.

Sampel Penelitian

Sampel penelitian menggunakan mencit BALB/c, berjenis kelamin jantan, berumur 8-10 minggu dengan berat badan 20-25 gram yang dibagi menjadi tiga kelompok secara acak. Unit analisis yang diperiksa dalam penelitian ini adalah kolon mencit BALB/c. Pengelompokan sampel ke dalam kelompok-kelompok uji dilakukan dengan randomisasi sederhana menggunakan undian. Tiap kelompok dibedakan dengan kode warna dan tiap sampel mendapatkan kode penomoran.

Preparasi Dextran 3 %

Dextran sodium sulfat (DSS) yang digunakan dibeli dari toko bahan kimia Abcam dengan berat molekul 40.000 Da. Larutan DSS 3% dibuat dengan menggunakan garam DSS sebesar 3 gram dilarutkan dengan 100 ml aquades.

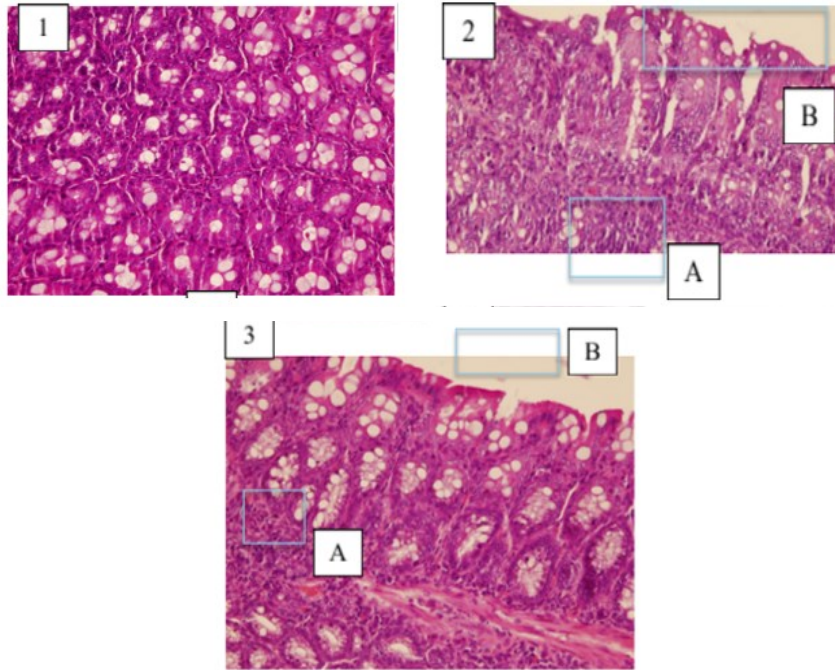
Deteksi Ekspresi IL-10 dan IL-12 dengan Teknik Imunohistokimia

Ekspresi sel penghasil IL-10 dan IL-12 yang diukur menggunakan teknik pemeriksaan imunohistokimia. Ekspresi ini dihitung dari jumlah sel yang mengekspresikan IL-10 dari spesimen jaringan kolon mencit pasca perlakuan.

Hasil

Penelitian ini mengambil 21 sampel penelitian yang terdiri dari 7 sampel dari tiap kelompok perlakuan, yaitu kelompok kontrol negatif; kelompok kontrol positif. Selama masa pengamatan, dilakukan penghitungan skor DAI untuk melihat inflamasi pada setiap

mencit. Dari pengamatan tersebut didapatkan data kualitatif berupa gambaran histopatologi kolon mencit (Gambar 1) dan data kuantitatif berupa hasil penghitungan ekspresi IL-10 (Gambar 2) dan ekspresi IL-12 (Gambar 3) sel epitel kolon mencit. Kemudian dari gambaran histopatologi tiap perlakuan, dilakukan penghitungan skor MCHI (Tabel 1).



