

TESIS

**PENGARUH PEMBERIAN VITAMIN D DOSIS BERTINGKAT
TERHADAP EKSPRESI INTERLEUKIN-17 LESI DAN LUAS
LESI ENDOMETRIOSIS PADA MENCIT MODEL
ENDOMETRIOSIS**



**ALFI RUHAM BURJIAH
012014653001**

**PROGRAM STUDI ILMU KESEHATAN REPRODUKSI
JENJANG MAGISTER FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
2022
TESIS**

**PENGARUH PEMBERIAN VITAMIN D DOSIS BERTINGKAT
TERHADAP EKSPRESI INTERLEUKIN-17 LESI DAN LUAS
LESI ENDOMETRIOSIS PADA MENCIT MODEL
ENDOMETRIOSIS**

**ALFI RUHAM BURJIAH
012014653001**

**PROGRAM STUDI ILMU KESEHATAN REPRODUKSI
JENJANG MAGISTER FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
2022**

**PENGARUH PEMBERIAN VITAMIN D DOSIS BERTINGKAT
TERHADAP EKSPRESI INTERLEUKIN-17 LESI DAN LUAS LESI
ENDOMETRIOSIS PADA MENCIT MODEL ENDOMETRIOSIS**

TESIS

Untuk Memperoleh Gelar Magister Kesehatan
Dalam Program Studi Ilmu Kesehatan Reproduksi
Pada Jenjang Magister Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga

Oleh:

**ALFI RUHAM BURJIAH
012014653001**

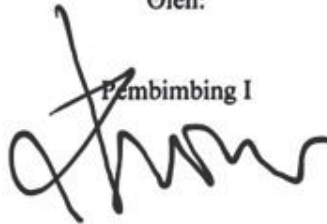
**PROGRAM STUDI ILMU KESEHATAN REPRODUKSI
JENJANG MAGISTER FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
2022**

LEMBAR PERSETUJUAN

TESIS INI TELAH DISAHKAN PADA TANGGAL
14 OKTOBER 2022

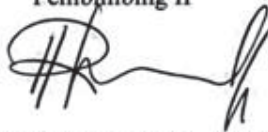
Oleh:

Pembimbing I



Dr. Ashon Sa'adi, dr., Sp. OG (K)
NIP. 196712241997031003

Pembimbing II



Prof. Dr. Widjiati, drh., M. Si
NIP. 196209151990022001

Mengetahui:

Koordinator Program Studi Ilmu Kesehatan Reproduksi
Jenjang Magister Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga



Dr. Ashon Sa'adi, dr., SpOG (K)
NIP. 196712241997031003

LEMBAR PENETAPAN PANITIA PENGUJI

Tesis ini telah diuji dan dinilai oleh panitia penguji pada Program Studi Ilmu
Kesehatan Reproduksi Jenjang Magister Fakultas Kedokteran Universitas
Airlangga
pada tanggal 4 Oktober 2022

Panitia penguji,

- Ketua : Dr. Budi Utomo, dr., M. Kes
- Anggota : 1. Dr. Ashon Sa'adi, dr., Sp. OG (K)
2. Prof. Dr. Widjiati, drh., M. Si
3. Dr. Lilik Herawati, dr., M. Kes AIFO
4. Dr. Reny I'tishom, S. Pi, M. Si

Ditetapkan dengan Surat Keputusan Dekan Fakultas Kedokteran Universitas
Airlangga tentang Panitia Penguji Tesis

PERNYATAAN KEASLIAN PENELITIAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam tesis berjudul:

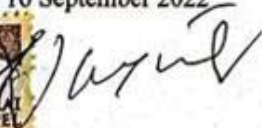
**PENGARUH PEMBERIAN VITAMIN D DOSIS BERTINGKAT
TERHADAP EKSPRESI INTERLEUKIN-17 LESI DAN LUAS LESI
ENDOMETRIOSIS PADA MENCIT MODEL ENDOMETRIOSIS**

Tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar magister di suatu perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak pernah dipublikasikan atau ditulis oleh individu selain penyusun kecuali bila dituliskan dengan format kutipan dan isi tesis.

Apabila ditemukan bahwa pernyataan saya tidak benar maka saya bersedia menerima sanksi sesuai ketentuan yang berlaku di Universitas Airlangga.

Demikian surat pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya.

Surabaya, 16 September 2022



Alfi Kuham Burjiah
NIM 012014653001

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur ke hadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat, berkah dan hidayahNya sehingga saya dapat menyusun dan menyelesaikan tesis dengan judul ‘Pengaruh Pemberian Vitamin D Dosis Bertingkat Terhadap Ekspresi Interleukin-17 Lesi dan Luas Lesi Endometriosis pada Mencit Model Endometriosis’. Tesis ini merupakan tugas akhir dalam menempuh Program Studi Magister Ilmu Kesehatan Reproduksi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya.

