

PENGARUH SUPLEMENTASI ZINK TERHADAP JUMLAH EOSINOFIL PADA JARINGAN PARU PENDERITA ALERGI

Studi Eksperimental pada Mencit BALB/c dengan Sensitisasi Ovalbumin

Agatha Magistalia Cahiadewi¹, Yanuar Iman Santosa², Suprihati²

¹Mahasiswa Program Pendidikan S-1 Kedokteran Umum, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro

²Staf Pengajar Ilmu THT, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro

Jl. Prof. H. Sudarto SH., Tembalang Semarang 50275 Telp. 02476928010

ABSTRAK

Pendahuluan : Rinitis alergi dan asma saling berkaitan dalam menimbulkan alergi pada saluran pernapasan, salah satu kelainan adalah akumulasi eosinofil pada paru yang berakibat toksik pada jaringan. Ovalbumin (OVA) mencetuskan kondisi alergi. Suplementasi zink bekerja sebagai *cytoprotectan*, antiinflamasi dan antioksidan diperkirakan menurunkan jumlah eosinofil pada paru.

Tujuan : Membuktikan pengaruh suplementasi zink terhadap jumlah eosinofil pada gambaran histopatologi paru mencit BALB/c yang disensitisasi OVA.

Metode Penelitian : Eksperimental *Post Test Only Control Group Design*. Sampel 18 mencit BALB/c betina dibagi menjadi 3 kelompok. Kelompok kontrol negatif (K1), kelompok kontrol positif dengan sensitisasi OVA (K2), dan kelompok perlakuan dengan sensitisasi OVA dan suplementasi zink dosis 5 mg/kgBB (P). Perlakuan diberikan selama 30 hari, kemudian dihitung jumlah eosinofil pada gambaran histopatologi paru setiap kelompok.

Hasil : Rerata jumlah eosinofil kelompok kontrol negatif (K1) adalah 0,48; kelompok kontrol positif (K2) adalah 2,12; kelompok perlakuan dengan sensitisasi OVA dan suplementasi zink (P) adalah 0,76. Uji Anova dilanjutkan uji *Post Hoc* diperoleh jumlah eosinofil pada paru kelompok P lebih rendah secara signifikan dibandingkan dengan kelompok K2 ($p = 0,000$).

Kesimpulan : Suplementasi zink menurunkan jumlah eosinofil pada paru mencit BALB/c setelah disensitisasi OVA.

Kata kunci : Zink, ovalbumin, eosinofil, rinitis alergi, asma

ABSTRACT

The Effect of Zinc Supplementation on The Number of Eosinophils in the Lungs of Allergic Patients : Experimental Study on BALB/c mice with Ovalbumin Sensitization

Introduction : Rhinitis allergy and asthma are related in causing allergic reactions in the respiratory tract. One of the abnormalities is the accumulation of eosinophils in the lung, resulting toxic to the tissue. Ovalbumin (OVA) can trigger allergic reactions. Zinc supplementation, works as cytoprotectant, anti-inflammatory, and antioxidant, is estimated to reduce the number of eosinophils in the lung.

Objective : Proving the effect of zinc supplementation on the number of eosinophils in the lung histopathologic preparations of BALB/c mice that were sensitized with OVA.

Method : Post Test Only Control Group Design experiment. The sample consists of 18 female BALB/c mice were divided into 3 groups; negative control group (K1), positive control group with OVA sensitization (K2), and group of mice with OVA sensitization and 5mg/Kg body weight zinc supplementation (P). The treatments were given for 30 days. After

that, the number of eosinophils in the lung histopathologic preparations of BALB/c mice that were sensitized with OVA were counted.

Results : The mean eosinophils count in negative control group (K1) was 0.48, positive control group (K2) was 2.12, and group of mice with OVA sensitization and 5mg/Kg body weight zinc supplementation (P) was 0.76. The number of eosinophils in the lung in P group was significantly lower than K2 group in Anova Test which followed by Post Hoc Test ($p = 0.000$).

Conclusion : Zinc supplementation reduces the number of eosinophils in the lungs of BALB/c mice that were sensitized with OVA.