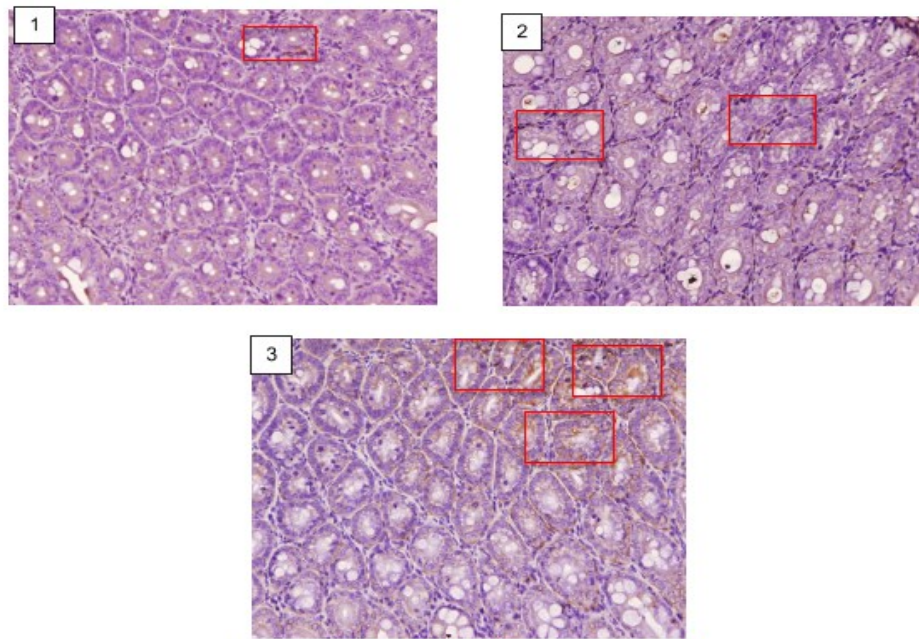
Gambar 1. Histopatologi kolon mencit tiap kelompok dengan pewarnaan HE (400x).

Keterangan: 1. Kontrol negatif (tanpa pemberian dekstran 3% maupun vitamin D₃) tidak didapatkan sel inflamasi dan memiliki struktur yang lengkap, 2. Kontrol positif (pemberian dekstran 3%) didapatkan gambaran sel inflamasi (kotak A) dan destruksi kripta (kotak B), 3. Perlakuan (pemberian dekstran 3% terlebih dahulu, kemudian diikuti dengan pemberian vitamin D₃) tampak gambaran sel inflamasi (kotak A) dan destruksi kripta (kotak B) yang lebih sedikit.

Tabel 1. Skor MCHI pada tiap kelompok mencit.

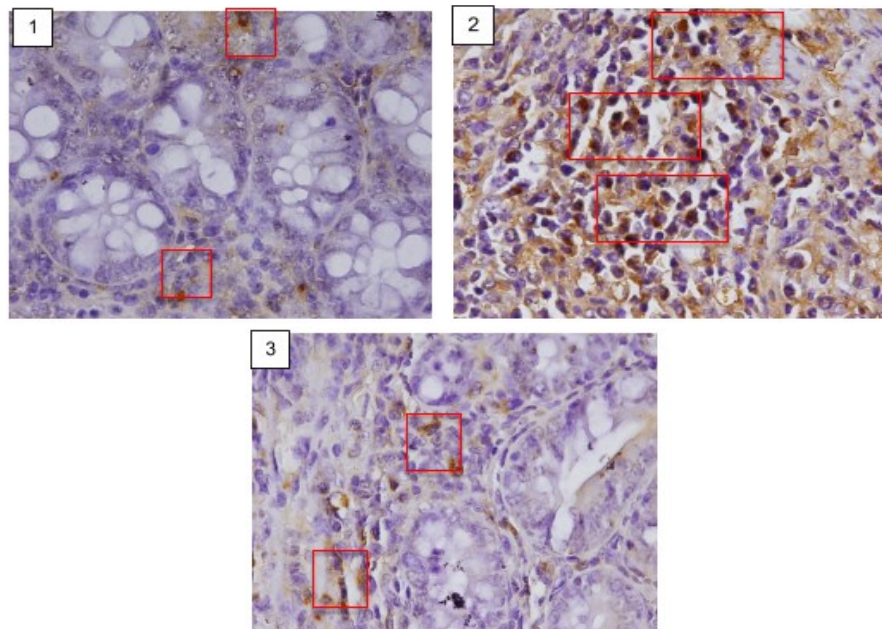
Mencit	Infiltrasi Sel Inflamasi	Kehilangan Sel Goblet	Densitas Kripta	Hiperplasi Kripta	Penebalan Mukosa	Inflamasi Submukosa	Abses Kripta	Ulserasi	Total Skor
Kontrol Negatif	0	0	0	0	0	1	0	0	1
Kontrol Positif	2	2	1	2	1	3	-	-	11
Perlakuan	2	1	1	1	1	2	-	-	8