Bersama ini perkenankan saya menyampaikan ucapan terima kasih, rasa hormat dan penghargaan yang sebesar-besarnya kepada:

1. Dr. Ashon Sa’adi, dr. Sp. OG (K), Ketua Program Studi (KPS) Magister Ilmu Kesehatan Reproduksi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga dan pembimbing ketua pada penelitian saya, atas ilmu, nasehat, bimbingan dan motivasi yang diberikan selama pendidikan dan penelitian.
2. Prof. Dr. Widjiati, drh., M. Si, guru besar Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga dan pembimbing penelitian saya, atas ilmu, nasehat, arahan, bimbingan, dan motivasi yang diberikan selama penelitian.
3. Dr. Budi Utomo, dr. M. Kes, staf pengajar Departemen Ilmu Kesehatan Masyarakat Kedokteran Pencegahan (IKM-KP) Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga selaku dosen dan penguji yang memberikan ilmu, masukan dan arahan dalam penelitian ini.

4. Dr. Lilik Herawati, dr., M. Kes AIFO, staf Departemen Ilmu Faal dan Biokimia Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga selaku dosen dan penguji yang memberikan ilmu, masukan dan arahan dalam penelitian ini.
5. Dr. Reny I'tishom, S. Pi, M. Si, staf Departemen Biologi Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga selaku dosen dan penguji yang memberikan ilmu, masukan dan arahan dalam penelitian ini.
6. Prof. Dr. Budi Santoso, dr., Sp. OG (K) selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, yang telah memberikan kesempatan untuk menempuh pendidikan Program Magister.
7. Semua Dosen dan Staf di Program Studi Ilmu Kesehatan Reproduksi Jenjang Magister Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga yang telah memberikan ilmu, bimbingan serta arahan dan dorongan kepada saya selama mengikuti pendidikan.
8. Semua staf Laboratorium Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga yang telah membantu selama penelitian berlangsung sampai selesainya penyusunan tesis ini
9. Kedua orang tua saya Drs. H. Ahm. Fanani Ro'is dan Wiwik Sukartinem S. Pd, M.Pd., serta mertua saya R. Munaeni yang telah memberi dukungan moril dan materiil serta memberikan doa tanpa henti.
10. Suami dr Gazali Rusdi Sp. OG atas cinta doa serta dukungan dalam penelitian ini. Putra-putri saya Ahmad Ihsan Gazali, Ahmad Rizal Gazali dan Azkiyah Rahimah Gazali atas pengertian dan pemberian semangat untuk menyelesaikan pendidikan.

11. Semua rekan-rekan program studi Magister Ilmu Kesehatan Reproduksi Fakultas Kedokteran angkatan 2019 dan 2020 atas kerjasamanya selama pendidikan.
12. Semua pihak yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu.

Saya menyadari penelitian ini masih jauh dari sempurna. Kritik dan saran yang membangun sangat bermanfaat bagi penelitian ini. Harapan saya adalah semoga penelitian ini dapat bermanfaat bagi kemajuan dunia kedokteran pada khususnya dan masyarakat pada umumnya. Semoga Allah SWT membalas budi baik semua pihak yang telah memberikan kesempatan, dukungan dan bantuan dalam menyelesaikan tesis ini, serta melimpahkan petunjuk, rahmat dan hidayahNya. Amin.

Surabaya, 16 September 2022

Penulis



Alfi Ruham Burjiah

RINGKASAN

**PENGARUH PEMBERIAN VITAMIN D DOSIS BERTINGKAT
TERHADAP EKSPRESI INTERLEUKIN-17 LESI DAN LUAS LESI
ENDOMETRIOSIS PADA MENCIT MODEL ENDOMETRIOSIS**

Alfi Ruham Burjiah

Endometriosis merupakan kelainan ginekologis yang cukup sering dijumpai, jinak, estrogen-dependen, dan kronik. Endometriosis tidak hanya berefek secara fisik tetapi juga psikologis, hubungan sosial, kehilangan produktivitas kerja, dan penggunaan sumber daya kesehatan dalam jumlah besar. Tata laksana endometriosis terbagi atas terapi medis, bedah dan non-medis. Berbagai keterbatasan dikaitkan dengan modalitas terapi tersebut sehingga dikembangkan berbagai penelitian tentang alternatif terapi maupun terapi suportif. Adanya gangguan sistem imun dan abnormalitas inflamasi, salah satunya IL-17, pada endometriosis menyebabkan logisnya penggunaan vitamin D sebagai imunomodulator sebagai terapi suportif endometriosis. Pengaruh vitamin D terhadap ekspresi IL-17 pada kondisi endometriosis masih belum diketahui sejauh ini meski logis bila dihipotesiskan suplementasi vitamin D dapat menurunkan pertumbuhan lesi endometriosis melalui modulasi IL-17. Penelitian ini bertujuan menganalisis pengaruh vitamin D dosis bertingkat 8 IU, 16 IU dan 24 IU terhadap ekspresi IL-17 dan luas lesi endometriosis pada peritoneum mencit model endometriosis. Sejauh ini penelitian pengaruh vitamin D pada endometriosis banyak dilakukan secara *in vitro* dan hewan coba, tetapi translasi ke penelitian eksperimental klinis pada manusia masih memiliki kelemahan. Salah satu kelemahan tersebut adalah penggunaan dosis suprafisiologis pada hewan coba berakibat letal, tidak adanya analisis dosis bertingkat serta ketidaksesuaian rute pemberian vitamin D pada penelitian tersebut apabila ditranslasikan ke manusia. Untuk mengatasi kelemahan tersebut penelitian ini menggunakan dosis yang fisiologis mungkin dengan rute oral. Dosis vitamin D yang digunakan dalam penelitian bertingkat dan dianalisis efektivitasnya dalam modulasi IL-17 dan luas lesi pada endometriosis. Penelitian ini, dengan demikian, memiliki unsur kebaruan yang penting dalam pemahaman mekanisme modulasi vitamin D terhadap IL-17 dan luas lesi endometriosis serta dasar translasional vitamin D sebagai terapi suportif endometriosis pada manusia.

