

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Disertasi ini adalah hasil karya saya sendiri,
dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk
telah saya nyatakan dengan benar.

Nama : Alvina

NPM : 2006510972

Tanda Tangan :



Tanggal : 21 Juli 2023

LEMBAR PENGESAHAN

Disertasi ini diajukan oleh :

Nama : Alvina

NPM : 2006510972

Program Studi : Doktor Ilmu Kedokteran

Judul Disertasi : Pengaruh Suplementasi Vitamin D terhadap Perbaikan Fungsi Sel Beta Pankreas pada Diabetes Melitus Tipe 2: Kajian Terhadap SOD, IL-6, Ekspresi PDX-1, dan Resistensi Insulin

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Doktor pada Program Studi Doktor Ilmu kedokteran, Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia.

DEWAN PENGUJI

Promotor: Prof. dr. Suzanna Immanuel, Sp.PK(K)

Kopromotor:

Prof. dr. Dante S. Harbuwono, Sp.PD, Subsp.E.M.D.(K), Ph.D.

Prof. dr. Franciscus D Suyatna, Sp.FK, Ph.D.

Tim Penguji:

Prof. Dr. dr. Suhendro, Sp.PD, Subsp.P.T.I (K) (Ketua)

Dr. dr. Joedo Prihartono, M.P.H.

dr. Alida R. Harahap, Sp.PK(K), Ph.D.

Prof. Dr. dr Pusparini, Sp.PK

(Anggota)

(Anggota)

(Anggota)

Ditetapkan di : Jakarta

Tanggal : 21 Juli 2023

**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI TUGAS
AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai sivitas akademik Universitas Indonesia, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Alvina
NPM : 2006510972
Program Studi : Doktor
Fakultas : Kedokteran
Jenis Karya : Disertasi

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia **Hak Bebas Royalti Noneksklusif** (*Non-exclusive Royalty Free Right*) atas karya ilmiah saya yang berjudul:

Pengaruh Suplementasi Vitamin D terhadap Fungsi Sel Beta Pankreas Pada Diabetes Melitus Tipe 2: Kajian terhadap SOD, IL-6, Ekspresi PDX-1, dan Resistensi Insulin

Beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat, dan memublikasikan tugas akhir saya tanpa meminta izin dari saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik hak cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di: Jakarta

Pada tanggal: 21 juli 2023

Yang menyatakan



(Alvina)



UNIVERSITAS INDONESIA

**PENGARUH SUPLEMENTASI VITAMIN D TERHADAP
FUNGSI SEL BETA PANKREAS PADA DIABETES MELITUS
TIPE 2: KAJIAN TERHADAP SOD, IL-6, EKSPRESI PDX-1,
DAN RESISTENSI INSULIN**

DISERTASI

**ALVINA
NPM:2006510972**

**PROGRAM STUDI DOKTOR ILMU KEDOKTERAN
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS INDONESIA
JAKARTA
JULI 2023**



UNIVERSITAS INDONESIA

**PENGARUH SUPLEMENTASI VITAMIN D TERHADAP
FUNGSI SEL BETA PANKREAS PADA DIABETES MELITUS
TIPE 2: KAJIAN TERHADAP SOD, IL-6, EKSPRESI PDX-1,
DAN RESISTENSI INSULIN**

DISERTASI

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Doktor
dalam bidang Ilmu Kedokteran Universitas Indonesia di bawah pimpinan
Rektor Universitas Indonesia

Untuk dipertahankan di hadapan Dewan Penguji
pada hari Jumat, tanggal 21 Juli 2023 pukul 09.00 WIB

**ALVINA
NPM:2006510972**

**PROGRAM STUDI DOKTOR ILMU KEDOKTERAN
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS INDONESIA
JAKARTA
JULI 2023**

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Disertasi ini adalah hasil karya saya sendiri,
dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk
telah saya nyatakan dengan benar.

Nama : Alvina

NPM : 2006510972

Tanda Tangan :

Tanggal : 21 Juli 2023

LEMBAR PENGESAHAN

Disertasi ini diajukan oleh :

Nama : Alvina

NPM : 2006510972

Program Studi : Doktor Ilmu Kedokteran

Judul Disertasi : Pengaruh Suplementasi Vitamin D terhadap Fungsi Sel Beta Pankreas pada Diabetes Melitus Tipe 2: Kajian terhadap SOD, IL-6, Ekspresi PDX-1, dan Resistensi Insulin

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Doktor pada Program Studi Doktor Ilmu kedokteran, Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia.

DEWAN PENGUJI

Promotor: Prof. dr. Suzanna Immanuel, Sp.PK(K) (.....)

Kopromotor:

Prof. dr. Dante S. Harbuwono, Sp.PD, Subsp.E.M.D.(K), Ph.D. (.....)

Prof. dr. Franciscus D Suyatna, Sp.FK, Ph.D. (.....)

Tim Penguji:

Prof. Dr. dr. Suhendro, Sp.PD, Subsp.P.T.I (K) (Ketua) (.....)

Dr. dr. Joedo Prihartono, M.P.H. (Anggota) (.....)

dr. Alida R. Harahap, Sp.PK(K), Ph.D. (Anggota) (.....)

Prof. Dr. dr Pusparini, Sp.PK (Anggota) (.....)

Ditetapkan di : Jakarta

Tanggal : 21 Juli 2023

UCAPAN TERIMA KASIH

Segala Puji dan syukur saya panjatkan ke hadapan Allah Bapa di surga, atas segala berkat dan karuniaNya saya dapat menyelesaikan pendidikan Doktor Ilmu Kedokteran dengan penelitian disertasi yang berjudul ‘Pengaruh Suplementasi Vitamin D terhadap Fungsi Sel Beta Pankreas Pada Diabetes Melitus Tipe 2: Kajian terhadap SOD, IL-6, Ekspresi PDX-1, dan Resistensi Insulin.

Saya menyadari sepenuhnya bahwa tanpa bantuan dan bimbingan berbagai pihak sangatlah sulit bagi saya untuk menyelesaikan pendidikan Doktor ini. Oleh karena itu dengan kerendahan hati, perkenankan saya mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

Rektor Universitas Indonesia **Prof. Ari Kuncoro, S.E, M.A.,Ph.D.** dan Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, **Prof. Dr. dr. H Ari Fahrial Syam, Sp.PD., Subsp. G.E.H (K), MMB., FINASIM, FACP** atas kesempatan yang diberikan kepada saya untuk menimba ilmu serta menyelesaikan pendidikan pada Program Doktor Ilmu Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.

Ketua Program Studi Doktor Ilmu Kedokteran, **Prof. Dr. dr. Suhendro, Sp.PD, Subsp. P.T.I(K)** dan Sekretaris Program Studi Doktor Ilmu Kedokteran **Prof. dr. Harrina Erlianti Rahardjo, SpU, Subsp. F.F.N. (K), Ph.D.** saya haturkan terima kasih atas bimbingan dan dukungan moril yang diberikan kepada saya sebagai peserta didik.

Prof. Dr. dr. Sarwono Waspadji, Sp.PD., Subsp.E.M.D.(K) dan **Prof. dr. Saleha Sungkar, DAP&E, MS.,Sp.Par.K.,** saya ucapkan banyak terima kasih atas bimbingannya dalam mengajarkan saya ketelitian dan penulisan yang benar dalam menyusun disertasi ini.

Prof. dr. Suzanna Immanuel, Sp.PK(K), selaku Promotor yang sudah saya kenal sejak masih dalam pendidikan spesialis I, beliau dengan sabar membimbing selama penelitian dan penyusunan disertasi ini.

Prof. dr. Dante Saksono Harbuwono, Sp.PD., Subsp.E.M.D.(K), Ph.D. selaku Kopromotor, saya ucapkan terima kasih sebesar-besarnya yang telah meluangkan waktu, pikiran, bimbingan dan tenaga untuk membimbing saya di tengah-tengah kesibukannya sehingga saya berhasil menyelesaikan disertasi saya ini.

Prof. dr. Fransiscus D Suyatna, Sp.FK, Ph.D. selaku Kopromotor, saya ucapkan terima kasih sebesar-besarnya atas waktu, pikiran, bimbingan, dan tenaga yang diberikan ditengah-tengah kesibukannya sehingga disertasi ini dapat saya selesaikan.

Almh. Prof. Dr. dr. Saptawati Bardosono, M.S. yang telah membimbing saya pada awal penelitian, semoga beliau mendapat tempat yang layak di sisi Tuhan.

dr. Alida R Harahap, Sp.PK(K), Ph.D., dan Dr. dr. Joedo Prihartono, M.P.H. selaku pembimbing dan tim penguji yang telah bersedia meluangkan waktu, memberikan masukan dan saran yang berguna sehingga disertasi ini dapat saya selesaikan.

Prof. Dr. dr. Pusparini, Sp.PK selaku anggota Tim Penguji dari Fakultas Kedokteran Universitas Trisakti, beliau adalah guru, pembimbing, dan teman yang selalu mendorong, membimbing, dan memberi masukan kepada saya sehingga saya dapat menyelesaikan disertasi ini.

Prof. Dr. Ir. Kadarsah Suryadi, D.E.A., selaku Rektor Universitas Trisakti dan **Dr. dr. Raditya Wratsangka, Sp.OG, Subsp. Obginsos,** selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Trisakti yang telah mengijinkan saya untuk menempuh pendidikan S3 di Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, saya ucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya.

Alm. Prof. Dr. dr. Adi Priyana, Sp.PK, dr. Danny Wiradharma, S.H., M.S., dr. Lukman Halim, M.S., Sp.GK, dr. Mario, Sp.PK, dan dr. Yasmine Mashabi, Sp.PK, teman-teman staf Bagian Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Trisakti, terima kasih yang sebesar-besarnya atas dukungan yang diberikan selama saya menempuh pendidikan S3.

Orang tua yang saya cintai, **mama Dra. Yanti Indrawati S, M.S.** dan **Alm papa Sambas Lesmana,** adik-adik beserta keluarga yang telah mendukung saya baik dalam dukungan doa, moril maupun materiil. Atas doa yang dipanjatkan tanpa henti, semangat yang diberikan tanpa lelah dan kasih sayang dicurahkan tanpa batas sehingga saya dapat menyelesaikan studi ini dengan baik.

Teman-teman seperjuangan Program Studi Doktor Ilmu Kedokteran yang tidak dapat disebutkan satu persatu, saya ucapkan terima kasih atas dukungannya sehingga saya bisa menyelesaikan pendidikan S3 ini.

Kepada sahabat **dr. Regina AM Husada, Sp.PK, dr. Helen DS, Sp.PK**, dan **Ana Dahlia** yang telah membantu dalam dukungan moril sehingga saya bisa menyelesaikan studi ini dengan baik.

Kepada semua pihak yang telah membantu saya dalam melaksanakan penelitian ini, Kepala Dinas Kesehatan Jakarta Selatan, Kepala Puskesmas Kecamatan Mampang Prapatan dan staf, ibu-ibu kader kesehatan Puskesmas Kecamatan Mampang, responden penelitian, Laboratorium Terpadu FKUI, Laboratorium PK RSCM, Laboratorium Klinik Prodia dan semua pihak yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu, saya ucapkan terima kasih yang tak terhingga atas bantuan dan partisipasinya sehingga saya dapat menyelesaikan disertasi ini.

Semoga hasil penelitian disertasi ini dapat memberikan sumbangsih dan manfaat bagi pembaca. Akhir kata, saya mohon maaf apabila selama penelitian ini ada kesalahan. Semoga Tuhan membalas semua kebaikan para pihak yang telah membantu dalam penyelesaian disertasi ini.