Keterangan: Berdasarkan Skor MCHI didapatkan skor tertinggi terjadinya infamasi berdasarkan histopatologi pada kelompok kontrol positif, yaitu sebesar 11.



Gambar 2. Ekspresi IL-10 yang dideteksi dengan metode imunohistokimia (400x).

Keterangan: (1). Kontrol negatif (tanpa pemberian dekstran 3% maupun vitamin D₃) tampak ekspresi IL-10 (kotak merah) dengan (rerata 33,57). (2) Kontrol positif (diberikan dekstran 3%) ekspresi IL-10 yang ditandai dengan warna kecoklatan (kotak merah) lebih banyak (rerata: 178,71). (3). Perlakuan (diberikan dekstran 3% kemudian diberikan vitamin D₃) tampak ekspresi IL-10 lebih banyak (kotak merah) (rerata: 474,29) dibandingkan kontrol positif.



Gambar 3. Ekspresi IL-12 yang dideteksi dengan metode imunohistokimia (1000x).

Keterangan: 1. Kontrol negatif (tanpa pemberian dekstran 3% maupun vitamin D₃) tampak ekspresi IL-12 (kotak merah) (rerata: 30,71). 2. Kontrol positif (diberikan dekstran 3% saja) ekspresi IL-12 yang ditandai dengan warna kecoklatan (kotak merah) lebih banyak (rerata: 84,29). 3. Perlakuan (diberikan dekstran 3% kemudian diberikan vitamin D₃) tampak ekspresi IL-12 lebih sedikit (rerata: 53,57) dibandingkan kontrol positif.

Tabel 2. Skor DAI pada tiap kelompok mencit.

Kelompok Mencit	Penurunan Berat Badan	Konsistensi Feses	Darah Pada Feses	Total Skor
Kontrol Negatif 1	1	0	0	1
Kontrol Negatif 2	0	0	0	0
Kontrol Negatif 3	1	0	0	1
Kontrol Negatif 4	1	0	0	1
Kontrol Negatif 5	1	0	0	1
Kontrol Negatif 6	1	0	0	1
Kontrol Negatif 7	2	0	0	2
Kontrol Positif 1	2	0	0	2
Kontrol Positif 2	3	0	0	3
Kontrol Positif 3	2	0	0	2
Kontrol Positif 4	3	0	0	3
Kontrol Positif 5	1	0	0	1
Kontrol Positif 6	3	0	0	3
Kontrol Positif 7	2	0	0	2
Perlakuan 1	1	0	0	1
Perlakuan 2	2	0	0	2
Perlakuan 3	2	0	0	2
Perlakuan 4	2	0	0	2
Perlakuan 5	1	0	0	1
Perlakuan 6	1	0	0	1
Perlakuan 7	1	0	0	1

Tabel 3. Perbandingan rerata ekspresi IL-10 antar kelompok perlakuan dengan uji *Mann-Whitney*.

Kelompok	Nilai p
Kontrol Negatif-Kontrol Positif	0,038
Kontrol Negatif-Perlakuan	0,001
Kontrol Positif-Perlakuan	0,017

Keterangan : jika nilai $p < 0,05$ berarti ada perbedaan yang bermakna dan jika nilai $p > 0,05$ berarti tidak ada perbedaan yang bermakna. Terdapat hasil yang signifikan antar kelompok.