Metode penelitian ini adalah eksperimental rancangan acak lengkap *post test only control group design*. Penelitian ini telah mendapat sertifikasi kelaikan etik dari Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Mencit (*Mus musculus*) model endometriosis dibagi menjadi empat kelompok masing-masing 6 mencit. Kelompok K sebagai kontrol negatif tidak diberikan perlakuan sedangkan kelompok perlakuan terbagi menjadi 3 yaitu P1, P2 dan P3. Kelompok perlakuan P1, P2 dan P3 diberikan vitamin D dosis bertingkat peronde lambung berurutan 8 IU, 16 IU dan 24 IU. Mencit diaklimatisasi dan adaptasi setelahnya dilanjutkan dengan pembuatan model. Mencit mulai diberikan perlakuan pada hari kelimabelas selama 21 hari. Mencit diterminasi dan diambil sampel peritoneum pada hari ke-

36. Ekspresi IL-17 dan luas lesi endometriosis dari peritoneum selanjutnya diukur dan dianalisis. Uji statistik dilakukan untuk melihat perbedaan rerata luas lesi endometriosis dan ekspresi IL-17 antara kelompok kontrol dan perlakuan, serta korelasi luas lesi endometriosis dan IL-17.

Rerata ekspresi IL-17 pada kelompok perlakuan penelitian ini lebih rendah daripada kontrol yaitu berurutan P1, P2 dan P3 $5,7 \pm 2,8$; $6,3 \pm 2,4$; dan $3,2 \pm 0,3$ vs $6,9 \pm 2,2$. Uji Kruskal Wallis menunjukkan p 0,029 yang berarti terdapat perbedaan bermakna antara kelompok kontrol dan perlakuan. Uji lanjutan menunjukkan perbedaan signifikan pada kelompok P3 (p: 0,004) dan tidak signifikan pada P1 dan P2 (p: 0,452 dan p:0,645). Hasil pemeriksaan variabel luas lesi endometriosis menunjukkan rerata pada kelompok perlakuan lebih rendah daripada kontrol yaitu berurutan P1, P2 dan P3 $23,9 \pm 27,6$; $15,8 \pm 16,1$; dan $8,9 \pm 9,6$ vs $63,2 \pm 45,7$. Uji Annova menunjukkan p: 0,008 yang berarti terdapat perbedaan bermakna antara kelompok kontrol dan perlakuan. Uji postHoc Tukey HSD menunjukkan perbedaan signifikan pada P2 dan P3 (p: 0,023 dan p 0,009). Uji Korelasi Spearman antara ekspresi IL-17 dan luas lesi endometriosis menghasilkan p 0,012 dan r 0,505. Uji rerata antar tingkat dosis terhadap variabel ekspresi IL-17 menunjukkan p 0,004 untuk perbedaan antara P2 vs P3 dan p > 0,05 untuk perbedaan antara P1 vs P2 serta P1 vs P3. Uji rerata antar tingkat dosis terhadap variabel luas lesi endometriosis menunjukkan p > 0,05 untuk perbedaan antara P1 vs P2, P1 vs P3 serta P2 vs P3.

Pemberian vitamin D pada penelitian ini dapat menyebabkan ekspresi IL-17 lebih rendah dibandingkan dengan kontrol. Kecenderungan penurunan ekspresi IL-17 secara konsisten didapatkan pada semua kelompok yang diberikan vitamin D. Analisis statistik menunjukkan perbedaan ekspresi IL-17 yang bermakna antara mencit model endometriosis yang mendapat vitamin D terjadi pada dosis 24 IU bila dibandingkan dengan mencit yang tidak mendapat perlakuan. Se jauh ini penelitian ini merupakan penelitian pertama pengaruh vitamin D terhadap ekspresi IL-17 pada endometriosis. Suplementasi vitamin D diketahui meregulasi IL-17 dan memperbaiki profil berbagai penyakit autoimun pada kadar serum vitamin D lebih dari 20 ng/ml. Mekanisme imunomodulasi IL-17 oleh vitamin D dapat terjadi melalui penurunan jumlah sel penghasil IL-17, hambatan diferensiasi sel T CD4+ menjadi sel Th17 maupun efek represif terhadap ekspresi IL-17. Efek represif terjadi akibat hambatan jalur IL-17/IL-17R melalui mekanisme penekanan transkripsi oleh reseptor vitamin D.