Keyword s: Zinc, ovalbumin, eosinophil, rhinitis allergy, asthma

PENDAHULUAN

Penyakit alergi sebagai reaksi hipersensitivitas tipe I terjadi akibat paparan ulang antigen atau alergen yang berkaitan dengan antibodi *Immunoglobulin E* (IgE) spesifik pada individu atopi. Penyakit alergi dapat bermanifestasi ke berbagai sistem jaringan dan organ, apabila mengenai saluran pernapasan bermanifestasi sebagai rinitis alergi dan asma.¹ Rinitis Alergi didefinisikan sebagai suatu inflamasi pada mukosa hidung dengan mediasi antibodi spesifik IgE yang sering memiliki asma sebagai komorbiditas. Rinitis alergi dan asma dikenal sebagai rinobronkitis atau *united airway disease*. Asma sebagai inflamasi kronik pada saluran pernapasan bagian bawah memicu rekrutmen berbagai mediator inflamasi, salah satunya yaitu kondisi eosinofilia pada mukosa paru.²⁻³

Ovalbumin (OVA) merupakan alergen spesifik dari protein putih telur, apabila disuntikkan secara intraperitoneal pada hewan coba dan dilanjutkan melalui inhalasi terbukti meningkatkan aktivasi T_H2 dominan dalam mekanisme ketidakseimbangan T_H1 - T_H2 .⁴ Kondisi T_H2 dominan meningkatkan produksi IgE spesifik dan degranulasi sel mast, sehingga dilepaskan berbagai mediator inflamasi, berupa IL-4, IL-13, IL-5, dan eosinofil sebagai reaksi alergi. Eosinofil mengandung berbagai protein toksik yang dapat merusak jaringan.⁵

Zink sebagai zat gizi mikro esensial berperan sebagai anti oksidan, anti apoptosis, dan anti inflamasi.⁶ Zink bentuk labil (*labile zinc*) banyak terdapat pada bagian apikal dari sitoplasma epitel saluran pernapasan, berfungsi untuk memberikan perlindungan atau proteksi lapisan mukosa apabila terjadi respon inflamasi. Zink mempengaruhi sel yang berkaitan dengan reaksi alergi, seperti eosinofil, neutrofil, dan sel mast. Pemberian suplementasi zink diharapkan dapat menurunkan kondisi eosinofilia pada mukosa hidung dan paru penderita alergi saluran pernapasan.⁷ Berdasarkan uraian di atas, peneliti tertarik untuk

membuktikan pengaruh suplementasi zink dalam menurunkan jumlah eosinofil pada jaringan paru model hewan coba alergi menggunakan mencit BALB/c yang disensitisasi OVA secara sistemik dan lokal.

METODE

Penelitian telah dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan (FMIPA) Universitas Negeri Semarang. Penelitian ini berjenis eksperimental laboratorik dengan rancangan *post test only control group design*, termasuk ruang lingkup ilmu THT-KL dan Patologi Anatomi. Sampel penelitian adalah 18 ekor mencit BALB/c betina dengan kriteria inklusi berusia 6-8 minggu, memiliki berat badan 20-25 gram, aktif dan sehat, dan tidak memiliki kecacatan anatomis yang terlihat. Kriteria *drop out* apabila mencit mati sebelum dilakukan pengambilan hasil. Penelitian ini telah memperoleh izin *ethical clearance* dari Komisi Etik Penelitian Kedokteran dan Kesehatan (KEPK) Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.

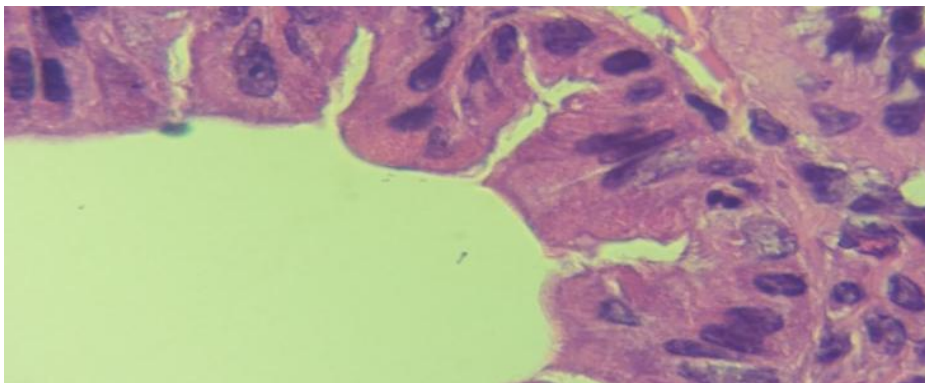
Populasi dibagi menjadi tiga kelompok menggunakan *simple random sampling* yaitu kelompok kontrol negatif (K1), kelompok kontrol positif dengan sensitisasi OVA (K2), dan kelompok perlakuan dengan sensitisasi OVA dan pemberian suplementasi zink (P). Besar sampel sebanyak 6 ekor tiap kelompok ditentukan berdasarkan kriteria WHO (*World Health Organization*) dalam *Research Guideline for Evaluating The Safety and Efficacy of Herbal Medicine*.