Berdasarkan skor DAI didapatkan skor tertinggi yaitu 3 dan skor terendah yaitu 0 (Tabel 2). Pada penelitian ini, DAI skor yang tampak hanya berdasarkan penurunan berat badan. Dari penilaian skor DAI dilakukan uji normalitas data yang menunjukkan bahwa terdapat skor DAI pada satu kelompok yang tidak terdistribusi normal ($p < 0,05$). Kemudian dilakukan uji beda pada tiap kelompok menggunakan uji *Mann-Whitney*. Perbandingan skor DAI antar kelompok dari uji tersebut menunjukkan perbedaan bermakna skor DAI antar kelompok kontrol negatif dengan kelompok kontrol positif ($p = 0,011$), namun tidak ada perbedaan bermakna antara kelompok kontrol negatif dengan perlakuan ($p = 0,059$), begitu juga dengan kelompok kontrol positif dengan perlakuan ($p = 0,259$).

Analisis Statistik Ekspresi IL-10

Untuk mendapatkan data kuantitatif dilakukan penghitungan jumlah sel epitel kolon mencit yang mengekspresikan IL-10 dengan menggunakan mikroskop cahaya pada perbesaran 400x dalam 20 lapang pandang (Gambar 1). Berdasarkan uji normalitas data, diperoleh hasil bahwa ekspresi IL-10 pada semua kelompok tidak terdistribusi normal ($p < 0,05$), sehingga dilakukan uji beda pada tiap kelompok menggunakan uji *Mann-Whitney*. Dari uji tersebut diketahui ada perbedaan bermakna ekspresi IL-10 antara kelompok kontrol negatif dengan kontrol positif ($p = 0,038$), kontrol negatif dengan perlakuan ($p = 0,001$), dan kontrol positif dengan perlakuan ($p = 0,017$) (Tabel 3).

Pada Gambar 4 tampak adanya perubahan ekspresi IL-10 sel epitel kolon mencit pada tiap-tiap kelompok. Pada kelompok kontrol negatif yang tidak diberikan perlakuan apapun menunjukkan rerata ekspresi IL-10 sel epitel kolon adalah 33,57. Pada kelompok kontrol positif yang hanya diberikan Dekstran 3% saja didapatkan peningkatan ekspresi IL-10 sel epitel kolon dengan hasil rerata sebesar 178,71. Pada kelompok perlakuan (Dekstran 3% + Vitamin D₃) terjadi peningkatan ekspresi IL-10 sel epitel kolon mencit menjadi 474,29.

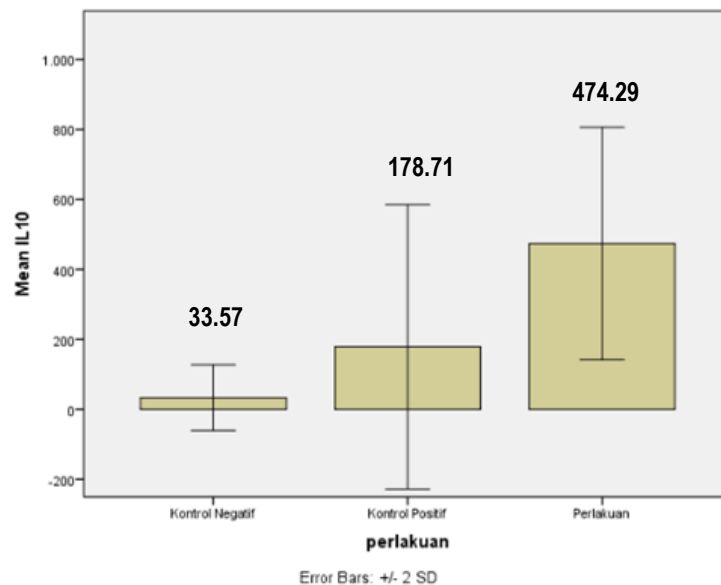
Ekspresi IL-10 juga diuji Kruskal-Wallis untuk melihat signifikansi perbedaan secara keseluruhan yang didapatkan signifikansi $p = 0,001$. Dengan demikian dapat diambil kesimpulan bahwa vitamin D₃ dapat meningkatkan ekspresi IL-10.