Luas lesi endometriosis yang lebih kecil secara konsisten ditemukan pada kelompok mencit model endometriosis yang mendapat vitamin D. Rerata luas lesi paling kecil ke besar pada mencit model endometriosis yang mendapatkan vitamin D secara berurutan didapatkan pada pemberian dosis 24 IU, 16 IU dan 8 IU. Analisis menunjukkan signifikansi data tersebut secara statistik pada pemberian dosis 16 IU dan 24 IU. Vitamin D memperlihatkan efek anti mitogenik pada sel endometrium ektopik melalui aktivitas hambatan aktivasi nf- κ B, menurunkan jumlah dan sintesis DNA sel endometrium ektopik. Vitamin D selain itu juga dapat mengurangi luas area endometriosis melalui hambatan ekspresi gen VEGF-A dan MMP-9 sehingga kapasitas angiogenesis dan kapasitas invasif lesi endometriosis terhambat.

Penelitian ini menunjukkan hubungan antara ekspresi IL-17 dengan luas lesi endometriosis. Secara statistik, korelasi yang ada signifikan dengan arah positif

yang sedang. Penurunan IL-17 dengan demikian berhubungan dengan penurunan luas lesi endometriosis dan sebaliknya. Jalur pengaturan luas lesi endometriosis melalui modulasi IL-17 oleh vitamin D dengan demikian terbukti pada penelitian ini.

Perbedaan ekspresi IL-17 dan luas lesi endometriosis antar tingkatan dosis perlakuan menunjukkan adanya dosis optimal vitamin D. Perbedaan bermakna didapati antara dosis 16 IU dan 24 IU pada variabel ekspresi IL-17. Fungsi regulasi ekspresi IL-17 dengan demikian tergantung dosis vitamin D (*dose-dependent*). Perbedaan antar dosis pada variabel luas lesi endometriosis juga didapati utamanya pada dosis 8 dan 24 IU meski tidak signifikan. Faktor yang mungkin mempengaruhi antara lain bioavailabilitas vitamin D, berbagai mediator inflamasi lain, serta pengaruh vitamin D terhadap estrogen.

Kesimpulan penelitian ini, vitamin D dosis 24 IU dapat menyebabkan ekspresi IL-17 lebih rendah dan area lesi endometriosis lebih kecil pada mencit model endometriosis. Terdapat hubungan antara ekspresi IL-17 dan luas lesi endometriosis. Kedua variabel tersebut memiliki korelasi positif sedang pada penelitian ini. Terdapat hubungan antara tingkat dosis vitamin D dengan ekspresi IL-17 dan luas lesi endometriosis. Dosis optimal dalam menurunkan ekspresi IL-17 dan luas lesi endometriosis pada penelitian ini adalah 24 IU. Potensi vitamin D sebagai terapi suportif endometriosis perlu diteliti lebih lanjut di level klinis.

SUMMARY

THE EFFECT OF VITAMIN D ADMINISTRATION ON INTERLEUKIN-17 EXPRESSION AND ENDOMETRIOSIS IMPLANT AREA

Alfi Ruham Burjiah

Endometriosis is a common, benign, estrogen-dependent, and chronic gynaecological disorder. This disease has physical, psychological, and social effects. Financially, endometriosis causes lost productivity and the use of extensive health resources. The treatment is divided into medical, surgical, and non-medical therapies. Various limitations are associated with these therapeutic modalities, so research is developed for alternative treatments and supportive therapies. The presence of immune system disorders and inflammatory abnormalities in endometriosis makes it logical to use vitamin D as an immunomodulator as supportive therapy for endometriosis.

Vitamin D's effect on IL-17 expression in endometriosis is still unknown, although its impact on other diseases has been known. However, it is logical to hypothesize that vitamin D can reduce the growth of endometrial lesions through the modulation of IL-17. This study aims to analyze the effect of vitamin D in graded doses of 8 IU, 16 IU, and 24 IU on the expression of IL-17 and the extent of endometriosis lesions in the peritoneum of endometriosis models of mice. Experimental research in humans still has drawbacks. One of the weaknesses is that the use of supraphysiological doses in experimental animals is fatal, there is no stratified dose analysis, and the inappropriateness of the route of vitamin D administration in this study when translated into humans. This study used a physiological dose orally to overcome these weaknesses. The dose used in this study was stratified and analyzed for its effectiveness in modulating IL-17 and lesion areas in endometriosis. Therefore, this study has an important novelty in understanding the mechanism of vitamin D modulation of IL-17, the extent of endometrial lesions, and as the basis of vitamin D clinical research as supportive therapy for endometriosis in humans.