Kelompok K1 diberikan makan dan minum *ad libitum* tanpa diberikan perlakuan. Kelompok K2 diberikan sensitisasi OVA 10 μ g dan 2 mg Al(OH)₃ dalam 0,2 mL normal saline pada hari ke 0, 7, dan 14 melalui injeksi intraperitoneal, kemudian dilanjutkan inhalasi 1% OVA pada hari ke-19 sampai hari ke-22 selama 30 menit tiap hari. Kelompok P diberikan sensitisasi OVA, kemudian diberikan suplementasi zink melalui sonde dengan dosis 0,1 mg kandungan zink dalam 0,5 ml pelarut pada hari ke-15 sampai hari ke-30. Pada hari ke-31, setiap kelompok diterminasi dengan dislokasi sendi *atlanto occipital*, diambil organ parunya dan dibuat preparat histopatologi menggunakan pengecatan *Hematoxylin-Eosin* (HE). Pembesaran 400x untuk hitung jenis eosinofil dalam lima lapangan pandang dan pembesaran 1000x untuk identifikasi jenis eosinofil.

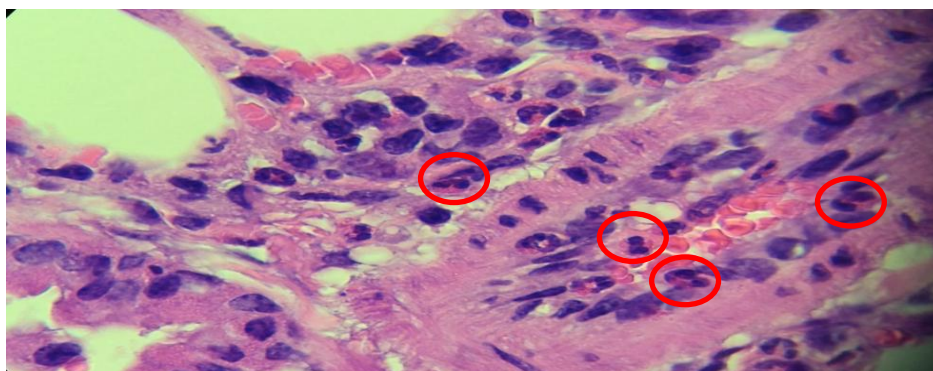
Analisis data dilakukan dengan menggunakan program komputer. Analisis deskriptif dan analisis analitik untuk memaparkan perbedaan jumlah eosinofil dalam setiap kelompok. Uji hipotesis diawali dengan uji distribusi data menggunakan uji *Saphiro Wilk* dan uji homogenitas *Levene*, apabila data berdistribusi normal dan varian sama maka perbedaan jumlah eosinofil setiap kelompok diuji dengan *one way ANOVA* dilanjutkan dengan *Post Hoc Bonferroni* untuk membedakan antara dua kelompok.

HASIL

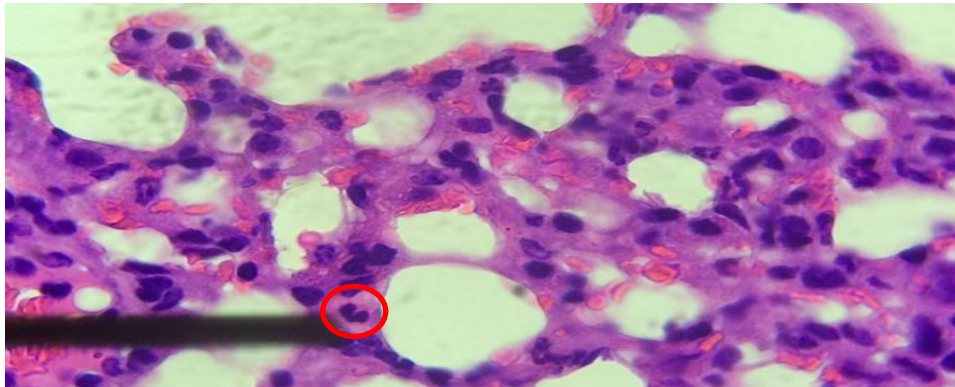
Penelitian ini telah dilakukan pada bulan April – Juni 2016 dengan sampel yang memenuhi kriteria penelitian adalah 16 mencit BALB/c betina, dua ekor mencit diantaranya mengalami *drop out*, masing-masing berasal dari kelompok kontrol negatif (K1) dan kelompok kontrol positif (K2). Data yang diperoleh berupa data numerik yang berasal dari penghitungan jumlah eosinofil setiap kelompok (K1, K2 dan P), kemudian dianalisis secara deskriptif menggunakan rerata dan standar deviasi.