Analisis Statistik Kadar IL-12

Berdasarkan hasil pengecatan imunohistokimia, ekspresi IL-12 dihitung pada

tiap sampel masing-masing kelompok. Uji normalitas data menunjukkan bahwa ekspresi IL-12 pada semua kelompok terdistribusi normal ($p > 0,05$), sehingga uji beda yang digunakan untuk tiap kelompok penelitian menggunakan uji ANOVA. Perbandingan rerata ekspresi IL-12 antar kelompok dapat dilihat pada Tabel 4, yang menunjukkan adanya perbedaan bermakna ekspresi IL-12 antara kelompok kontrol negatif dengan kontrol positif ($p = 0,000$), kontrol negatif dengan perlakuan ($p = 0,000$), dan kontrol positif dengan perlakuan ($p = 0,000$).

Ekspresi IL-12 juga diuji ANOVA untuk melihat signifikansi perbedaan secara keseluruhan. Hasilnya adalah didapatkan signifikansi $p = 0,000$ yang artinya Vitamin D₃ dapat menurunkan ekspresi IL-12 pada penelitian ini.

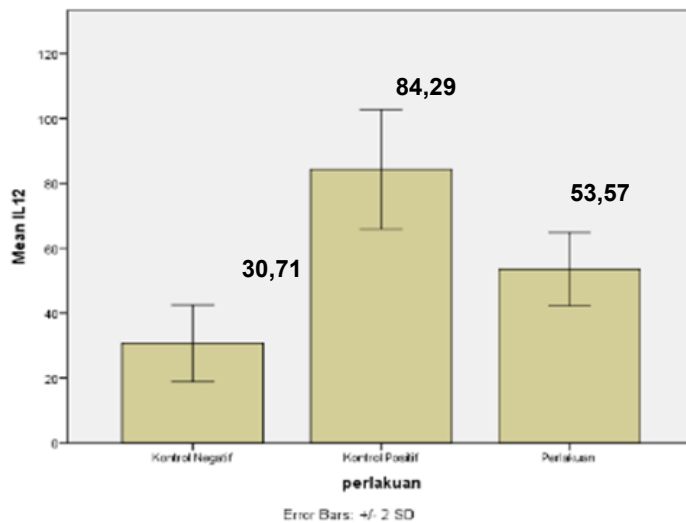


Gambar 4. Rerata ekspresi IL-10 pada tiap kelompok, tampak peningkatan nilai IL-10 pada tiap-tiap kelompok perlakuan.

Tabel 4. Hasil analisis uji ANOVA perbandingan rerata ekspresi IL-12 antar kelompok perlakuan.

Kelompok	Nilai p
Kontrol Negatif-Kontrol Positif	0,000
Kontrol Negatif-Perlakuan	0,000
Kontrol Positif-Perlakuan	0,000

Keterangan : jika nilai $p < 0,05$ berarti ada perbedaan yang bermakna dan jika nilai $p > 0,05$ berarti tidak ada perbedaan yang bermakna. Terdapat hasil yang signifikan antar kelompok.



Gambar 5. Rerata ekspresi IL-12 pada sampel tiap kelompok perlakuan. Tampak perbedaan ekspresi IL-12 pada tiap kelompok perlakuan.

Pembahasan

Ekspresi Sitokin IL-10

Pada penelitian ini, didapatkan ekspresi IL-10 pada kelompok kontrol negatif berbeda secara signifikan dengan kelompok kontrol positif. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Cario *et al.* pada tahun 2007, yang menyatakan bahwa *Toll Like Receptor 2* (TLR2) mengatur inflamasi mukosa dengan meregulasi fungsi sawar epitel.⁹ Pemberian DSS akan menyebabkan kerusakan pada sawar epitel sehingga menyebabkan reaksi dari reseptor TLR2 untuk menginduksi produksi sitokin IL-10. Hal ini sejalan dengan apa yang dikemukakan oleh Kiesler *et al.*, pada tahun 2015.¹⁰ Penelitian tersebut mengungkapkan mekanisme penyakit enterokolitis dimulai dengan adanya

gangguan pada barrier epitel usus dan dengan masuknya bakteri luminal atau antigen bakteri ke dalam mukosa. Faktor yang terjadi menunjukkan bahwa peradangan pada usus mudah terinduksi atau dapat terjadi secara spontan yang ditandai dengan kelainan molekuler yang menyebabkan hilangnya barrier epitel yang masif.