This study is a randomized post-test-only control group research using mice (*Mus musculus*) as an endometriosis model. The Faculty of Veterinary Medicine, Airlangga University, has ethically approved the study. Twenty-four mice were divided equally into four groups. Group K, as a negative control, was not given any treatment. Groups P1, P2, and P3 were given stratified doses of vitamin D as follows 8 IU, 16 IU, and 24 IU. Mice were acclimatized after adaptation, followed by modelling. Mice were given treatment on the fifteenth day for 21 days. Mice were terminated, and peritoneal samples were taken on the 36th day. Interleukin-17 expression and the extent of endometriotic lesions of the peritoneum were further measured and analyzed. We performed statistical tests to see the difference in the mean area of endometriosis lesions and IL-17 expression between the control and treatment groups, as well as the correlation between the extent of endometriosis lesions and IL-17. We also performed a statistical test to find out whether stratified doses have different IL-17 and endometriosis area outcomes.

The mean IL-17 expression was significantly lower after Vitamin D administration, namely P1, P2, and P3 5.7 ± 2.8 ; 6.3 ± 2.4 ; and 3.2 ± 0.3 vs 6.9 ± 2.2 ($p: 0.029$). there was a significant difference in the P3 group ($p: 0.004$) but not in P1 and P2 ($p: 0.452$ and $p: 0.645$). The mean area of endometriosis in the treatment group was lower, namely P1, P2, and P3, respectively 23.9 ± 27.6 ; 15.8 ± 16.1 ; and 8.9 ± 9.6 vs 63.2 ± 45.7 . Annova test showed $p: 0.008$, meaning a significant difference between the control and treatment groups. The Tukey HSD postHoc test showed significant differences at P2 and P3 ($p: 0.023$ and $p: 0.009$). Correlation between IL-17 expression and area of endometriosis tested with The Spearman Correlation Test resulted in $p: 0.012$ and $r: 0.505$. Various doses of vitamin D showed different outcomes for each variable. The mean difference in IL-17 expression is significant between P2 vs P3 ($p: 0.004$) but not for P1 vs P2 and P1 vs P3 ($p > 0.05$). The mean difference in endometriosis implant area is found between P1 vs P2, P1 vs P3, and P2 vs P3, although not significant ($p > 0.05$).

The administration of vitamin D thus resulted in a lower expression of IL-17 compared to the control. Furthermore, we found a decreasing tendency in IL-17 expression in all groups given vitamin D. Statistical analysis showed a significant difference in IL-17 expression between endometriosis-associated mice that received vitamin D at a dose of 24 IU compared to mice that did not receive treatment. So far, this study is the first study of the effect of vitamin D on IL-17 expression in endometriosis. Vitamin D supplementation is known to regulate IL-17 and improve the profile of various autoimmune diseases at serum vitamin D levels of more than 20 ng/ml. The mechanism of IL-17 immunomodulation by vitamin D can occur through a decrease in the number of IL-17-producing cells, inhibition of differentiation of CD4+ T cells into Th17 cells, and a repressive effect on IL-17 expression. 17. The repressive effect occurs due to inhibition of the IL-17/IL-17R pathway through the mechanism of transcription suppression by the vitamin D receptor. We found a tendency for a smaller area of endometriosis lesions when given vitamin D. The smallest to largest mean lesion areas in endometriosis model mice that received vitamin D, respectively, were obtained at doses of 24 IU, 16 IU, and 8 IU. The analysis showed the statistical significance of the data at 16 IU and 24 IU doses. Vitamin D exhibits anti-mitogenic effects on ectopic endometrial cells by inhibiting nf- κ B activation, reducing the number and DNA synthesis of ectopic endometrial cells. Vitamin D can also reduce the area of endometriosis by inhibiting VEGF-A and MMP-9 gene expression, inhibiting the angiogenesis capacity and invasive capacity of endometrial lesions. This study showed a relationship between IL-17 expression and the extent of endometriosis lesions. Statistically, the correlation is significant with a moderate positive direction. A decrease in IL-17 is thus associated with reducing endometrial lesions and vice versa. The pathway for broad regulation of endometrial lesions through the modulation of IL-17 by vitamin D was thus evident in this study.

Differences in the expression of IL-17 and the extent of endometriosis lesions between treatment doses indicated the optimal dose of vitamin D. Significant differences were found between 16 IU and 24 IU doses in the IL-17 expression variable. The regulatory function of IL-17 expression is thus dose-dependent. Differences between doses on the variable area of endometriosis lesions were found mainly at doses of 8 and 24 IU, although not significant. Factors that

may influence these outcomes are the bioavailability of vitamin D, various other inflammatory mediators, and the effect of vitamin D on estrogen.

This study concludes that vitamin D can cause lower IL-17 expression and smaller endometriosis lesion areas in endometriosis model mice. The expression of IL-17 and the extent of endometriosis lesions had a moderately positive correlation in this study. Furthermore, these outcomes are modulated depending on the optimal dose of 24 IU. Further research on vitamin D as supportive therapy for endometriosis potency is warranted.