Jakarta, 21 Juli 2023

Alvina

**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI TUGAS
AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai sivitas akademik Universitas Indonesia, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Alvina
NPM : 2006510972
Program Studi : Doktor
Fakultas : Kedokteran
Jenis Karya : Disertasi

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia **Hak Bebas Royalti Noneksklusif (*Non-exclusive Royalty Free Right*)** atas karya ilmiah saya yang berjudul:

Pengaruh Suplementasi Vitamin D terhadap Fungsi Sel Beta Pankreas Pada Diabetes Melitus Tipe 2: Kajian terhadap SOD, IL-6, Ekspresi PDX-1, dan Resistensi Insulin

Beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat, dan memublikasikan tugas akhir saya tanpa meminta izin dari saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik hak cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di: Jakarta

Pada tanggal: 21 juli 2023

Yang menyatakan

(Alvina)

ABSTRAK

Nama : Alvina
Program Studi : Program Doktor Ilmu Kedokteran
Judul : Pengaruh Suplementasi Vitamin D terhadap Fungsi Sel Beta Pankreas pada Diabetes Melitus Tipe 2. Kajian terhadap SOD, IL-6, Ekspresi PDX-1, dan Resistensi Insulin

Diabetes mellitus (DM) merupakan penyakit metabolik yang disebabkan berkurangnya sekresi hormon insulin, menurunnya sensitivitas insulin atau kombinasi keduanya. DM tipe 2 merupakan salah satu jenis diabetes melitus yang paling banyak penyandangannya. Defisiensi vitamin D sering dikaitkan dengan kejadian DM tipe 2. Vitamin D merupakan salah satu vitamin yang berpotensi untuk memperbaiki sintesis dan sekresi insulin. Penelitian ini bertujuan untuk menilai pengaruh suplementasi vitamin D 5.000 IU/hari selama 3 dan 6 bulan terhadap fungsi sel beta pankreas yang dilihat dari penanda antioksidan (SOD), inflamasi (IL-6), PDX-1, HbA1c dan resistensi insulin (HOMA-IR) serta keamanan pemberian vitamin D yang dilihat dari peningkatan kadar 25-(OH)D dan ekspresi VDR.

Penelitian ini menggunakan desain *double blind randomized controlled trial* mengikutsertakan 94 penyandang DM tipe 2 dengan usia 35–80 tahun di Puskesmas Kecamatan Mampang Jakarta Selatan. Hasil randomisasi terdapat 47 subjek kelompok kontrol dan 47 subjek kelompok vitamin D. Kelompok kontrol mendapatkan plasebo sedangkan kelompok vitamin D mendapatkan plasebo dan vitamin D 5.000 IU selama 6 bulan. Studi dilakukan mulai bulan Januari–Desember 2022. SOD, IL-6, PDX-1, VDR, HbA1c, glukosa darah, insulin puasa, 25-(OH)D, HOMA-IR diperiksa pada awal penelitian, pascasuplementasi 3 dan 6 bulan. Analisis statistik dengan SPSS 20 menggunakan uji ANOVA *general linear repeated measurement* dan Mann Whitney.

Karakteristik subjek penelitian pada kelompok vitamin D dan kelompok kontrol pada awal penelitian menunjukkan kedua kelompok setara baik pada karakteristik demografis, laboratorium, dan asupan nutrisi. Pascasuplementasi vitamin D selama 3 dan 6 bulan terdapat perbedaan bermakna kadar 25-(OH)D ($p = 0,000$), tidak terdapat perbedaan bermakna HbA1c dan glukosa darah ($p = 0,360$ dan $p = 0,296$) antara kelompok kontrol dan kelompok vitamin D. Terdapat perbedaan bermakna kadar insulin pasca suplementasi 3 dan 6 bulan ($p = 0,034$ dan $p = 0,013$) serta perbedaan bermakna HOMA-IR pasca suplementasi 3 dan 6 bulan ($p = 0,033$ dan $p = 0,031$) antara kelompok kontrol dan kelompok vitamin D. Kadar insulin pada kedua kelompok mengalami peningkatan tetapi peningkatan kadar insulin pada kelompok kontrol lebih tinggi. HOMA-IR pada kedua kelompok mengalami peningkatan tetapi peningkatan HOMA-IR pada kelompok kontrol lebih tinggi. Terdapatnya kadar insulin dan HOMA-IR yang lebih rendah pada kelompok vitamin D menunjukkan adanya perbaikan resistensi insulin. Untuk PDX-1 tidak terdapat perbedaan bermakna pasca suplementasi 3 dan 6 bulan ($p = 0,464$ dan $p = 0,499$) antara kelompok kontrol dan kelompok vitamin D. Vitamin D tidak terbukti meningkatkan SOD dan VDR serta tidak terbukti menurunkan IL-6.

Simpulan: Suplementasi vitamin D 5.000 IU/hari selama 6 bulan dapat meningkatkan kadar 25-(OH)D dalam batas normal, serta dapat memperbaiki resistensi insulin melalui penurunan HOMA-IR dan penurunan sekresi insulin. Efek terhadap HbA1c, SOD, IL-6, PDX-1, dan VDR tidak terbukti.

Kata kunci: DM tipe 2, HOMA-IR, IL-6, PDX-1, SOD, vitamin D

ABSTRACT

Name : Alvina
Study Program : Medical Doctorate Program
Title : Effect of Vitamin D Supplementation on Pancreatic Beta Cell Function in Type 2 Diabetes Mellitus. Study on SOD, IL-6, PDX-1 Expression, and Insulin Resistance

Diabetes mellitus (DM) is a metabolic disease that is caused by reduced insulin secretion, reduced insulin sensitivity, or a combination of the two. Type 2 DM is one of the types of diabetes mellitus with the greatest number of cases. Vitamin D deficiency is frequently associated with the incidence of type 2 DM. Vitamin D is one of the vitamins with the potential to improve insulin synthesis and secretion. This study aimed to evaluate the effect of supplementation of vitamin D at 5.000 IU/day for 3 and 6 months on pancreatic beta cell function from the perspective of antioxidant (SOD) and inflammatory (IL-6) markers, PDX-1 expression, HbA1c concentration, and insulin resistance (HOMA-IR), and the safety of vitamin D administration as shown by 25-(OH)D concentration and vitamin D receptor (VDR) expression. This study was a double blind randomized controlled trial involving 94 patients with type 2 DM aged 35–80 years at Mampang District Public Health Center, South Jakarta. Randomization resulted in 47 subjects in the control group and 47 subjects in the vitamin D group. The control group received placebo whereas the vitamin D group received placebo and vitamin D at 5.000 IU for 6 months. The study was conducted from January–December 2022. SOD, IL-6, PDX-1, VDR, HbA1c, blood glucose, fasting insulin, 25-(OH)D, and HOMA-IR were determined at baseline and after supplementation for 3 and 6 months. Statistical analysis by SPSS 20 used ANOVA general linear repeated measurement and Mann-Whitney tests. Characteristics of study subjects in the vitamin D and control groups at baseline showed that both groups were similar in demographic characteristics, laboratory measures, and nutrient intake. After supplementation of vitamin D for 3 and 6 months there were significant differences in 25-(OH)D concentration ($p = 0.000$), but no significant differences in HbA1c and blood glucose ($p = 0.360$ and $p = 0.296$) between control and vitamin D groups. There were significant differences in insulin concentration after supplementation for 3 and 6 months ($p = 0.034$ and $p = 0.013$) and significant differences in HOMA-IR after supplementation for 3 and 6 months ($p = 0.033$ and $p = 0.031$) between control and vitamin D groups. Insulin concentrations increased in both groups but the increase insulin concentrations was higher in the control group. HOMA-IR increased in both groups but the increase in HOMA-IR was higher in the control group. The lower insulin concentrations and decreased HOMA-IR in the vitamin D group indicated improve insulin resistance. With regard to PDX-1 there were no significant differences after supplementation for 3 and 6 months ($p = 0.464$ and $p = 0.499$) between control and vitamin D groups. Vitamin D was not proven to increase SOD and VDR, and was not proven to reduce IL-6.

Conclusion: Supplementation of vitamin D at 5.000 IU/day for 6 months was able to increase 25-(OH)D concentration within normal limits and was able to improve insulin resistance through reduction in HOMA-IR and decreased insulin secretion. Effects on HbA1c, SOD, IL-6, PDX-1, and VDR were not proven.

Keywords: HOMA-IR, IL-6, PDX-1, SOD, type 2 DM, vitamin D

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS.....	iii
LEMBAR PENGESAHAN	v
HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI TUGAS	
AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS	xi
ABSTRAK	xiii
ABSTRACT	xiv
DAFTAR ISI.....	xv
DAFTAR GAMBAR.....	xviii
DAFTAR TABEL.....	xix
DAFTAR LAMPIRAN	xx
DAFTAR SINGKATAN.....	xxi
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah	5
1.2.1 Identifikasi Masalah	5
1.2.2 Pertanyaan Penelitian	6
1.3 Hipotesis Penelitian.....	6
1.4 Tujuan Penelitian	7
1.4.1 Tujuan Umum.....	7
1.4.2 Tujuan Khusus.....	7
1.5 Manfaat Penelitian	7
1.5.1 Penyandang DM Tipe 2.....	7
1.5.2 Kebijakan Kesehatan	7
1.5.3 Akademik	8
1.5.4 Penelitian Lebih lanjut.....	8
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	9
2.1 DM Tipe 2 di Indonesia	9
2.2 Resistensi Insulin dan Inflamasi pada DM Tipe 2	9
2.2.1 Sintesis dan Sekresi Insulin	9
2.2.2 Mekanisme Pengaruh Resistensi Insulin dan Inflamasi pada Sel Beta Pankreas	13
2.3 Pengaruh NFκB dan IL-6 pada Sel Beta Pankreas DM Tipe 2.....	17
2.4 <i>Pancreatic Duodenal Homeobox Factor-1(PDX-1)</i> pada Sel Beta Pankreas DM Tipe 2	21
2.5.1 Metabolisme, Sintesis, dan Struktur Kimia Vitamin D	28
2.5.2 Defisiensi dan Asupan Vitamin D	32
2.5.3 Efek Vitamin D pada Sel Beta Pankreas DM Tipe 2	37
2.5.4 Pengaruh Vitamin D terhadap Homeostasis Glukosa, Inflamasi, dan Stres Oksidatif pada DM Tipe 2	39
2.6 Hubungan <i>Peripheral Blood Mononuclear Cell</i> (PBMC) dengan Insulin dan Reseptor Vitamin D (VDR) pada DM Tipe 2	45
2.7 Kerangka Teori.....	50
2.8 Kerangka Konsep	52

BAB 3 METODE PENELITIAN	53
3.1 Desain Penelitian	53
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian.....	53
3.3 Populasi dan Subjek.....	53
3.4 Kriteria Subjek Penelitian.....	53
3.4.1 Kriteria Inklusi:	53
3.4.2 Kriteria Eksklusi:	54
3.4.3 Kriteria <i>Drop Out</i> :.....	54
3.5 Besar Sampel	54
3.6.1 Seleksi Subjek.....	55
3.6.2 Pengukuran dan Pengambilan Darah	56
3.6.3 Randomisasi dan Alokasi Perlakuan.....	56
3.6.4 Penanganan Spesimen Darah	57
3.6.5 Pemantauan Asupan Makanan	57
3.6.6 Pemeriksaan Laboratorium	58
3.7 Penyediaan Preparat Tablet Suplementasi.....	62
3.8 Pemberian Suplementasi.....	62
3.9 Kepatuhan Subjek.....	62
3.10 Variabel Penelitian	63
3.10.1 Variabel Bebas	63
3.10.2 Variabel Tergantung	63
3.11 Definisi Operasional	63
3.12 Alur Kerja Penelitian	66
3.13 Analisis Data.....	67
3.14 Etika Penelitian dan <i>Informed Consent</i>	67
 BAB 4 HASIL PENELITIAN.....	 69
4.1 Partisipasi Subjek Penelitian	69
4.2 Data Dasar Subjek Penelitian	70
4.2.1 Karakteristik Subjek.....	70
4.2.2 Pemeriksaan Laboratorium pada Awal Penelitian	72
4.2.3 Asupan Nutrien Subjek pada Awal Penelitian.....	72
4.3 Kepatuhan Subjek Penelitian.....	73
4.4 Kadar 25-(OH)D Pasca Suplementasi	74
4.5 Pengaruh Suplementasi Vitamin D terhadap HbA1c, Glukosa Darah, Insulin, HOMA-IR Pasca Suplementasi 3 dan 6 Bulan Berdasarkan Kelompok Perlakuan	74
4.6 Pengaruh Suplementasi Vitamin D terhadap Ekspresi IL-6, SOD, VDR di Monosit dan Ekspresi PDX-1 Pasca Suplementasi 3 dan 6 Bulan Berdasarkan Kelompok Perlakuan	75
4.7 <i>Adverse Event</i> Selama Suplementasi	78
4.8 Asupan Nutrien Selama Suplementasi	79
 BAB 5 PEMBAHASAN.....	 81
5.1 Validitas Penelitian.....	81
5.2 Pembahasan Umum	81
5.3 Manfaat Suplementasi Vitamin D terhadap Kadar 25-(OH)D pada Penyandang DM Tipe 2.....	83