Fenomena serupa muncul pada DSS kolitis, pemberian DSS pada tikus melalui air minum untuk waktu yang singkat, menunjukkan inflamasi akut pada kolon dengan adanya karakteristik seperti erosi/ulkus, hilangnya kripte, dan infiltrasi granulosit. Hal ini menunjukkan bahwa sitokin efektor yang diproduksi oleh sel *innate* seperti makrofag dan neutrofil, cukup untuk menimbulkan inflamasi.

Keadaan tersebut menunjukkan bahwa makrofag merupakan sumber penting pada sitokin proinflamasi seperti sitokin yang meregulasi fungsi barier epitel dan proliferasi, sedangkan neutrofil berperan pada rusaknya jaringan.¹⁰

Berdasarkan uji t pada perbandingan ekspresi IL-10 antar kelompok, diketahui adanya perbedaan yang signifikan. Berdasarkan uji *Kruskal-Wallis*, juga menunjukkan perbedaan signifikan ($p = 0,001$; $p < 0,05$). Hasil penelitian ini juga sejalan penelitian Cantorna *et al.* (2017) yang menunjukkan peran reseptor vitamin D terhadap sel T regulator *invariant NKT cells* dan CD8 α . Kedua sel ini telah diterangkan memiliki peran penting dalam regulasi sel T untuk memproduksi sitokin antiinflamasi IL-10.⁸ Oleh karena itu, hal ini sesuai dengan hipotesis penelitian bahwa pemberian vitamin D₃ dapat meningkatkan ekspresi IL-10 sel epitel kolon pada model mencit IBD.

Ekspresi Sitokin IL-12

Pada penelitian ini didapatkan ekspresi IL-12 berbeda signifikan antar kelompok. Terkait perbedaan antara kontrol negatif dan kontrol positif, hasil penelitian ini serupa dengan hasil yang ditunjukkan oleh Perse dan Cerar pada tahun 2012. Pada penelitian tersebut, kolitis yang dipicu oleh DSS meningkatkan kadar sitokin proinflamasi, termasuk IL-12. Hal ini dikarenakan kolitis yang dihasilkan juga merupakan keadaan inflamasi sehingga sitokin proinflamasi juga akan dihasilkan.¹²

Serupa juga dengan hasil penelitian yang dilakukan Jeffery *et al.* (2012) meneliti tentang pengaruh vitamin D terhadap APC dan menghasilkan sekresi IL-12 yang menurun.¹³ Demikian juga penelitian Bartels *et al* pada tahun 2013 yang meneliti pengaruh vitamin D terhadap sel dendritik pada penyakit Crohn.¹⁴ Namun, pada penelitian yang dilakukan oleh Froicu dan Cantorna,

vitamin D diketahui memperbaiki gejala kolitis pada tikus *wild-type*, dan tidak memberikan perbedaan signifikan pada kadar IL-12.¹⁵ Selain itu, Ghaly *et al* pada tahun 2018 juga tidak menemukan perbedaan signifikan pada kadar sitokin antar kelompok perlakuan vitamin D.¹⁶

Kesimpulan

Pemberian vitamin D₃ dapat meningkatkan ekspresi IL-10 pada sel epitel kolon model mencit *Inflammatory Bowel Disease*. Pemberian vitamin D₃ dapat menurunkan ekspresi IL-12 pada sel epitel kolon model mencit *Inflammatory Bowel Disease*.

Saran

Terdapat beberapa kelemahan yang ada pada penelitian ini, yaitu perlakuan yang independen dan konsentrasi dekstran. Perlakuan yang dependen seperti pemberian dosis vitamin D₃ yang bertingkat dapat menjelaskan kekuatan hubungan antara ekspresi IL-10 dan IL-12 terhadap perlakuan pemberian vitamin D₃ pada mencit model IBD. Pada penelitian yang dilakukan oleh Perse & Cerar tahun 2012, kolitis akut terjadi pada induksi dekstran 2-5 %, ¹² sehingga diperlukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan dosis dekstran yang lebih tinggi yaitu dekstran 5 % untuk mendapatkan inflamasi yang sesuai dengan klinis maupun gambaran histologi.