Gambar 1. Histopatologi paru kelompok kontrol negatif (K1) perbesaran 1000x



Gambar 2. Histopatologi paru kelompok kontrol positif (K2) perbesaran 1000x



Gambar 3. Histopatologi paru kelompok perlakuan (P) perbesaran 1000x

Tabel 1. Analisis Data Jumlah Eosinofil pada Paru

	K1	K2	P
N	5	5	6
Rerata	0,48	2,12	0,76
Standar deviasi	0,10	0,75	0,15
Median	0,40	1,8	0,80
Minimum	0,40	1,6	0,60
Maksimum	0,60	3,4	1,00

Jumlah eosinofil kelompok K2 ($2,12 \pm 0,75$) lebih tinggi dibandingkan kelompok K1 ($0,48 \pm 0,10$). Jumlah eosinofil kelompok P ($0,76 \pm 0,15$) lebih rendah dibandingkan kelompok K2 ($2,12 \pm 0,75$).

Jumlah Eosinofil pada Gambaran Histopatologi Paru Mencit BALB/c

Jumlah eosinofil setiap kelompok (K1, K2, dan P) diuji normalitasnya menggunakan uji normalitas *Saphiro-Wilk* memiliki distribusi data tidak normal ($p = 0,006$), akan tetapi setelah dilakukan transformasi data menggunakan \log_{10} diperoleh distribusi data normal menjadi $p = 0,161$. Uji homogenitas *Levene* memperoleh varian data sama ($p = 0,500$).

Tabel 2. Uji *Post hoc Bonferroni* Data Jumlah Eosinofil pada Paru

Kelompok	K1	K2
K1	-	0,000*
P (Zink)	0,023*	0,000*

*Keterangan : Perbedaan signifikan $p < 0,05$

Uji *One way ANOVA* dipilih untuk melihat perbedaan jumlah eosinofil antar kelompok didapatkan hasil $p = 0,000$ yang berarti terdapat perbedaan bermakna pada jumlah eosinofil. Uji *post hoc Bonferroni* menunjukkan perbedaan yang signifikan antara jumlah eosinofil kelompok K1 dan kelompok K2 dengan nilai $p = 0,000$, kelompok K2 dan kelompok P dengan $p = 0,000$, dan kelompok K1 dan kelompok P dengan nilai $p = 0,023$.

PEMBAHASAN

Ketidakseimbangan T_H1 - T_H2 menjadi dominasi imunitas humoral (T_H2) menyebabkan pelepasan berbagai sitokin dan mediator inflamasi yang memperantarai reaksi alergi yaitu IL-4, IL-5, IL-13 dan aktivasi sel limfosit B dalam menghasilkan antibodi IgE spesifik.⁸ Paparan ulang alergen melalui IgE spesifik yang melekat pada sel mast tersensitisasi memicu degranulasi melepaskan histamin pada reaksi alergi fase cepat dan eosinofil pada reaksi alergi fase lambat.⁹⁻¹⁰

Eosinofil merupakan sel dominan yang direkrut pada jaringan terinflamasi berkaitan dengan reaksi alergi. Akumulasi eosinofil pada daerah peribronkial dapat menggambarkan data yang lebih akurat mengenai alergi saluran pernapasan dibandingkan eosinofil pada darah tepi yang dapat saja terjadi karena adanya inflamasi pada daerah lain. Proses rekrutmen eosinofil dan pelepasan granula protein eosinofil yang memiliki efek toksik pada jaringan terinflamasi turut dipengaruhi oleh IL-5. Perpindahan dan akumulasi eosinofil menuju jaringan paru pada alergi saluran pernapasan dipengaruhi oleh ICAM-1 dan VCAM-1.⁹⁻¹¹