5.4 Pengaruh Suplementasi Vitamin D terhadap SOD pada Penyandang DM Tipe 2.....	85
5.5 Pengaruh Suplementasi Vitamin D terhadap IL-6 pada Penyandang DM Tipe 2	87
5.6 Pengaruh Suplementasi Vitamin D terhadap PDX-1 pada Penyandang DM Tipe 2.....	88
5.7 Pengaruh Suplementasi Vitamin D terhadap HbA1c, Glukosa Darah, Insulin, dan HOMA-IR pada Penyandang DM Tipe 2	89
5.8 Evaluasi VDR Pasca Suplementasi Vitamin D pada Penyandang DM Tipe 2	92
5.9 <i>Adverse Event</i> Selama Suplementasi	93
5.10 <i>Proposed Mechanism</i> Efek Vitamin D terhadap Fungsi Pankreas	94
5.11 Kontribusi Penelitian.....	97
5.12 Keunggulan Dan Keterbatasan Penelitian.....	97
BAB 6 SIMPULAN DAN SARAN	99
6.1 Simpulan	99
6.2 Saran.....	99
6.2.1 Untuk Kebijakan Kesehatan	99
6.2.2 Untuk Bidang Akademik dan Penelitian	100
RINGKASAN	101
SUMMARY	109
DAFTAR PUSTAKA	117
LAMPIRAN	131
DAFTAR RIWAYAT HIDUP	153

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1.	Pulau Langerhans Sel Beta Pankreas.....	10
Gambar 2.2.	Jalur Sekresi Insulin.....	12
Gambar 2.3.	Mekanisme Pensinyalan Insulin Normal	13
Gambar 2.4.	Perjalanan Fungsi Sel Beta pada DM tipe 2	15
Gambar 2.5.	Faktor Transkripsi di Sel Beta Pankreas pada DM tipe 2.....	15
Gambar 2.6.	Keterlibatan Jalur NFκB Pada Disfungsi Sel Beta Pankreas.....	20
Gambar 2.7.	Struktur Gen dan Protein PDX-1	23
Gambar 2.8.	Pengaruh Hiperglikemia Kronik terhadap PDX-1 dan MafA di Sel Beta Pankreas.....	25
Gambar 2.9.	Pengaruh ROS terhadap Disfungsi Sel Beta Pankreas pada DM tipe 2.....	25
Gambar 2.10.	Translokasi Nukleositoplasmik PDX-1 dan Aktivasi Jalur JNK yang Menyebabkan Disfungsi Sel Beta Pankreas.....	26
Gambar 2.11.	Ekspresi mRNA PDX-1 Kaitannya dengan Glukosa Darah.....	27
Gambar 2.12.	Ekspresi PDX-1 pada DM tipe 2	28
Gambar 2.13.	Fotokimia Sintesis Vitamin D dan Jaringan Target Utama	31
Gambar 2.14.	Struktur Vitamin D2 dan D3.....	32
Gambar 2.15.	Istilah Gizi Terkait Vitamin D	36
Gambar 2.16.	Peran Vitamin D pada Pengaturan Homeostasis Glukosa dan Fungsi Sel Beta Pankreas.....	38
Gambar 2.17.	Efek 1,25 (OH)2D3 pada Inflamasi.....	42
Gambar 2.18.	Kerangka Teori Peran Suplementasi Vitamin D pada Fungsi Sel Beta Pankreas.....	50
Gambar 2.19.	Kerangka Konsep Peran Suplementasi Vitamin D pada Fungsi Sel Beta Pankreas.....	52
Gambar 3.1.	Alur Penelitian.....	66
Gambar 4.1.	Alur Partisipasi Subjek dalam Penelitian	69
Gambar 5.1.	<i>Proposed Mechanism</i> Efek Vitamin D terhadap Fungsi Pankreas...	95

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1.	Penelitian Intervensi: Pengaruh Suplementasi Vitamin D pada Inflamasi, Stres Oksidatif, dan Antioksidan.....	48
Tabel 2.2.	Penelitian Intervensi Pengaruh Suplementasi Vitamin D pada Parameter Metabolik	49
Tabel 3.1.	Rerata dan Simpang Baku Kadar IL-6, SOD, dan Resistensi Insulin (HOMA-IR) pada Penyandang DM Tipe 2.....	54
Tabel 4.1.	Distribusi Karakteristik Subjek pada Awal Penelitian Berdasarkan Kelompok Perlakuan	71
Tabel 4.2.	Pengukuran Laboratorium pada Awal Penelitian Berdasarkan Kelompok Perlakuan	72
Tabel 4.3.	Asupan Nutrien per Hari pada Awal Penelitian Berdasarkan Kelompok Perlakuan	73
Tabel 4.4.	Kadar 25-(OH)D pada Awal Penelitian, Pasca Suplementasi 3 dan 6 Bulan.....	74
Tabel 4.5.	Analisis Post Hoc <i>Multiple Comparison</i> Selisih Kadar 25-(OH)D Saat Awal, Pasca Suplementasi 3 dan 6 Bulan	74
Tabel 4.6.	Kadar Hba1c, Glukosa, Insulin, HOMA-IR pada Awal Penelitian, Pasca Suplementasi 3 dan 6 Bulan.....	75
Tabel 4.7.	Ekspresi IL-6, SOD, VDR pada Awal Penelitian, Pasca Suplementasi 3 dan 6 Bulan.....	76
Tabel 4.8.	Analisis Post Hoc <i>Multiple Comparison</i> Selisih Ekspresi IL-6, SOD, VDR Pasca Suplementasi 3 dan 6 Bulan	76
Tabel 4.9.	Ekspresi RNA PDX-1 pada Awal Penelitian, Pasca Suplementasi 3 dan 6 Bulan.....	77
Tabel 4.10.	Hasil Pemeriksaan Laboratorium Pasca Suplementasi 3 dan 6 Bulan	78
Tabel 4.11.	Asupan Nutrien per Hari Pasca Suplementasi 3 dan 6 Bulan	79

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Lembar persetujuan penelitian	131
Lampiran 2.	Kuesioner Skrining Subjek Penelitian	135
Lampiran 3.	Kuesioner Suplementasi Vitamin D.....	136
Lampiran 4.	<i>Semi Quantitative Food Frequency Questionnaire</i> Vitamin D ...	137
Lampiran 5.	Kuesioner pajanan sinar matahari	139
Lampiran 6.	Jadwal Pengambilan Data dan Pemeriksaan Laboratorium	140
Lampiran 7.	Kode Randomisasi	141
Lampiran 8.	Berita Acara Pembukaan Kode Randomisasi	142
Lampiran 9.	Form Pencatatan Suplementasi	143
Lampiran 10.	Form Kejadian Tidak Diinginkan (KTD) Suplementasi vitamin D.	145
Lampiran 11.	Surat Keterangan Lolos Kaji Etik	147
Lampiran 12.	Persetujuan Penelitian dari Dinkes DKI Jakarta	149
Lampiran 13.	Tabel validasi internal antara kelompok yang ikut penelitian sampai selesai dan kelompok <i>drop out</i> (DO).....	150
Lampiran 14.	Analisis.....	151

DAFTAR SINGKATAN

AGEs	: <i>advanced glycation end product</i>
AI	: <i>adequate intake</i>
ADP	: <i>adenosine diphosphate</i>
ATP	: <i>adenosine triphosphate</i>
BTrCP	: <i>beta transducing repeats containing protein</i>
CMIA	: <i>chemiluminescent microparticle immunoassay</i>
CRP	: <i>C-reactive protein</i>
DBP	: <i>vitamin D binding protein</i>
DKI	: Daerah Khusus Ibukota
DM	: <i>diabetes melitus</i>
DNA	: <i>deoxyribonucleic acid</i>
EAR	: <i>estimated average requirement</i>
ECLIA	: <i>electrochemiluminescence immunoassay</i>
EDTA	: <i>ethylene diamine tetraacetic acid</i>
EFSA	: <i>The European Food Safety Authority</i>
ELISA	: <i>enzyme linked immunosorbent assay</i>
FBW7	: <i>F-box and WD repeat domain containing 7</i>
FFA	: <i>free fatty acid</i>
G6P	: <i>glukosa 6 fosfat</i>
GIP	: <i>glucose-dependent insulintropic polypeptide</i>
GLP-1	: <i>glucagon-like peptide 1</i>
GLUT2	: <i>glucose transporter 2</i>
GLUT4	: <i>glucose transporter 4</i>
HDAC	: <i>histone deacetylase</i>
HDL	: <i>high density lipoprotein</i>
HOMA-IR	: <i>homeostatic model assessment for insulin resistance</i>
hsCRP	: <i>high sensitivity C-Reactive Protein</i>
IAPP	: <i>islet amyloid polipeptide</i>
IKK	: <i>inhibitory κB proteins kinase</i>
INS-1E	: <i>pancreatic beta cell line</i>
IL	: <i>interleukin</i>

IOM	: <i>institute of medicine</i>
IPF1	: <i>insulin promoter factor 1</i>
IR	: <i>insulin receptor</i>
IRS	: <i>insulin receptor substrate</i>
IU	: <i>International Unit</i>
I κ B	: <i>inhibitory κB proteins</i>
JAK/STAT	: <i>janus kinase/signal transducer and activator of transcription</i>
JNK	: <i>Jun N-terminal kinase</i>
LDL	: <i>low density lipoprotein</i>
LOAEL	: <i>lowest observed adverse effect level</i>
MafA	: <i>mammalian transcription factor A</i>
MAPK	: <i>mitogen activated protein kinase</i>
mbIL-6R	: <i>membrane bound nonsignaling IL-6R</i>
MED	: <i>minimal erythematous dose</i>
NADPH	: <i>nicotinamide adenine dinucleotide phosphate</i>
NF κ B	: <i>nuclear factor kappa B</i>
NIK	: <i>NFκB inducing kinase</i>
NO	: <i>nitric oxide</i>
NOAEL	: <i>no observed adverse effect level</i>
PACAP	: <i>pituitary adenylate cyclase activating polypeptide</i>
PBMC	: <i>peripheral blood mononuclear cells</i>
PDK1	: <i>phosphoinositide-dependent protein kinase-1</i>
PDX-1	: <i>pancreatic duodenal homeobox factor-1</i>
PERK	: <i>pancreatic ER kinase</i>
PI3K	: <i>phosphatidylinositol-3-kinase</i>
PIP2	: <i>phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate</i>
PIP3	: <i>phosphatidylinositol-3,4,5-trisphosphate</i>
PKB	: <i>protein kinase B</i>
PP	: <i>polipeptida pankreas</i>
PPAR- δ	: <i>peroxisome proliferator activated receptor-δ</i>
PTH	: <i>parathyroid hormone</i>
RAAS	: <i>renin angiotensin aldosterone system</i>

RCT	: <i>randomized controlled trial</i>
RDA	: <i>recommended dietary allowance</i>
rER	: <i>rough endoplasmic reticulum</i>
RISKESDAS	: Riset Kesehatan Dasar
ROS	: <i>reactive oxygen species</i>
SGOT	: <i>serum glutamic oxaloacetic transaminase</i>
SGPT	: <i>serum glutamic pyruvic transaminase</i>
SOCS-3	: <i>suppressor of cytokine signaling 3</i>
SOD	: <i>superoxide dismutase</i>
SPF	: <i>sun protection factor</i>
SRP	: <i>signal recognition particles</i>
TNF- α	: <i>tumor necrosis factor α</i>
UF	: <i>uncertainty factor</i>
UL	: <i>tolerable upper intake level</i>
UVB	: ultraviolet B
VDR	: vitamin D reseptor
VIP	: <i>vasoactive intestinal peptide</i>
WHO	: <i>World Health Organization</i>