ABSTRAK

Pengaruh Pemberian Vitamin D Dosis Bertingkat terhadap Ekspresi Interleukin-17 Lesi dan Luas Lesi Endometriosis pada Mencit Model Endometriosis

Alfi Ruham Burjiah

Latar Belakang. Gangguan imunologi dan inflamasi pada endometriosis merupakan dasar ilmiah penggunaan vitamin D sebagai terapi suportif. Penelitian ini bertujuan menganalisis pengaruh vitamin D dosis bertingkat terhadap ekspresi IL-17 dan luas lesi endometriosis pada peritoneum mencit model endometriosis

Metode. Mencit model endometriosis sejumlah 24 ekor dibagi menjadi 4 kelompok. Kelompok K sebagai kontrol negatif, serta P1, P2 dan P3 sebagai perlakuan pemberian vitamin D. Vitamin D diberikan pada P1, P2 dan P3 secara oral dengan dosis 8 IU, 16 IU dan 24 IU selama 3 minggu. Luas lesi endometriosis dari peritoneum diukur dengan *motic images* setelah terminasi. Ekspresi IL-17 diukur dengan imunohistokimia.

Hasil. Ekspresi IL-17 lebih rendah secara signifikan dengan pemberian 24 IU vitamin D ($p = 0,004$). Dosis 8 dan 16 IU menyebabkan ekspresi IL-17 lebih rendah, meski tidak bermakna ($p = 0,452$ dan $p = 0,645$). Vitamin D dosis 16 IU dan 24 IU menyebabkan lesi endometriosis lebih kecil ($p = 0,023$ dan $0,009$). Luas lesi endometriosis lebih kecil dengan dosis 8 IU tetapi tidak signifikan ($p > 0,05$). Pengaturan ekspresi IL-17 secara signifikan tergantung pada tingkat dosis vitamin D, yaitu 24 IU ($p = 0,004$). Dosis serupa menyebabkan lesi endometriosis paling kecil meski belum optimal ($p > 0,05$). Ekspresi IL-17 berkorelasi positif sedang dengan luas lesi endometriosis ($p = 0,012$, $\rho = 0,505$).

Kesimpulan. Vitamin D dosis 24 IU menyebabkan luas lesi endometriosis secara lebih kecil melalui penurunan ekspresi IL-17. Penelitian klinis potensi vitamin D sebagai terapi suportif endometriosis perlu dikembangkan.

Kata Kunci: Vitamin D, Interleukin-17, Endometriosis, SDG.

Abstract

The Effect of Vitamin D Administration on Interleukin-17 Expression and Endometriosis Implant Area

Alfi Ruham Burjiah

Introduction. Endometriosis's immunological and inflammatory disorders are the scientific basis for using vitamin D as supportive therapy. Therefore, this study aimed to analyze the effect of multi-dose vitamin D on the expression of IL-17 and the extent of endometriosis lesions in the peritoneum of endometriosis model mice.

Method. Endometriosis was induced in twenty-four mice by injecting human endometrial cells into the peritoneum. Three groups of mice were given vitamin D 8 IU, 16 IU, and 24 IU for 21 days. The Control group had no treatment. On day 36, the mice were terminated. Motic images measured the extent of the endometriotic lesion of the peritoneum after termination. Interleukin-17 expression was measured using immunohistochemistry.

Results. Interleukin-17 expression was significantly lower after 24 IU of vitamin D administration ($p = 0.004$). Vitamin D doses of 8 IU and 16 IU caused lower IL-17 expression, although not significant ($p = 0.452$ and $p = 0.645$). The area of endometriosis lesions was smaller after 16 IU and 24 IU of vitamin D administration ($p = 0.023$ and 0.009). Endometriosis lesion also tends to be smaller after 8 IU of vitamin D supplementation, although insignificant ($p > 0.05$). The regulation of IL-17 expression was significantly dependent on the dose level of vitamin D with an optimal dose of 24 IU ($p = 0.004$). This dose also caused the smallest endometriosis lesion, although not optimal ($p > 0.05$). IL-17 expression was moderately and positively correlated with the extent of endometriosis lesions ($p = 0.012$, $\rho = 0.505$).

Conclusion. Vitamin D caused a significantly smaller endometriosis lesion area by modulating IL-17 expression. The optimal dose level for vitamin D is 24 IU. Further clinical research on vitamin D's therapeutic potential is warranted.

Keywords: Vitamin D, Interleukin-17, Endometriosis, SDG

DAFTAR ISI

Halaman Prasyarat Gelar.....	iii
Lembar Persetujuan.....	iv
Lembar Penetapan Panitia Penguji.....	v
Pernyataan Keaslian Penelitian.....	vi
Ucapan Terima Kasih.....	vii
Ringkasan.....	x
<i>Summary</i>	xiii
Abstrak.....	xvi
<i>Abstract</i>	xvii
DAFTAR ISI.....	xviii
DAFTAR TABEL.....	xxi
DAFTAR GAMBAR.....	xxii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xxiii
DAFTAR SINGKATAN.....	xxiv
 BAB 1 PENDAHULUAN	 1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	5
1.3.1 Tujuan umum.....	5
1.3.2 Tujuan khusus.....	5
1.4 Manfaat Penelitian.....	6
1.4.1 Manfaat teoretis.....	6
1.4.2 Manfaat praktis.....	6
 BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	 7
2.1 Endometriosis.....	7
2.1.1 Definisi.....	7
2.1.2 Epidemiologi.....	7
2.1.3 Patogenesis.....	8
2.1.4 Diagnosis.....	10
2.2 Imunologi pada Patogenesis Endometriosis.....	12
2.2.1 Makrofag dan monosit.....	13
2.2.2 Neutrofil dan eosinofil.....	16
2.2.3 Sel dendritik.....	17
2.2.4 Sel <i>Uterine Natural Killer</i> (uNK).....	17
2.2.5 Sel mast.....	18
2.2.6 Limfosit.....	18
2.3 Interleukin-17 pada Endometriosis.....	22
2.4 Vitamin D.....	25
2.4.1 Sumber vitamin D.....	26
2.4.2 Absorpsi, metabolisme dan mekanisme kerja vitamin D.....	27
2.4.3 Defisiensi vitamin D.....	30
2.4.4 Dosis dan toksisitas vitamin D.....	31