Sensitisasi Ovalbumin terhadap Jumlah Eosinofil pada Paru

Ovalbumin (OVA) sebagai protein telur dapat menjadi alergen yang cukup efektif dalam mengembangkan model mencit alergi. OVA dapat diterapkan melalui metode sistemik dan lokal secara akut ataupun kronik yang dapat meningkatkan kadar IgE spesifik dan akumulasi eosinofil.¹¹ Sensitisasi OVA pada penelitian ini menggunakan nebulizer *Omron* tipe NE-C28 dan membuktikan jumlah eosinofil pada gambaran histopatologi jaringan paru kelompok kontrol positif (K2) lebih tinggi secara signifikan dibandingkan kelompok kontrol negatif (K1), sehingga dapat disimpulkan bahwa OVA berhasil mencetuskan inflamasi pada saluran pernapasan model hewan coba alergi.

Injeksi OVA sistemik dengan frekuensi lima kali dalam seminggu didapatkan kadar antibodi IgE spesifik, sitokin IL-4 dan IL-5 serum pada kelompok sensitisasi OVA lebih

tinggi dibandingkan kelompok kontrol.¹² Sensitisasi OVA secara injeksi intraperitoneal pada hari ke-0 dan 14, dilanjutkan inhalasi OVA selama 20 menit dengan frekuensi tiga kali seminggu selama 6 minggu memberikan respon inflamasi dengan infiltrasi sel radang dan eosinofil lebih tinggi secara bermakna pada kelompok OVA dibandingkan kontrol ($p = 0,029$).¹³

Sensitisasi OVA secara akut pada model hewan coba alergi menggambarkan peningkatan antibodi IgE, sitokin T_H2 , dan akumulasi sel eosinofil secara dominan, sedangkan kondisi *airway remodeling* pada alergi saluran pernapasan hanya dapat ditemukan pada sensitisasi OVA dalam jangka waktu kronis.¹⁰⁻¹¹

Pemberian Al(OH)₃ sebagai adjuvant dalam sensitisasi OVA meningkatkan dominasi sel limfosit T_H2 dalam memproduksi sel mast tersensitisasi secara bebas, sehingga dapat memicu reaksi alergi dalam waktu yang lebih singkat. Sensitisasi OVA dengan adjuvant memproduksi kadar antibodi spesifik IgE-OVA (67 ± 11) lebih tinggi dibandingkan sensitisasi OVA tanpa adjuvant ($41 \pm 3,6$).¹⁴

Pemilihan strain BALB/c betina dalam mengembangkan model mencit alergi dipilih berdasarkan tingkat sensitivitasnya dalam mengaktivasi sel limfosit T_H2 dominan dibandingkan dengan strain lain. Sensitisasi OVA pada mencit BALB/c mengakibatkan perbedaan bermakna antara tingkat hipersekresi mukus sel goblet dan kadar antibodi spesifik IgE-OVA yang lebih tinggi dibandingkan sensitisasi OVA pada mencit C57BL/6.^{11,14}

Pemberian Suplementasi Zink terhadap Jumlah Eosinofil pada Paru

Zink sebagai mikronutrien esensial terbukti dapat memperbaiki gejala klinis dan kualitas hidup penderita rinitis alergi.¹⁵ Zink dalam bentuk bebas atau *labile-zink* banyak terdapat di apikal sitoplasma epitel saluran pernapasan dan berperan sebagai *cytoprotectant* dalam mencegah kerusakan epitel akibat radikal bebas dan mediator inflamasi.¹⁶ Alergi saluran pernapasan (seperti rinitis alergi dan asma) menimbulkan kondisi defisiensi zink yang dapat menurunkan produksi INF- γ dan IL-2 sebagai aktivasi terhadap sel limfosit T_H1 , namun tidak mempengaruhi produksi IL-4, IL-6, dan IL-10 sebagai aktivasi terhadap sel limfosit T_H2 .¹⁷ Meski demikian, kondisi tersebut tetap mengarah pada dominasi imunitas humoral (T_H2) sehingga terjadi peningkatan antibodi IgE dan akumulasi jumlah eosinofil sebagai respon inflamasi alergi.⁹⁻¹⁰