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Diabetes melitus (DM) merupakan penyakit metabolik kronik yang ditandai adanya hiperglikemia. Penyakit DM dapat memberikan dampak komplikasi serius terhadap kualitas hidup individu penyandanganya. DM merupakan masalah kesehatan karena tingkat morbiditas dan mortalitasnya yang tinggi. Berdasarkan survei data Kementerian Kesehatan RI yang dilakukan tahun 2014, kematian yang berhubungan dengan DM menempati urutan ketiga di Indonesia (sebesar 6,7%) setelah stroke dan penyakit jantung. Sebanyak 90% dari total kasus DM adalah tipe 2, sehingga DM tipe 2 merupakan salah satu masalah kesehatan dunia.^{1, 2} Indonesia menempati urutan keempat terbesar di dunia untuk penyandang DM, diperkirakan akan terdapat 21,3 juta penyandang DM di Indonesia pada tahun 2030. Prevalensi penyandang DM dewasa usia 20–79 tahun di dunia berkisar 285 juta (6,4%) pada tahun 2010 dan diperkirakan akan meningkat menjadi 439 juta (7,7%) pada tahun 2030. Indonesia yang berada di Asia Tenggara menempati peringkat ketiga dengan prevalensi sebesar 11,3% dan Indonesia juga merupakan satu-satunya negara di Asia Tenggara yang masuk dalam daftar 10 negara dengan jumlah penyandang DM terbanyak.^{1, 3-5}

Diabetes melitus merupakan penyakit yang disebabkan berkurangnya sekresi hormon insulin, menurunnya sensitivitas insulin atau kombinasi keduanya.⁶ Terjadinya inflamasi derajat ringan di pankreas merupakan faktor penting dalam perkembangan DM tipe 2. Interleukin-6 (IL-6) dianggap sebagai salah satu faktor proinflamasi yang berperan pada perkembangan DM tipe 2. IL-6 diproduksi oleh sel imun, sel endotel, sel otot rangka, sel otot polos, sel beta pankreas dan beberapa jenis sel lainnya. Selain itu IL-6 juga dihasilkan oleh jaringan adiposa yang dapat menginduksi perkembangan resistensi insulin dan patogenesis DM tipe 2. IL-6 berperan dalam inflamasi akut dan kronik. IL-6 berperan utama dalam induksi terjadinya inflamasi jaringan derajat ringan di pankreas yang akhirnya dapat menyebabkan gangguan sekresi insulin dan DM tipe 2. IL-6 juga menghambat fungsi normal pensinyalan insulin di otot yang membutuhkan insulin untuk metabolisme glukosa secara aerob.⁷⁻⁹

IL-6 menyebabkan resistensi insulin dengan cara mengganggu fosforilasi reseptor insulin dan *insulin receptor substrate-1* (IRS-1) serta menginduksi ekspresi

suppressor of cytokine signaling 3 (SOCS-3), suatu penghambat potensial pensinyalan insulin. Terdapat interaksi kuat antara pensinyalan insulin dan IL-6 yang dapat menyebabkan gangguan efek biologis insulin.⁷ Pada obesitas, sintesis IL-6 diatur di adiposit serta berkorelasi dengan IL-6 di sirkulasi dan resistensi insulin. Hal ini menunjukkan adanya hubungan antara IL-6, obesitas, dan inflamasi dalam patogenesis DM tipe 2, serta menunjukkan bahwa IL-6 dapat berperan sebagai salah satu penanda risiko DM tipe 2 tahap awal.¹⁰

Beberapa faktor yang terkait dengan progresivitas pengurangan fungsi sel beta pankreas antara lain adalah glukotoksisitas, lipotoksisitas dan inflamasi. Sistem inflamasi ini diaktifkan oleh *nuclear factor kappa B* (NFκB). Glukotoksisitas dan lipotoksisitas dapat menyebabkan terjadinya disfungsi sel beta pankreas melalui stres oksidatif yang disertai penurunan ekspresi *pancreatic duodenal homeobox factor-1* (PDX-1).^{11, 12}

Selain itu, hiperglikemia kronik dapat menyebabkan ekspresi gen insulin menurun, disertai penurunan ekspresi PDX-1 dan *mammalian transcription factor A* (MafA) yang merupakan dua faktor transkripsi di sel beta pankreas. Hal ini dapat mengakibatkan penekanan sintesis dan sekresi insulin.¹³ PDX-1 berperan dalam perkembangan pankreas serta pengaturan kelangsungan hidup dan fungsi sel beta pada mamalia dewasa. PDX-1 merupakan faktor transkripsi yang penting untuk maturasi dan perkembangan sel beta serta berperan dalam transkripsi beberapa gen yang penting untuk sintesis insulin. Pengaturan yang salah terhadap ekspresi PDX-1 sel beta mendasari patogenesis kegagalan sel beta pada DM tipe 2. Pada keadaan normal, glukosa yang masuk ke dalam sel beta pankreas melalui *glucose transporter 2* (GLUT2) akan mengalami fosforilasi oleh glukokinase menghasilkan *glucose-6-phosphate*. Ekspresi GLUT2 dan glukokinase diatur oleh PDX-1.^{14, 15} Defisiensi PDX-1 total berhubungan dengan agenesis pankreas sedangkan defisiensi PDX-1 sebagian berhubungan dengan disfungsi sel beta yang parah dan meningkatkan kematian sel beta sehingga menyebabkan terjadinya DM. Pada keadaan DM peningkatan stres oksidatif, akan menurunkan ekspresi PDX-1 disertai penurunan produksi dan sekresi insulin.^{14, 16}

Terdapat beberapa zat gizi yang diketahui mempunyai efek penghambatan terhadap inflamasi, salah satunya vitamin D. Sebuah studi *in vitro* melaporkan bahwa vitamin D

aktif (1,25 dihidroksi vitamin D₃/1,25(OH)₂D₃) dapat menghambat sitokin proinflamasi dan meningkatkan sitokin antiinflamasi serta mengatur aktivitas sel imun. Hal tersebut terjadi melalui penghambatan jalur NFκB. Penelitian menggunakan hewan menunjukkan bahwa 1,25(OH)₂D₃ mengurangi sinyal NFκB. Peran vitamin D dalam memengaruhi inflamasi dan respons imun didukung oleh adanya *vitamin D receptor* (VDR) pada sebagian besar sel imun termasuk monosit, dan makrofag.¹⁷⁻¹⁹

Masih terdapat kontroversi mengenai efek vitamin D terhadap IL-6. Metaanalisis oleh Ali dkk.²⁰ menyimpulkan bahwa vitamin D dapat mengurangi faktor inflamasi dengan menghambat produksi IL-6. Metaanalisis oleh Yanting dkk.²¹ menyimpulkan bahwa suplementasi vitamin D bermanfaat terhadap penurunan kadar hsCRP pada penyandang DM tipe 2 tetapi tidak berpengaruh terhadap kadar IL-6.

Penurunan ekspresi PDX-1 karena paparan hiperglikemia kronik dapat dicegah dengan pemberian antioksidan. Antioksidan sebagai sistem pertahanan berperan penting dalam mengurangi *reactive oxygen species* (ROS) yang berlebihan dan menetralkan toksisitas yang dihasilkan dari peningkatan jumlah ROS. Antioksidan endogen termasuk superoksida dismutase (SOD), katalase, dan glutathione, sedangkan antioksidan eksogen diperoleh dari diet dan suplemen. SOD merupakan enzim antioksidan penting dalam pengaturan stres oksidatif pada DM.²² Vitamin D juga mempunyai efek antioksidan. Penelitian eksperimental menggunakan tikus DM yang diberi vitamin D₃ menunjukkan bahwa vitamin D₃ membantu mengurangi pembentukan ROS dengan menekan ekspresi *nicotinamide adenine dinucleotide phosphate* (NADPH) oksidase.^{23, 24}

Secara klinis penting untuk memilih terapi yang tepat bagi DM tipe 2 agar sel beta tetap dapat berfungsi. Selain itu bila intervensi farmakologis berhasil dalam melawan toksisitas glukosa terhadap sel beta pada tahap awal DM, mungkin fungsi sel beta dapat pulih secara baik. Peran potensial PDX-1 dapat dipertimbangkan untuk studi selanjutnya dan dikembangkan sebagai target baru dalam proses pencegahan dan pengobatan DM.^{14,}

¹⁶ Perbaikan terhadap kadar PDX-1 dapat menormalkan massa sel beta sehingga sel beta dapat berfungsi dengan baik. Vitamin D merupakan salah satu vitamin yang berpotensi untuk memperbaiki sintesis dan sekresi insulin karena sel beta mempunyai reseptor vitamin D, tetapi efek vitamin D dalam menjaga kelangsungan hidup dan fungsi sel beta pankreas belum pernah dilaporkan. Vitamin D sebagai antioksidan kemungkinan dapat

menjaga viabilitas sel beta pankreas dari stres oksidatif, tetapi belum jelas perannya pada penyandang DM. Penelitian *in vivo* mengenai peran antioksidan vitamin D pada manusia dengan DM belum jelas. Masih ada pro dan kontra mengenai efek vitamin D terhadap IL-6, sehingga perlu dilakukan studi eksperimental secara *in vivo* untuk melihat efek vitamin D sebagai antiinflamasi melalui pengukuran kadar IL-6, sebagai antioksidan melalui pengukuran kadar SOD, serta untuk viabilitas sel beta pankreas terhadap stres oksidatif melalui ekspresi PDX-1.

Vitamin D dan DM tipe 2 merupakan hal yang saling berkaitan. Terdapat studi yang melaporkan ada hubungan antara defisiensi vitamin D dengan peningkatan kejadian DM tipe 2. Prevalensi hipovitaminosis D lebih tinggi pada individu DM tipe 2 dibandingkan tanpa DM tipe 2.²⁵ Vitamin D dapat memengaruhi sel beta pankreas baik secara langsung maupun tidak langsung dalam menyintesis dan menyekresi insulin pada DM tipe 2.²⁶

Pemberian vitamin D harus dilaksanakan bila kadar 25-(OH)D < 20 ng/mL. Rekomendasi durasi pengobatan selama 1–3 bulan untuk penyandang dengan defisiensi vitamin D. Dosis pemberian vitamin D disesuaikan dengan umur dan berat badan, 3.000–5.000 IU/hari untuk anak dan remaja umur 1–18 tahun, 7.000–10.000 IU/hari untuk dewasa dan usia tua. Secara umum, untuk sebagian besar penyakit direkomendasikan kadar 25-(OH)D batas bawah 30 ng/mL dan batas atas 50–60 ng/mL. Untuk pemeliharaan dapat diberikan suplementasi vitamin D 3.000–5.000 IU/hari.²⁷ Rekomendasi asupan vitamin D untuk penyandang defisiensi vitamin D usia dewasa 50.000 IU/minggu selama 8 minggu atau 6.000 IU/hari untuk mendapatkan kadar 25-(OH)D > 30 ng/mL, kemudian diikuti dosis pemeliharaan 1.500–2.000 IU/hari.²⁸ Terdapat beberapa penelitian yang mengemukakan bahwa vitamin D merupakan vitamin yang tidak toksik.²⁹⁻³¹

Beberapa penelitian yang menunjukkan bahwa suplementasi vitamin D3 jangka pendek yaitu 8–12 minggu atau 6 bulan dapat memberikan efek positif terhadap peningkatan kadar 25-(OH)D pada penyandang DM tipe 2 dengan defisiensi vitamin D.³²⁻³⁴ Penelitian Ajabshir²⁵ menggunakan suplementasi vitamin D3 4.000 IU dan 6.000 IU selama 3 bulan dan 6 bulan terhadap stres oksidatif. Didapatkan hasil kadar 25-(OH)D meningkat secara bermakna sampai 3 bulan pasca suplementasi dan

cenderung stabil kadarnya setelah 3 bulan sampai 6 bulan pasca suplementasi, penurunan bermakna stres oksidatif serta tidak ada perbedaan bermakna antara vitamin D dosis tinggi dan rendah terhadap penurunan stres oksidatif.