2.4.5	Vitamin D dan sistem imun	33
2.4.6	Vitamin D dan sistem reproduksi perempuan	34
2.4.7	Vitamin D dan endometriosis.....	35
2.4.8	Vitamin D dan Interleukin-17	38
BAB 3	KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN	41
3.1	Kerangka Konsep	41
3.2	Hipotesis Penelitian.....	45
BAB 4	METODE PENELITIAN	46
4.1	Jenis dan Rancangan Penelitian	46
4.2	Lokasi dan Waktu	46
4.3	Sampel, Besar Sampel, dan Teknik Pengambilan Sampel.....	47
4.3.1	Sampel.....	47
4.3.2	Estimasi besar sampel	47
4.3.3	Teknik pengambilan sampel	48
4.4	Variabel Penelitian	48
4.4.1	Variabel terikat.....	48
4.4.2	Variabel bebas.....	49
4.4.3	Variabel Kendali	49
4.5	Definisi Operasional.....	49
4.6	Bahan dan Instrumen Penelitian.....	49
4.6.1.	Bahan penelitian.....	49
4.6.2.	Instrumen penelitian.....	51
4.7	Prosedur dan Tahapan Penelitian	51
4.7.1	Persiapan hewan coba	51
4.7.2	Randomisasi dan alokasi hewan coba	51
4.7.3	Aklimatisasi dan adaptasi.....	52
4.7.4	Persiapan pembuatan model.....	52
4.7.5	Pembuatan suplementasi vitamin D	53
4.7.6	Pemberian perlakuan sesuai kelompok	53
4.7.7	Pengambilan bahan pemeriksaan dan pengukuran variabel.....	54
4.8	Pengolahan dan Analisa Data.....	55
4.9	Kerangka Operasional Penelitian.....	56
4.10	Uji Kelayakan Etik.....	56
BAB 5	HASIL PENELITIAN	58
5.1	Gambaran Umum Penelitian	58
5.2	Pengaruh Vitamin D terhadap Ekspresi IL – 17	59
5.3	Pengaruh Vitamin D terhadap Luas Lesi Endometriosis	63
5.4	Hubungan Ekspresi Interleukin-17 dengan Luas Lesi Endometriosis	66
5.5	Hubungan Tingkat Dosis dengan Luas Lesi dan Ekspresi IL-17.....	66
5.6.1	Hubungan tingkat dosis vitamin D dan ekspresi Interleukin-17.....	66
5.6.2	Hubungan tingkat dosis vitamin d dan luas lesi endometriosis	67
BAB 6	PEMBAHASAN	68
6.1	Mencit sebagai Model Endometriosis.....	68
6.2	Hubungan Vitamin D dengan Interleukin-17.....	69

6.3	Hubungan Vitamin D dengan Luas Lesi Endometriosis.....	72
6.4	Hubungan Ekspresi Interleukin-17 dengan Luas Lesi Endometriosis.	74
6.5	Hubungan Tingkat Dosis dengan Ekspresi IL-17 dan Luas Lesi.....	75
6.5.1	Hubungan tingkat dosis dengan ekspresi IL-17	75
6.5.2	Hubungan tingkatan dosis vitamin D dengan luas lesi endometriosis.....	78
6.6	Keunggulan dan Kebaruan Penelitian.....	79
6.7	Keterbatasan Penelitian.....	80
BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN		83
7.1	Kesimpulan	83
7.2	Saran.....	83
DAFTAR PUSTAKA		85

DAFTAR TABEL

Tabel 2. 1	Berbagai subset sel T dan sifat-sifatnya	19
Tabel 4. 1	Definisi operasional variabel	50
Tabel 5.1	Rerata dan simpang baku skor ekspresi IL-17 antar kelompok.....	61
Tabel 5. 2	Perbandingan skor ekspresi IL-17 antar kelompok..	62
Tabel 5.3	Rerata dan simpang baku luas lesi endometriosis..	64
Tabel 5. 4	Perbandingan luas lesi endometriosis antar kelompok.	65