Penelitian ini mendapatkan perbedaan yang signifikan ($p = 0,000$) antara jumlah eosinofil kelompok kontrol positif (K2) dan kelompok perlakuan yang telah memperoleh suplementasi zink dengan dosis 5mg/kgBB selama 16 hari (P). Tablet dispersibel zink 20 mg dilarutkan dalam normal saline sehingga diperoleh kandungan 0,1 mg zink setiap pemberian 0,5 cc sonde per hari. Hasil jumlah eosinofil kelompok P didapatkan lebih rendah secara signifikan dibandingkan kelompok K2 ($p = 0,000$), sehingga dapat dibuktikan bahwa pemberian suplementasi zink dapat menurunkan jumlah eosinofil pada alergi saluran pernapasan.

Pemberian suplementasi zink gluconate dengan dosis 1mg/kgBB secara injeksi intraperitoneal pada kelompok mencit alergi yang diberikan sensitisasi OVA melaporkan bahwa akumulasi sel neutrofil pada BAL (*broncho-alveolar lavage*) lebih rendah secara signifikan dibandingkan kelompok mencit alergi yang tidak diberikan perlakuan zink.⁶

Kondisi defisiensi zink dapat memperburuk kejadian alergi pada saluran pernapasan. Populasi mencit alergi dibagi menjadi tiga kelompok yaitu kelompok diet rendah zink, kelompok diet normal zink, dan kelompok diet tinggi zink. Kelompok diet rendah zink memiliki jumlah eosinofil pada BAL serta akumulasi eosinofil pada peribronkial paru lebih tinggi secara signifikan dibandingkan kelompok diet normal zink. Sebaliknya, kelompok diet tinggi zink memiliki jumlah eosinofil lebih rendah secara signifikan dibandingkan kelompok diet normal zink.¹⁸

Defisiensi zink akibat alergi saluran pernapasan berpengaruh pada abnormalitas protein transporter zink sehingga dapat menurunkan *uptake* atau meningkatkan *efflux* dari zink labil. Penurunan signifikan dari pemeriksaan ZnT₄ m-RNA dan ZIP4 ditemukan pada mencit alergi sehingga vesikuler zink tidak dapat mencapai apikal sitoplasma epitel dan gagal membentuk Cu/Zn SOD sebagai fungsi antioksidan dari zink.⁶ Inflamasi alergi juga dapat meningkatkan hipersekresi zink dalam menjalankan fungsi antiapoptosis. Kehilangan zink secara berlebihan akibat rusaknya bagian apikal sitoplasma, serta rentan terhadap ROS (*Reactive-Oxygen Species*) menyebabkan kondisi defisiensi zink yang memperburuk reaksi inflamasi alergi.^{7,16}

Suplementasi zink terbukti dapat meningkatkan produksi INF- γ dan IL-2 pada alergi saluran pernapasan. Penelitian sebelumnya oleh Aydemir dkk melaporkan hasil IFN- γ mRNA setelah pemberian suplementasi ZnSO₄ lebih tinggi secara signifikan dibandingkan pada pemberian placebo, sehingga dapat mencegah timbulnya berbagai mediator inflamasi, termasuk eosinofil, sebagai akibat dari ketidakseimbangan T_H1-T_H2.¹⁹

SIMPULAN

Pemberian sensitisasi ovalbumin (OVA) melalui injeksi intraperitoneal dan inhalasi pada mencit BALB/c terbukti memberikan jumlah eosinofil pada jaringan paru lebih tinggi dibandingkan mencit BALB/c yang tidak diberikan sensitisasi OVA. Pemberian suplementasi zink pada mencit BALB/c yang diberikan sensitisasi OVA terbukti memberikan jumlah eosinofil pada jaringan paru lebih rendah dibandingkan mencit BALB/c yang hanya diberikan sensitisasi OVA.