Sekresi insulin lebih baik setelah suplementasi vitamin D yang diberikan dalam tiga tahun pertama sejak terdiagnosis DM tipe 2. Suplementasi vitamin D mungkin tidak akan efektif lagi bila diberikan setelah menderita DM lebih dari 3 tahun karena telah terjadi kelelahan sel beta pankreas.³⁵ Terdapat beberapa studi intervensi vitamin D yang melaporkan terdapatnya kemajuan bermakna sekresi insulin setelah suplementasi vitamin D3 dalam beberapa dosis dan waktu.^{34, 36, 37} Keadaan ini diharapkan dapat memberikan dampak yang baik. Resistensi insulin akan menurun yang ditandai oleh penurunan *homeostatic model assessment for insulin resistance* (HOMA-IR).

Studi intervensi masih sedikit yang menunjukkan kerja vitamin D pada tingkat selular. Tidak adanya sistem sel pada manusia yang mudah didapat untuk mempelajari kerja vitamin D pada tingkat sel, maka monosit dapat menjadi alat yang berguna untuk meneliti karena reseptor vitamin D terdapat di monosit. Monosit juga dapat digunakan untuk mempelajari defek insulin yang menyebabkan terjadinya resistensi insulin pada DM tipe 2 karena monosit memiliki reseptor insulin yang secara cepat merespons perubahan konsentrasi insulin.^{38, 39}

1.2 Perumusan Masalah

1.2.1 Identifikasi Masalah

DM tipe 2 dan defisiensi vitamin D merupakan hal yang berkaitan, yaitu kadar vitamin D yang rendah dapat meningkatkan kejadian DM tipe 2. Vitamin D berpotensi untuk memperbaiki fungsi sel beta pankreas. Sampai saat ini masih sedikit studi intervensi di manusia khususnya di Indonesia yang memperlihatkan apakah suplementasi vitamin D efektif sebagai antiinflamasi dan antioksidan dalam memperbaiki fungsi sel beta pankreas yang ditinjau dari kadar SOD, IL-6, dan resistensi insulin.

Uji klinis tentang manfaat vitamin D pada DM tipe 2 sebagai antiinflamasi dan antioksidan di Indonesia masih sedikit. Ekspresi PDX-1 sudah diketahui berperan dalam viabilitas sel beta pankreas. Bagaimana efek antioksidan vitamin D terhadap ekspresi PDX-1 belum pernah dilakukan oleh peneliti lain.

1.2.2 Pertanyaan Penelitian

Bagaimana pengaruh suplementasi vitamin D 5.000 IU/hari selama 3 dan 6 bulan terhadap fungsi sel beta pankreas pada penyandang DM tipe 2, yang ditinjau dari :

1. Perbaikan ekspresi SOD di monosit?
2. Perbaikan ekspresi IL-6 di monosit?
3. Perbaikan ekspresi PDX-1?
4. Perbaikan sekresi insulin?
5. Perbaikan resistensi insulin dan HbA1c?
6. Apakah suplementasi vitamin D 5.000 IU/hari selama 3 dan 6 bulan dapat menyebabkan hipervitaminosis D ditinjau dari kadar 25-(OH)D dan ekspresi VDR di monosit?

1.3 Hipotesis Penelitian

1. Suplementasi vitamin D 5.000 IU/hari selama 3 dan 6 bulan pada penyandang DM tipe 2 dapat memengaruhi fungsi sel beta pankreas dengan meningkatkan ekspresi SOD.
2. Suplementasi vitamin D 5.000 IU/hari selama 3 dan 6 bulan pada penyandang DM tipe 2 dapat memengaruhi fungsi sel beta pankreas dengan menurunkan ekspresi IL-6.
3. Suplementasi vitamin D 5.000 IU/hari selama 3 dan 6 bulan pada penyandang DM tipe 2 dapat memengaruhi fungsi sel beta pankreas dengan meningkatkan ekspresi PDX-1.
4. Suplementasi vitamin D 5.000 IU/hari selama 3 dan 6 bulan pada penyandang DM tipe 2 dapat memengaruhi fungsi sel beta pankreas dengan meningkatkan sekresi insulin.
5. Suplementasi vitamin D 5.000 IU/hari selama 3 dan 6 bulan pada penyandang DM tipe 2 dapat menurunkan resistensi insulin dan HbA1c.
6. Suplementasi vitamin D 5.000 IU/hari selama 3 dan 6 bulan pada penyandang DM tipe 2 tidak menyebabkan hipervitaminosis D ditinjau dari kadar 25-(OH)D dan ekspresi VDR.

1.4 Tujuan Penelitian

1.4.1 Tujuan Umum

Menilai patomekanisme vitamin D sebagai antioksidan dan antiinflamasi terhadap fungsi sel beta pankreas dan resistensi insulin pada penyandang DM tipe 2.

1.4.2 Tujuan Khusus

1. Menilai pengaruh suplementasi vitamin D 5.000 IU/hari selama 3 dan 6 bulan terhadap fungsi sel beta pankreas yang ditinjau dari ekspresi SOD pada penyandang DM tipe 2.
2. Menilai pengaruh suplementasi vitamin D 5.000 IU/hari selama 3 dan 6 bulan terhadap fungsi sel beta pankreas yang ditinjau dari ekspresi IL-6 pada penyandang DM tipe 2.
3. Menilai pengaruh suplementasi vitamin D 5.000 IU/hari selama 3 dan 6 bulan terhadap fungsi sel beta pankreas yang ditinjau dari ekspresi PDX-1 pada penyandang DM tipe 2.
4. Menilai pengaruh suplementasi vitamin D 5.000 IU/hari selama 3 dan 6 bulan terhadap fungsi sel beta pankreas yang ditinjau dari kadar insulin pada penyandang DM tipe 2.
5. Menilai pengaruh suplementasi vitamin D 5.000 IU/hari selama 3 dan 6 bulan terhadap perbaikan resistensi insulin dan HbA1c pada penyandang DM tipe 2.
6. Mengevaluasi keamanan pemberian suplementasi vitamin D 5.000 IU/hari selama 3 dan 6 bulan dengan pemeriksaan kadar 25-(OH)D dan ekspresi VDR pada penyandang DM tipe 2.

1.5 Manfaat Penelitian

1.5.1 Penyandang DM Tipe 2

Terdapat perbaikan dalam tatalaksana DM tipe 2.

1.5.2 Kebijakan Kesehatan

Diharapkan dapat menjadi dasar dalam membuat panduan nutrisi vitamin D untuk membantu pengendalian kadar glukosa darah pada DM tipe 2.

1.5.3 Akademik

Memberikan sumbangan ilmu pengetahuan dalam bidang nutrisi dan endokrinologi khususnya DM tipe 2 dengan mengetahui manfaat pemberian suplementasi vitamin D terhadap sel beta pankreas.

1.5.4 Penelitian Lebih lanjut

Hasil penelitian ini diharapkan dapat dijadikan dasar untuk penelitian lanjutan suplementasi vitamin D terhadap sel beta pankreas penyandang DM tipe 2.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 DM Tipe 2 di Indonesia

Diabetes Melitus (DM) adalah keadaan meningkatnya kadar glukosa darah didalam tubuh. DM merupakan kelainan metabolik dengan karakteristik hiperglikemia akibat kelainan sekresi dan/atau kerja insulin.¹ DM tipe 2 merupakan kelainan metabolik yang multifaktorial, ditandai adanya hiperglikemia kronik disebabkan resistensi insulin dan disfungsi sel beta pankreas. Pada DM tipe 2 sensitivitas jaringan perifer terhadap insulin berkurang sebesar 70% dan sekresi insulin berkurang sebesar 50%.⁴⁰

Indonesia merupakan negara dengan penyandang DM terbesar keempat di dunia, diperkirakan akan terdapat 21,3 juta penyandang DM di Indonesia pada tahun 2030.^{3, 17} Di Indonesia, DM merupakan penyebab kematian nomor tiga (sebesar 6,7%) setelah stroke dan penyakit jantung berdasarkan survei data Kementerian Kesehatan RI tahun 2014.²

WHO memperkirakan bahwa Indonesia akan menempati peringkat nomor lima di dunia dengan jumlah penyandang DM pada tahun 2025 sebanyak 12,4 juta orang. Peningkatan ini disebabkan oleh jumlah penduduk yang meningkat, penduduk usia lanjut bertambah banyak, gaya hidup yang kebarat-baratan, banyak restoran siap saji, kurang gerak badan karena teknologi canggih, berkurangnya penyakit infeksi, dan pelayanan kesehatan yang meningkat sehingga umur penyandang DM meningkat.⁴¹

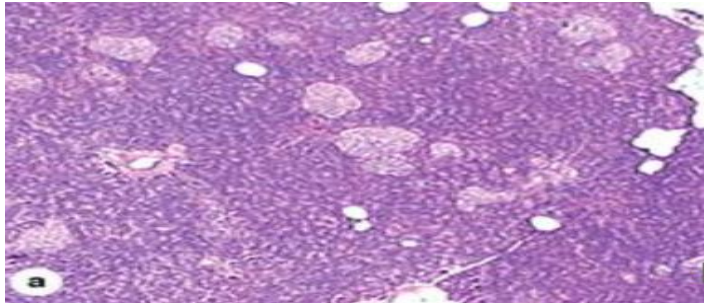
2.2 Resistensi Insulin dan Inflamasi pada DM Tipe 2

2.2.1 Sintesis dan Sekresi Insulin

Proses sintesis dan sekresi insulin terjadi di sel beta pulau Langerhans pankreas. Pulau Langerhans tampak sebagai kelompok bangunan bulat dengan sel-sel terpendam di dalam jaringan eksokrin pankreas (Gambar 2.1.). Pulau Langerhans tersusun dari beberapa jenis sel yang menghasilkan hormon berbeda yaitu sel alfa (α) memproduksi glukagon, sel beta (beta) memproduksi insulin, sel delta (δ) memproduksi somatostatin, dan sel polipeptida pankreas (PP) memproduksi polipeptida pankreatik. Sel ini saling memengaruhi melalui efek parakrin yang

menunjukkan adanya interaksi antar sel dalam mempertahankan fungsi normal tubuh manusia.⁴²

Berat sel beta kira-kira 2% dari berat pankreas. Berat pankreas dewasa normal antara 60–100 g, sehingga berat sel beta mendekati 1–2 g.⁴³



Gambar 2.1. Pulau Langerhans Sel Beta Pankreas⁴²

Keterangan gambar: Pulau Langerhans berupa kelompok sel berwarna pucat

Insulin merupakan hormon peptida yang disekresi oleh sel beta pulau Langerhans pankreas yang berfungsi untuk menjaga kadar glukosa darah dalam keadaan normal dengan cara memfasilitasi pengambilan glukosa selular, mengatur metabolisme karbohidrat, lipid, dan protein.⁴⁴ Konsentrasi insulin dan pH sekitar memengaruhi keadaan insulin. Monomer cenderung membentuk dimer jika konsentrasi insulin bertambah. Adanya zinc dan pH yang menguntungkan (10 mM Zn^{++} , pH 6,0) membuat monomer berkumpul membentuk heksamer. Monomer adalah bentuk aktif insulin sedangkan heksamer adalah bentuk penyimpanan insulin. Insulin mempunyai struktur dipeptida, terdiri dari rantai A dan rantai B yang dihubungkan dengan jembatan disulfida serta mengandung 50 asam amino dengan berat molekul 5,8 kDa. Insulin monomer terdiri dari 21 asam amino rantai A dan 30 asam amino rantai B yang dihubungkan dengan ikatan disulfida. Monomer terdiri dari tiga sambungan disulfida, mencakup dua antara rantai A dan B (A7–B7, A20–B19) dan satu dalam rantai A (A7–A11). Ikatan disulfida antara Cys A7–B7 dan A20–B19 berperan pada stabilitas struktur insulin.^{44, 45}