Daftar Pustaka

1. Kappelman MD, Moore KR, Allen JK, Cook SF. Recent Trends in The Prevalence of Crohn's Disease and Ulcerative Colitis in A Commercially Insured US Population. *Dig Dis Sci.* 2013; 58:519.

2. Abraham BP, Prasad P, Malaty HM. Vitamin D Deficiency and Corticosteroid Use are Risk Factors for Low Bone Mineral Density in Inflammatory Bowel Disease Patients. *Dig Dis Sci*. 2014; 59:1878–84.
3. Bancil AS, Poullis A. The Role of Vitamin D in Inflammatory Bowel Disease. *Healthcare*. 2015; 3:338-350.
4. de Moreno dLA, Del Carmen S, Zurita-Turk M, Santos RC, van de Guchte M, Azevedo V, Miyoshi A, Leblanc JG. Importance of IL-10 Modulation by Probiotic Microorganisms in Gastrointestinal Inflammatory Diseases. *ISRN Gastroenterol*. 2011; 11(19):1-11.
5. Marlow GJ, van Gent D, Ferguson LR. Why Interleukin-10 Supplementation Does Not Work in Crohn's Disease Patients. *World J Gastroenterol*. 2013; 19(25):3931-3941.
6. Ouyang W, Rutz S, Crellin NK, Valdez PA, Hymowitz SG. Regulation and Functions of the IL-10 Family of Cytokines in Inflammation and Disease. *Annu. Rev. Immunol*. 2011; 29:71–109.
7. Vignali DA, Kuchroo VK. IL-12 Family Cytokines: Immunological Playmakers. *Nat Immunol*. 2012; 3(8):722-8.
8. Cantorna MT, Bora S. The Role of UVR and Vitamin D on T Cells and Inflammatory Bowel Disease. *Photochem Photobiol Sci*. 2017; 16(3):347-353.
9. Cario E, Gerken G, Podolsky DK. Toll-like Receptor 2 Controls Mucosa Inflammation by Regulating Epithelial Barrier Function. *Gastroenterology*. 2007; 132(4):1359-74.
10. Kiesler P, Fuss IJ, Strober W. Experimental Models of Inflammatory Bowel Disease. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol*. 2015; 1(2):154-170.
11. Yang L, Weaver V, Smith JP, Bingaman S, Hartman TJ, Cantorna MT. Therapeutic Effect of Vitamin D Supplementation in A Pilot Study of Crohn's Patients. *Clin Transl Gastroenterol*. 2013; 4:e33.
12. Perse M, Cerar A. Dextran Sodium Sulphate Colitis Mouse Model: Trap and Tricks. *J Biomed Biotechnol*. 2012; 2012:718617. doi: 10.1155/2012/718617.
13. Jeffery LE, Wood AM, Qureshi OS, Hou TZ, Gardner D, Briggs Z, Kaur S, Raza K, Sansom DM. Availability of 25-Hydroxyvitamin D(3) to APCs Controls the Balance between Regulatory and Inflammatory T Cell Responses. *J Immunol*. 2012; 189:5155–5164.
14. Bartels LE, Jørgensen SP, Bendix M, Hvas CL, Agnholt J, Agger R, Dahlerup JF. 25-Hydroxy Vitamin D3 Modulates Dendritic Cell Phenotype and Function in Crohn's Disease. *Inflammopharmacology*. 2013; 21:177–186.
15. Froicu M, Cantorna MT. Vitamin D and the Vitamin D Receptor are Critical for Control of The Innate Immune Response to Colonic Injury. *BMC Immunol*. 2007; 8(5):1-11.
16. Ghaly S, Kaakoush NO, Lloyd F, et al. High Dose Vitamin D Supplementation Alters Faecal Microbiome and Predisposes Mice to More Severe Colitis. *Scientific Reports*. 2018; 8:11511.