DAFTAR PUSTAKA

1. Baratawidjaja KG, Rengganis I. Rinitis Alergi. In: *Alergi Dasar*. 1st ed. Jakarta: Interna Publishing; 2009:125-56.
2. Mandhane SN, Shah JH, Thennati R. Allergic rhinitis: an update on disease, present treatments and future prospects. *Int Immunopharmacol*. 2011 (cited 2015 Dec 12); 11(11):1646-62
3. Zheng T, Yu J, Oh MH, Zhu Z. The atopic march : progression from atopic dermatitis to allergic rhinitis and asthma. *Allergy Asthma Immunol Res*. 2011 (cited 2015 Dec 12); 3(2):67-73.
4. Rupa P, Schnarr L, Mine Y. Effect of heat denaturation of egg whithare proteins ovalbumin and ovomucoid on CD4 + T cell cytokine production and human mast cell histamine production. *J Funct Foods*. 2015 (cited 2015 Dec 17);18:28-34.
5. Nials AT, Uddin S. Mouse models of allergic asthma: acute and chronic allergen challenge. *Dis Model Mech*.. 2008 (cited 2016 Jun 9); 1 (4-5):213-20.
6. Zalewski PD, Truong-Tran AQ, Grosser D, Jayaram L, Murgia C, Ruffin RE. Zinc metabolism in airway epithelium and airway inflammation: Basic mechanisms and clinical targets. A review. *Pharmacol Ther*. 2005 (cited 2015 Dec 19); 105(2):127-49.
7. Morgan CI, Ledford JR, Zhou P, Page K. Zinc supplementation alters airway inflammation and airway hyperresponsiveness to a common allergen. 2011 (cited 2015 Dec 20):1-10.
8. Salib RJ, Drake-Lee A, Howarth PH. Allergic rhinitis: past, present and the future. *Clin Otolaryngol Allied Sci*. 2003 (cited 2015 Dec 19); 28(4):291-303.

9. Kiecolt-glaser JK, Heffner KL, Glaser R, Malarkey WB, Porter K, Atkinson C, et al. How stress and anxiety can alter immediate and late phase skin test responses in allergic rhinitis. *Psychoneuroendocrinology*. 2009 (cited 2015 Dec 20); 34(5):670-80.
10. Gangwar RS, Friedman S, Seaf M, Levi-schaffer F. Mast cells and eosinophils in allergy: Close friends or just neighbors. *Eur J Pharmacol* . 2015 (cited 2015 Dec 23):1-7.
11. Wyss D, Bonneau O, Trifilieff A. Mast cell involvement in the adenosine mediated airway hyper-reactivity in a murine model of ovalbumin-induced lung inflammation. *Br J Pharmacol* . 2005 (cited 2015 Dec 21);145:845-52.
12. Lee EJ, Song MJ, Kwon HS. Oral administration of fermented red ginseng suppressed ovalbumin-induced allergic responses in female BALB/c mice. *Phytomed*. 2012 (cited 2016 Jun 9); 896-903.
13. Barlianto W, Chandra K. Pengembangan model mencit alergi dengan paparan kronik ovalbumin. *Jur K Brawijaya Vol 25*. 2009 (cited 2016 Jun 9); pp.1-5.
14. Conrad ML, Yildirim AO. Comparison of adjuvant and adjuvant-free murine experimental asthma models. *Clin Exp Allergy*. 2009 (cited 2016 Jun 9); 39 (8) :1246-54.
15. Setyorini D. Pengaruh suplementasi zink pada perbaikan gejala klinis dan kualitas hidup penderita rinitis alergi persisten sedang berat [Thesis]. Semarang: Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro; 2014.
16. Murgia C, Grosser D, Truong-tran AQ, Roscioli E, Michalcsyk A, Ackland ML, Stoltenberg M, et al. Apical Localization of Zinc Transporter ZnT4 in Human Airway Epithelial Cells and Its Loss in a Murine Model of Allergic Airway Inflammation. 2011 (cited 2015 Dec 29):910-28.
17. Lu H, Xin Y, Tang Y, Shao G. Zinc suppressed the airway inflammation in asthmatic rats: effects of zinc on generation of eotaxin, MCP-1, IL-8, IL-4, and IFN- γ . *Biol Trace Elem Res*]. 2012 (cited 2015 Dec 29); 150(1-3):314-21.
18. Richter M, Bonneau R. Zinc status modulates bronchopulmonary eosinophil infiltration in a murine model of allergic inflammation *Ches*. 2003 (cited 2016 Jun 10);123:446S.
19. Aydemir TB, Liuzzi JP, McClellan S, Cousins RJ. Zinc transporter ZIP8 (SLC39A8) and zinc influence INF- γ expression in activated human T cells. *J. Leukoc. Biol*. 2009 (cited 2016 Jun 10);86.