Insulin disintesis sebagai preproinsulin dan diproses menjadi proinsulin. Proinsulin dikonversi menjadi insulin dan C-peptide, lalu disimpan dalam granul sekretori menunggu untuk dilepaskan bila ada kebutuhan. Sintesis insulin diatur pada tingkat transkripsi dan translasi. Insulin terutama disekresi sebagai respons terhadap

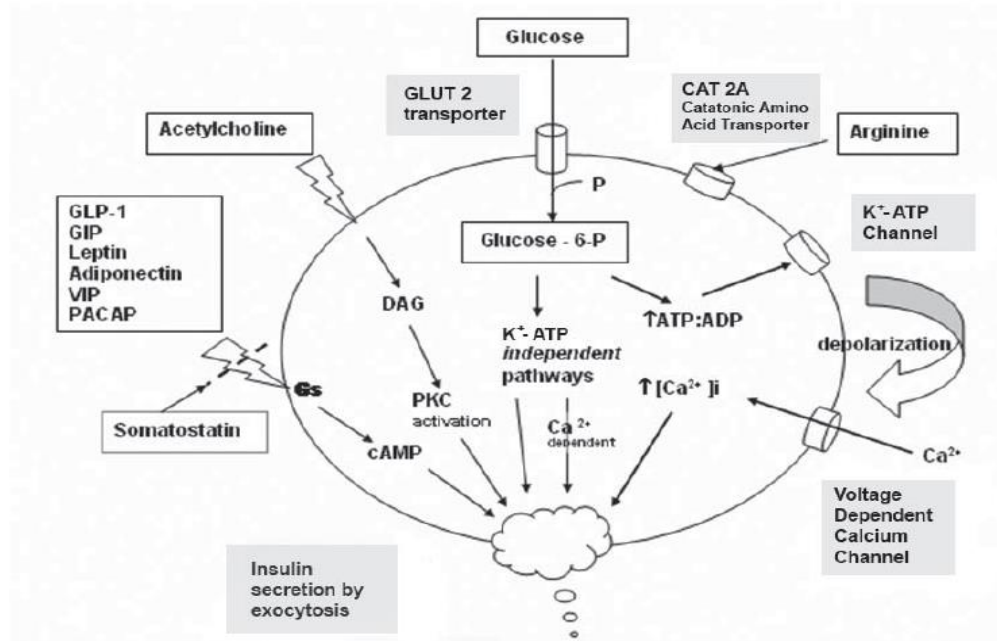
glukosa, nutrien lain seperti asam lemak bebas dan asam amino yang menyebabkan terjadinya peningkatan glukosa. Sel beta pankreas dapat menyintesis 6000 molekul preproinsulin perdetik.^{45, 46}

Insulin yang disekresi terdiri dari 51 asam amino dengan berat molekul 5,8 kDa. Insulin dikode pada lengan pendek kromosom 11. Gen insulin mengkode 110 prekursor asam amino yang dikenal sebagai preproinsulin. Preproinsulin mengandung N-terminal hidrofobik peptida yang berinteraksi dengan *cytosolic ribonucleoprotein signal recognition particles* (SRP). SRP memfasilitasi translokasi preproinsulin melewati membran *rough endoplasmic reticulum* (rER) menuju lumen. Proses ini terjadi melalui saluran penghantar peptida, selanjutnya peptida dari preproinsulin dipecah oleh peptidase menghasilkan proinsulin. Proinsulin ditranspor dari retikulum endoplasmik ke aparatus golgi, selanjutnya proinsulin masuk ke vesikel-vesikel sekretorik imatur dan dipecah menghasilkan insulin dan C peptide. Insulin dan C peptide lalu disimpan di granula sekretorik bersama dengan *islet amyloid polipeptida* (IAPP/amilin).^{44, 45}

Biosintesis insulin dikontrol oleh berbagai faktor. Metabolisme glukosa merupakan hal yang paling penting untuk menstimulasi transkripsi gen insulin dan translasi mRNA. Pada pengaturan translasi insulin, *pancreatic ER kinase* (PERK) memainkan peran penting. Defisiensi PERK menyebabkan defek pada sintesis insulin serta defek pada proliferasi dan diferensiasi sel beta. Pada sekresi insulin, glukosa merupakan stimulus utama walaupun makronutrien dan hormon juga berperan pada respons sekresi insulin. Sel beta pankreas menyekresi 0,25–1,5 unit insulin per jam selama puasa.^{44, 45}

Peningkatan kadar glukosa menginduksi fase pertama sekresi insulin, dengan melepaskan insulin dari granula sekretori di sel beta. Glukosa masuk ke dalam sel beta, selanjutnya glukokinase memfosforilasi glukosa menjadi glukosa 6 fosfat (G6P) yang menghasilkan ATP. Penutupan saluran K^+ -ATP menghasilkan depolarisasi membran dan aktivasi saluran kalsium yang menyebabkan peningkatan konsentrasi kalsium intraselular dan selanjutnya memicu sekresi insulin. Aksi glukosa lainnya melalui jalur K^+ -ATP channel independent Ca^{2+} dependent dan jalur K^+ -ATP channel independent Ca^{2+} independent. Mediator penglepasan insulin

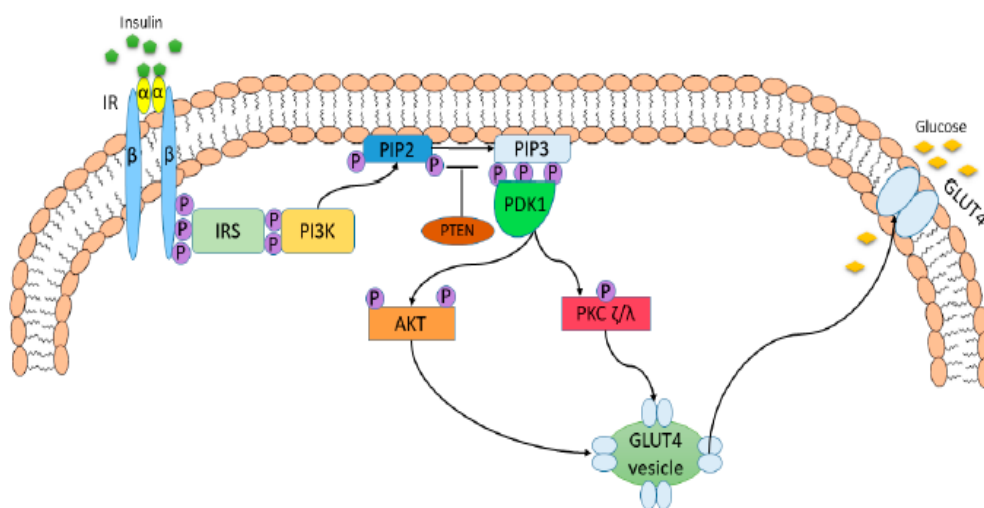
lainnya termasuk fosfolipase dan protein kinase C (oleh asetilkolin), stimulasi aktivitas adenilsiklase, dan aktivasi protein kinase A sel beta. Mekanisme lainnya diaktifkan oleh hormon seperti *vasoactive intestinal peptide* (VIP), *glucagon-like peptide 1* (GLP-1), *glucose-dependent insulintropic polypeptide* (GIP), dan *pituitary adenylate cyclase activating polypeptide* (PACAP). Faktor-faktor tersebut berperan pada fase kedua sekresi insulin yang dimediasi glukosa. Aksi arginin dikaitkan dengan peningkatan permeabilitas kalium tanpa efek pada proses biosintesis proinsulin (Gambar 2.2.).⁴⁴



Gambar 2.2. Jalur Sekresi Insulin⁴⁴

Pensinyalan aksi insulin pada keadaan normal dimulai dari ikatan dengan *insulin receptor* (IR) (Gambar 2.3.). Aktivasi IR berkontribusi terhadap dimerisasi reseptor. Autofosforilasi pada IR mengakibatkan pembentukan sejumlah residu fosfotirosin. Pengerahan dan fosforilasi sejumlah protein termasuk protein *insulin receptor substrate* (IRS) dipenuhi melalui fosfotirosin multipel. IRS yang sudah terfosforilasi diaktifkan dan translokasi *phosphatidylinositol-3-kinase* (PI3K) ke membran plasma. PI3K memfosforilasi *phosphatidylinositol 4,5-biphosphate* (PIP2) menjadi *phosphatidylinositol-3,4,5-biphosphate* (PIP3) yang merupakan kunci molekul sinyal lipid. Kadar PIP3 di bawah kontrol fosfatase dan tensin homolog (PTEN) dan SH2 yang berisi inositol 5'-fosfatase-2 (SHIP2) yang melakukan defosforilasi PIP3. Insulin memerantarai peningkatan kadar PIP3 untuk

menginduksi serin treonin kinase *phosphoinositide-dependent protein kinase-1* (PDK1), menyebabkan terjadinya fosforilasi dan aktivasi protein kinase C (PKC) ζ/λ dan protein kinase B (PKB dikenal juga sebagai AKT). Salah satu dari aksi mereka adalah translokasi *glucose transporter 4* (GLUT 4) ke membran sel sehingga terjadi peningkatan *uptake* glukosa. AKT juga menstimulasi sintesis protein, glikogenesis, dan lipogenesis tetapi menekan lipolisis, glukogenolisis, glukoneogenesis, dan proteolisis.⁴⁷



Gambar 2.3. Mekanisme Pensinyalan Insulin Normal⁴⁷

2.2.2 Mekanisme Pengaruh Resistensi Insulin dan Inflamasi pada Sel Beta Pankreas

Pada DM tipe 2 terjadi resistensi insulin, disfungsi sel beta pankreas, dan inflamasi sistemik dengan resistensi insulin sebagai sentral perkembangan penyakit DM tipe 2. Disfungsi sel beta pankreas ditandai dengan tertundanya sekresi insulin terhadap stimulus. Apoptosis juga menjadi mekanisme utama yang bertanggung jawab terhadap kematian sel beta pankreas, selain itu nekrosis juga terlibat dalam perkembangan dan progresivitas penyakit DM.^{11, 48}

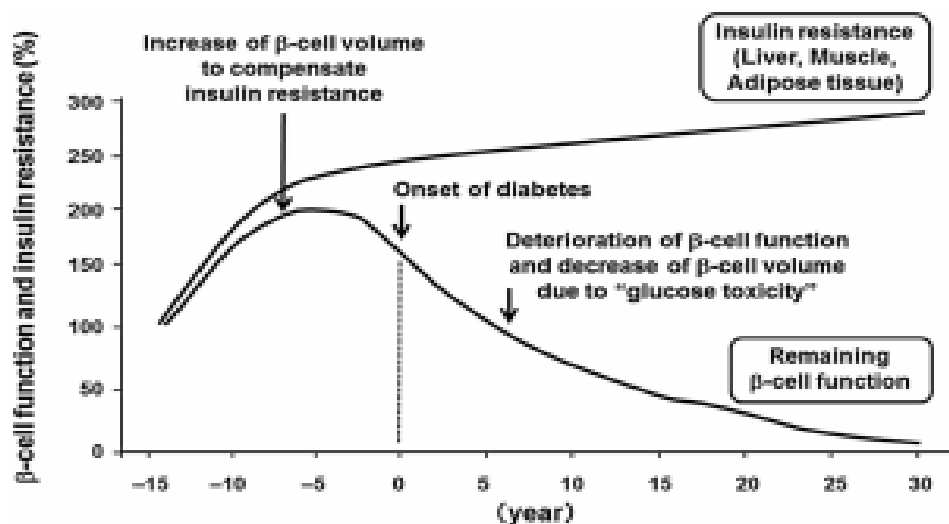
Resistensi insulin adalah penurunan kemampuan insulin dalam menghadapi keadaan kadar glukosa darah yang berbeda. Resistensi insulin merupakan keadaan saat tubuh tidak dapat merespons secara tepat terhadap sirkulasi insulin. Resistensi insulin juga dikatakan sebagai responss biologis terhadap meningkatnya kadar insulin yang dikaitkan dengan terjadinya gangguan sensitivitas jaringan terhadap insulin. Mekanisme terjadinya resistensi insulin pada kebanyakan kasus diyakini

merupakan manifestasi tingkat selular melalui defek pensinyalan insulin *post* reseptor. Secara fisiologis, aksi insulin dipengaruhi oleh interaksi hormon–hormon lain. Hormon pertumbuhan/*growth hormone* disekresi sebagai respons terhadap insulin. Hormon lainnya adalah glukagon, glukokortikoid, dan katekolamin. Hormon-hormon ini menggerakkan proses metabolik pada keadaan puasa. Glukagon menaikkan glikogenolisis, glukoneogenesis, dan ketogenesis. Katekolamin menaikkan lipolisis dan glikogenolisis. Glukokortikoid menaikkan katabolisme otot, glukoneogenesis, dan lipolisis.^{44, 49, 50}