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1	Patogenesis dan patofisiologi Endometriosis.....	8
Gambar 2. 2	Pengaruh IL-17 pada polarisasi Makrofag endometriosis	25
Gambar 2. 3	Biosintesa dan metabolisme vitamin D.	29
Gambar 3. 1	Kerangka konsep penelitian	41
Gambar 4. 1	Skema rancangan penelitian.....	46
Gambar 4. 2	Kerangka operasional penelitian	57
Gambar 5. 1	Perbandingan gambaran ekspresi IL-17 pada sel endometriosis	60
Gambar 5. 2	Grafik box-plot distribusi ekspresi IL-17	60
Gambar 5. 3	Lesi endometriosis pada mencit model endometriosis.....	63
Gambar 5. 4	Distribusi data luas lesi endometriosis.....	64
Gambar 5. 5	Grafik hubungan antara IL-17 dan luas lesi endometriosis.....	66

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Keterangan Kelaikan Etik Penelitian.....	94
Lampiran 2 Olah Data dan Analisis Statistik.....	95

DAFTAR ARTI, LAMBANG, DAN SINGKATAN

1,25(OH) ₂ D ₃	: 1,25-dihidroxycholecalciferol
25(OH)D	: 25 hidroksi vitamin D
AKG	: Angka Kecukupan Gizi
APC	: <i>Antigen Presenting Cell</i>
BCL6	: <i>B-cell lymphoma 6</i>
CD	: <i>Cluster Differentiation</i>
COUP-TFII	: <i>Chicken Ovalbumin Upstream Promoter Transcription Factor II</i>
COX-2	: <i>Cyclooxygenase 2</i>
CTLA	: <i>cytotoxic T-lymphocyte-associated</i>
CYP27B1	: enzim 1- α -hydroxylase
CXCL	: <i>C-X-C Motif Chemokine Ligand</i>
DC	: <i>Dendritic cell</i>
DEFB	: Defensin β 2
DM	: Diabetes Mellitus
ESHRE	: <i>European Society for Human Reproduction and Embriology</i>
FGF	: <i>Fibroblast Growth Factor</i>
G-CSF	: <i>granulocyte colony stimulating factor</i>
GLI1	: <i>Gli family zinc finger 1</i>
GWAS	: <i>Genome wide associaton study</i>
hCAP18	: <i>cathelicidin antimicrobial peptide</i>
hs-CRP	: <i>high sensitivity C Reactive Protein</i>
HIF1 α	: <i>Hypoxia Inducible Factor 1 Subunit Alpha</i>
IFN- γ	: interferon gamma
IGF	: <i>Insulin-Like Growth Factor</i>
IHH	: <i>Indian Hedgehog</i>
IHK	: Imunohistokimia
IL-4	: Interleukin - 4
IL-6	: Interleukin - 6
IL-8	: Interleukin - 8
IL-9	: Interleukin - 9
IL-17	: Interleukin - 17
IL-22	: Interleukin - 22
IL-1 β	: Interleukin - 1 Beta
IL-17R	: Reseptor Interleukin - 17
IRS	: <i>Imunoreactive Score</i>
IU	: <i>International Unit</i>
LPS	: lipopolisakarida
M ϕ	: makrofag
MAPK	: <i>Mitogen Activated Protein Kinase</i>
MCG	: Mikrogram
MCP	: <i>monocyte chemotactic protein</i>
MHC	: <i>Major Histocompatibility Class</i>
MIF	: <i>Macrophage Migration Inhibitory Factor</i>
MMP	: <i>Matrix Metallo Proteinase</i>
MS	: <i>multiple sclerosis</i>
mTOR	: <i>the mammalian target of rapamycin</i>

NF- κ B	: <i>Nuclear Factor- Kappa B</i>
NGF	: <i>Neural Growht Factor</i>
NK	: <i>sel Natural Killer</i>
ng	: <i>nano gram</i>
PBS	: <i>Phosphate Buffer Saline</i>
PCOS	: <i>polycystic ovarian syndrome</i>
PDGF	: <i>Platelet Derived Growth Factor</i>
PG	: <i>Prostaglandin</i>
PI3K/AKT	: <i>Phosphatidylinositide-3-Kinase/ Protein Kinase B</i>
PR	: <i>Progesteron Receptor</i>
Rantes	: <i>Regulated upon Activation, Normal T Cell Expressed and Presumably Secreted</i>
RNA	: <i>Ribonukleic Acid</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
R-VD	: <i>Reseptor Vitamin D</i>
RXR	: <i>Retinoid X Receptor</i>
SPM	: <i>Small Peritoneal Macrophage</i>
SPSS	: <i>Statistical Package for the Social Sciences</i>
Star	: <i>Steroidogenic Acute Regulatory Protein</i>
STAT	: <i>Signal Transducer and Activator of Transcription</i>
TCR	: <i>T cell Receptor</i>
TGF-1 β	: <i>Transforming Growth Factor- 1βeta</i>
Th	: <i>sel T helper</i>
Treg	: <i>sel T regulatory</i>
TLR	: <i>Toll Like Receptor</i>
TNF- α	: <i>Tumor Necrosis Factor - Alpha</i>
uNK	: <i>Uterine Natural Killer Cell</i>
UV	: <i>Ultra violet</i>
VDR	: <i>Vitamin D Receptor</i>
VDRE	: <i>Vitamin D response element</i>
VEGF	: <i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>
Vit D	: <i>Vitamin D</i>