Obesitas dapat menyebabkan peningkatan konsentrasi sitokin proinflamasi di darah dan jaringan perifer. Obesitas menginduksi terjadinya inflamasi melalui makrofag jaringan adiposa sehingga menyebabkan terjadinya resistensi insulin. Stres oksidatif, akumulasi lipid di otot, hati, dan pankreas yang dikenal sebagai lipotoksitas dan glukotoksitas juga berperan terhadap terjadinya resistensi insulin.⁵¹

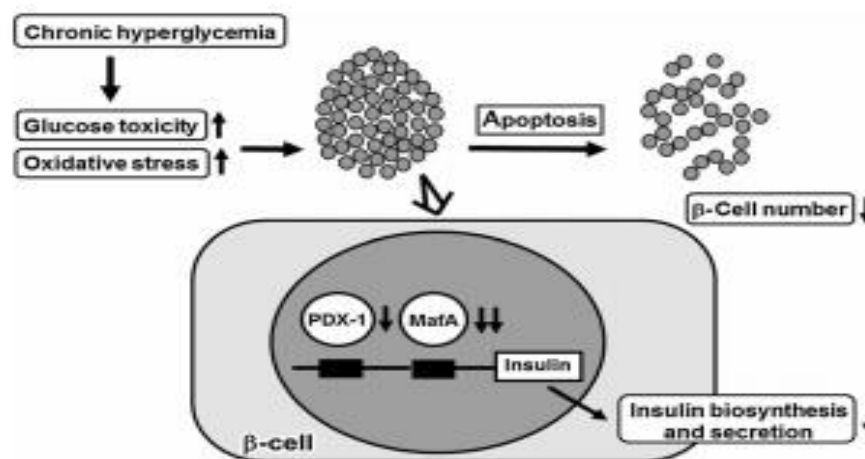
Beberapa faktor yang terkait dengan progresivitas disfungsi sel beta pankreas antara lain adalah glukotoksitas, lipotoksitas, dan inflamasi (Gambar 2.4.). Terdapat beberapa hal yang menyebabkan abnormalitas sekresi insulin, antara lain perubahan volume sel beta pankreas. Volume sel beta pankreas dikontrol oleh mitosis sel beta, ukuran sel beta, apoptosis sel beta, dan neogenesis sel epitel pankreas. Pada orang dewasa normal sekitar 0,5% sel beta mengalami apoptosis, tetapi hal ini dikompensasi oleh adanya mitosis dan neogenesis sehingga terjadi keseimbangan. Terdapat bukti yang mendukung bahwa apoptosis sel beta merupakan faktor penting dalam patogenesis DM tipe 2.^{11, 50}

Glukotoksitas adalah efek membahayakan dari konsentrasi glukosa yang meningkat. Hiperglikemia menginduksi apoptosis sel beta. Keadaan ini tidak dikompensasi dengan peningkatan proliferasi sel. Hiperglikemia berkepanjangan meningkatkan perubahan metabolik progresif dalam mitokondria dan dapat menginduksi pembentukan *reactive oxygen species* (ROS) yang menyebabkan *chronic oxidative stres*. Hiperglikemia kronik juga menyebabkan penurunan jumlah mitokondria dan perubahan morfologi sel beta pankreas. Selain itu juga menginduksi jalur inflamasi (seperti produksi IL-1 β , NF κ B, dan reseptor Fas), sinyal proinflamasi tersebut memicu apoptosis. Glukotoksitas dihubungkan juga dengan penurunan ekspresi protein PDX-1 dan MafA.^{11, 40, 51}



Gambar 2.4. Perjalanan Fungsi Sel Beta pada DM tipe 2¹⁶

Hiperglikemia kronik dapat menyebabkan hilangnya ekspresi gen insulin disertai penurunan ekspresi atau penurunan ikatan aktivitas PDX-1 dan MafA pada DNA yang merupakan dua faktor transkripsi di pankreas. Hal ini dapat mengakibatkan penekanan sintesis dan sekresi insulin (Gambar 2.5.).¹³



Gambar 2.5. Faktor Transkripsi di Sel Beta Pankreas pada DM tipe 2¹⁶

Stres oksidatif merupakan peristiwa awal terjadinya inflamasi karena stres oksidatif dapat menginduksi aktivasi monosit dan makrofag serta mendorong respons inflamasi yang terlibat dalam resistensi insulin. Stres oksidatif dapat menginduksi resistensi insulin antara lain melalui mekanisme penghambatan faktor transkripsi

PDX-1 yang mengakibatkan disfungsi sel beta pankreas serta melalui peningkatan responss inflamasi. Stres oksidatif juga menginduksi jalur NFκB.⁵²

Penyakit yang berhubungan dengan sindrom metabolik ditandai oleh adanya produksi sitokin yang abnormal termasuk peningkatan sirkulasi IL-1beta, peningkatan protein fase akut, dan aktivasi jalur pensinyalan inflamasi. Sitokin proinflamasi dapat menyebabkan resistensi insulin di jaringan adiposa, otot rangka, dan hati dengan menghambat transduksi sinyal insulin. Sumber sitokin pada keadaan resistensi insulin adalah jaringan target insulin itu sendiri, terutama jaringan lemak dan hati tetapi sebagian besar adalah makrofag jaringan yang diaktifkan.⁵³

Pada penyandang DM tipe 2, konsentrasi glukosa darah yang tinggi dapat menginduksi produksi IL-1beta pada sel beta pankreas yang menyebabkan gangguan sekresi insulin, penurunan proliferasi sel beta dan peningkatan apoptosis. IL-1beta memediasi disfungsi sel beta pankreas dan apoptosis yang terlibat dalam patogenesis DM tipe 2. Pada sel beta, IL-1beta dapat mengaktifkan transkripsi NFκB. Aktivasi NFκB yang berlebihan akan menghasilkan ekspresi tidak teratur yang dapat menginduksi sintesis *nitric oxide* (iNOS). iNOS dapat menghasilkan sejumlah besar *nitric oxide* (NO) yang akan menurunkan kadar ekspresi faktor transkripsi yang bertanggung jawab terhadap diferensiasi dan fungsi sel beta pankreas. NO juga dapat mengganggu transfer elektron, menghambat sintesis ATP di mitokondria, dan menginduksi ekspresi gen proinflamasi. Penurunan ATP selular akan menghambat sekresi insulin dan menyebabkan disfungsi sel. Aktivasi sementara NFκB mungkin bermanfaat untuk sekresi insulin pada tahap awal sitokin stres. Aktivitas NFκB basal diperlukan untuk menjaga fungsi sel beta dalam menyekresi insulin secara normal.^{45, 54, 55}

IL-1beta merupakan salah satu sitokin proinflamasi dan proapoptosis yang berperan terhadap gangguan aktivitas sel beta khususnya pada patogenesis DM tipe 2. Efek IL-1beta pada sel beta berhubungan dengan penurunan sekresi dan penurunan jumlah sel beta pankreas. Pada sel beta pankreas, IL-1beta memengaruhi dua jalur metabolik, yaitu mengaktifkan *mitogen activated protein kinase* (MAPK) dan memengaruhi NFκB. Kedua jalur ini penting untuk ekspresi gen yang mengkode iNOS. Di samping itu IL-1beta juga berperan pada proses kematian sel beta. Pada

resistensi insulin didapatkan adanya peningkatan sitokin proinflamasi seperti $\text{TNF}\alpha$, IL-1 β , dan IL-6. Sitokin proinflamasi ini dapat memfosforilasi I κ B, protein serin kinase I dari jalur NF κ B.^{51, 56}

DM juga dihubungkan dengan perubahan profil lipoprotein dan peningkatan konsentrasi asam lemak bebas/*free fatty acids* (FFA). Paparan berkepanjangan kadar tinggi FFA yang berasal dari lipolisis adiposit atau hidrolisis lipoprotein memiliki efek negatif terhadap fungsi sel beta dan menyebabkan akumulasi metabolit asam lemak toksik pada sel beta (lipotoksitas). Ada beberapa laporan dari eksperimen in vitro dan studi pada hewan mengindikasikan bahwa efek lipid yang mengganggu pada sel beta terjadi hanya pada keadaan hiperglikemia. Lipotoksitas juga berhubungan dengan akumulasi lipid pada jaringan non-adiposa yang menyebabkan disfungsi dan kematian sel. Lipotoksitas termasuk suatu stres oksidatif. Stres oksidatif menyebabkan diintensifikannya produksi sitokin proinflamasi dan selanjutnya terjadi proses inflamasi. Dengan berkembangnya proses penyakit, sel makrofag yang ada di dalam atau di sekitar pulau Langerhans pankreas juga menjadi sumber sitokin proinflamasi.^{11, 51}

Gangguan pada metabolisme lipid dapat menyebabkan disfungsi sel beta pankreas pada penyandang DM tipe 2. Palmitat dan oleat dapat menghambat sekresi insulin tetapi hanya palmitat yang dapat mengurangi ekspresi gen insulin. Penghambatan ekspresi gen insulin oleh palmitat mungkin karena pembentukan *ceramide*. Peran *ceramide* adalah sebagai *messenger* jalur sinyal sfingomielin dan pengaturan proses selular seperti diferensiasi, proliferasi, dan apoptosis. Jumlah *ceramide* yang berlebihan dapat menghambat jalur transduksi sinyal insulin melalui penghambatan fosforilasi protein kinase Akt/PKB dan menghambat translokasi Akt/PKB dari sitoplasma ke membran plasma yang kemudian menonaktifkan jalur transduksi sinyal insulin. Penghambatan transkripsi gen insulin oleh palmitat berhubungan dengan penurunan PDX-1 dan MafA.⁴⁰

2.3 Pengaruh NF κ B dan IL-6 pada Sel Beta Pankreas DM Tipe 2

NF κ B merupakan faktor transkripsi molekul proinflamasi. Aktivasinya diinduksi secara luas oleh berbagai agen seperti stres, asap rokok, virus, bakteri, rangsangan inflamasi, sitokin, radikal bebas, karsinogen, promoter tumor, dan endotoksin.

NFκB dihubungkan dengan berbagai macam penyakit pada manusia termasuk asma, aterosklerosis, DM, Alzheimer, dan kanker. NFκB juga berhubungan dalam pengaturan ekspresi sejumlah gen yang terlibat dalam pengendalian berbagai proses selular seperti respons inflamasi, respons imun, pertumbuhan sel, dan kelangsungan hidup sel.^{57, 58}

Nuclear faktor kappa B diidentifikasi oleh David Baltimore dkk.⁵⁷ pada tahun 1986 sebagai faktor di dalam nukleus sel B. Terdapat lima anggota NFκB yang telah diidentifikasi yaitu NFκB1 (p50/p105), NFκB2 (p52/p100), RelA (p65), RelB, dan c-Rel.^{57, 58}

Aktivasi NFκB yang terkontrol penting untuk kelangsungan hidup sel. Aktivasi NFκB yang tidak teratur dihubungkan dengan banyak penyakit seperti kanker, inflamasi, penyakit autoimun. Aktivasi NFκB pada DM tipe 2 merupakan konsekuensi adanya inflamasi kronik ringan, terpapar glukosa, dan asam lemak bebas yang tinggi. Ekspresi NFκB yang tidak tepat dapat menyebabkan peningkatan proses apoptosis dan inflamasi yang berperan pada kerusakan sel dan komplikasi lebih lanjut. Molekul sitokin dan inflamasi berperan dalam patofisiologi DM dan komplikasi mikro-makro vaskular melalui jalur NFκB. Aktivasi NFκB, ROS, dan AGEs memulai terjadinya respons proinflamasi dan disfungsi endotel.^{58, 59}

Pensinyalan NFκB dimediasi melalui homodimer atau heterodimer *Rel1 homology domain* yang mengandung protein RelA/p65, RelB, c-Rel/p50, dan p52. Terdapat dua jalur utama NFκB yaitu jalur kanonikal dan non-kanonikal. Aktivasi jalur kanonikal dimediasi oleh signal proinflamasi seperti sitokin dan patogen. Pengikatan masing-masing ligan memulai aktivasi kompleks *inhibitory κB proteins* (IκB) kinase (IKK) yang berisi IKKα, IKKβ, dan IKKγ, sehingga terjadi fosforilasi IκB serta degradasi yang diikuti translokasi *nuclear* kompleks NFκB (RelA/p65) dan c-Rel/p50. Pensinyalan NFκB dan produksi mediator proinflamasi berperan terhadap resistensi insulin pada DM tipe 2 awal. Aktivasi NFκB pada makrofag jaringan adiposa menyebabkan inflamasi dan menaikkan resistensi insulin sistemik di otot serta jaringan sensitif insulin lainnya.⁵⁹

Pada Gambar 2.6. diperlihatkan bahwa IL-1β memulai pensinyalan NFκB jalur kanonikal melalui aktivasi kompleks IκB kinase (IKKγ/IKKα/IKKβ) dan

degradasi *inhibitory κ B proteins* (I κ B) α yang diikuti translokasi nuklear subunit NF κ B yaitu p50 dan p65. Hal ini diikuti oleh aktivasi jalur NF κ B non-kanonikal yang dimulai oleh akumulasi protein *NF κ B inducing kinase* (NIK) selanjutnya aktivasi kompleks IKK α serta terjadi peningkatan p100 dan translokasi nuklear p52. IL-1 β dan IFN γ mengaktifkan persilangan antara jalur NF κ B kanonikal dan non-kanonikal melalui pengaturan p100. IL-1 β dan IFN γ melalui C/EBP δ mengatur ekspresi E3-ligase *F-box and WD repeat domain containing 7* (FBW7) selanjutnya terjadi degradasi p100 serta menginduksi ekspresi E3-ligase *beta-transducin repeats containing protein* (betaTrCP) yang menyebabkan p100 menghasilkan p52. IL-1 β juga memediasi pengaturan IKK β yang berkontribusi terhadap akumulasi protein NIK dan kompleks IKK α . Pensinyalan NF κ B diaktifkan juga oleh sitokin-sitokin yang menginduksi proinflamasi dan apoptosis, yang berperan pada kematian sel. Diet tinggi lemak juga menginduksi aktivasi jalur non-kanonikal yang menghasilkan p52 dan ekspresi ReiB yang menyebabkan kelemahan sekresi insulin.

IL-6 diidentifikasi pada tahun 1989, merupakan sitokin proinflamasi yang menginduksi perkembangan resistensi insulin dan patogenesis DM tipe 2 melalui pembentukan inflamasi. IL-6 diproduksi oleh jaringan adiposa sebanyak 10–35%. Monosit, sel endotelial, fibroblas, sel imun, dan sel beta pankreas merupakan sumber produksi IL-6.^{7,9}

Keberadaan IL-6 di jaringan merupakan hal normal tetapi produksi yang tidak teratur dan paparan jangka panjang agen toksik terhadap sel dapat menyebabkan terjadinya inflamasi yang selanjutnya dapat menginduksi terjadinya resistensi insulin dan DM tipe 2. IL-6 menyebabkan resistensi insulin dengan cara merusak fosforilasi reseptor insulin dan IRS-1, dengan menginduksi ekspresi SOCS-3 yaitu suatu penghambat potensial pensinyalan insulin. IL-6 berperan dalam inflamasi akut dan kronik, dan berperan sebagai kunci utama dalam konversi dari inflamasi akut ke kronik. IL-6 juga menstimulasi dihasilkannya protein fase akut sebagai respons terhadap adanya inflamasi. Penelitian eksperimental menunjukkan bahwa inflamasi sistemik derajat rendah menjadi faktor penyebab utama sebelum berlanjut menjadi DM tipe 2. IL-6 juga menghambat fungsi normal pensinyalan insulin di otot yang membutuhkan insulin untuk metabolisme glukosa secara aerob. Penelitian eksperimental mengindikasikan bahwa IL-6 menginduksi resistensi

Peningkatan kadar IL-6 di sirkulasi dapat digunakan untuk memprediksi adanya DM tipe 2 karena IL-6 dianggap terlibat dalam perkembangan inflamasi, resistensi insulin, dan disfungsi sel beta. Disregulasi pensinyalan IL-6 terlibat dalam patogenesis beberapa penyakit inflamasi termasuk DM tipe 2. Pada sel target, pertama-tama IL-6 akan berikatan dengan subunit α reseptor IL-6 (IL-6R), kompleks IL-6/IL-6R berhubungan dengan sinyal transmembran yang menginduksi subunit beta reseptor IL-6 (gp130), selanjutnya akan menginduksi dimerisasi gp130 dan permulaan pensinyalan IL-6 intraselular. Transduksi sinyal IL-6 melalui gp130 dapat mengarahkan aktivasi janus kinase/*signal transducer and activator of transcription* (JAK/STAT), *mitogen activated protein kinase* (MAPK), dan jalur *phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase* (PI3K) di dalam sel. Efek biologik IL-6 terjadi melalui jalur klasik. Pada jalur klasik, IL-6 berikatan dengan *membrane bound nonsignaling* IL-6R (mbIL-6R). mbIL-6R hanya ditemukan pada monosit, makrofag, neutrofil, hepatosit, beberapa sel epitel, serta sel alfa dan sel beta pankreas.^{7, 62}

Penelitian Lainampetch dkk.⁶³ menyimpulkan bahwa kadar CRP dan IL-6 berpengaruh pada terjadinya DM tipe 2. Risiko DM tipe 2 meningkat secara bermakna pada subjek dengan kadar IL-6 tinggi di awal dan peningkatan kadar IL-6 selama 1 tahun. Risiko perkembangan DM tipe 2 meningkat secara bermakna pada subjek dengan peningkatan kadar CRP di awal dan hubungan ini lebih kuat lagi bila dikombinasikan antara kadar CRP dan IL-6 yang tinggi di awal. Proses inflamasi kronik derajat rendah dimulai oleh penumpukan lemak di adiposit.

2.4 *Pancreatic Duodenal Homeobox Factor-1*(PDX-1) pada Sel Beta Pankreas DM Tipe 2

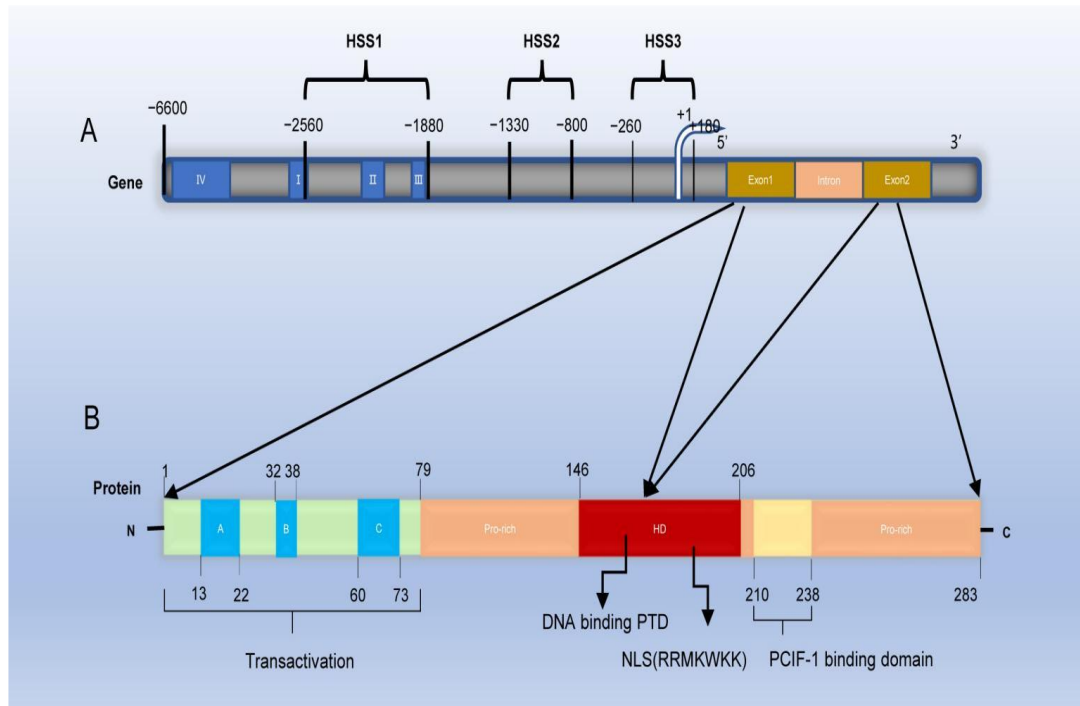
Faktor transkripsi domain *homeobox* PDX-1 penting untuk perkembangan pankreas dan pemeliharaan fungsi sel beta. Pemeliharaan sel beta pankreas pada dewasa dikaitkan dengan keberadaan faktor transkripsi khususnya PDX-1 dan perubahan ekspresi faktor transkripsi tersebut didapatkan pada penyandang DM tipe 2.^{15, 64}

PDX-1 dikenal juga dengan nama *insulin promoter factor 1* (IPF1), *insulin upstream factor 1* (IUF-1), *somatostatin transcription factor 1* (STF-1) dan *islet/duodenum homeobox 1* (IDX-1) adalah anggota keluarga faktor transkripsi

yang mengandung *homeodomain* dan ditemukan pertama kali pada *Xenopus laevis*.⁶⁵ Fungsi PDX-1 sebagai master regulator untuk berbagai peristiwa selular esensial termasuk perkembangan pankreas embrio, pematangan, dan pemeliharaan fungsi sel beta setelah kelahiran. Ekspresi PDX-1 pertama kali dideteksi pada embrio hari ke-8 di daerah dorsal dan ventral yang selanjutnya bergabung dan berkembang menjadi pankreas. Selama perkembangan pankreas embrio, PDX-1 diekspresikan di semua sel. Setelah tahap dewasa ekspresi PDX-1 lebih terbatas pada sel beta. PDX-1 berperan dalam menjaga fungsi sel beta yang matang dan metabolisme glukosa melalui pengaturan ekspresi beberapa gen spesifik sel beta termasuk insulin, glukokinase, *islet amyloid polypeptide*, dan *glucose transporter type 2*. PDX-1 bekerjasama dengan faktor transkripsi lain pada tingkat promoter insulin. Ekspresi PDX-1 bersama kofaktor lainnya dapat memprogram ulang sel untuk berperilaku seperti sel beta dan menghasilkan insulin. Kadar PDX-1 yang kurang berhubungan dengan disfungsi sel beta pada DM tipe 2.^{15, 66, 67}

Diketahui bahwa PDX-1 berperan penting pada perkembangan pankreas, diferensiasi sel beta, menginduksi sel beta pengganti, dan pemeliharaan fungsi sel beta yang matang. Glukosa masuk ke sel beta melalui *glucose transporter 2* (GLUT2) dan mengalami fosforilasi oleh glukokinase menghasilkan glukosa-6-fosfat. Ekspresi GLUT2 dan glukokinase diatur oleh faktor transkripsi PDX-1.^{15, 23} Gen PDX-1 pada manusia berlokasi di kromosom 13q 12.1. Gen PDX-1 manusia panjangnya sekitar 6 Kb dengan dua ekson. Ekson pertama mengkode bagian NH2-terminal dan beberapa homeodomain sedangkan ekson kedua mengkode homeodomain yang tersisa dan domain COOH-terminal. Tiga tempat nuklease hipersensitif yang diidentifikasi pada regio gen PDX-1 endogen adalah HSS1 (-2560– -1880bp), HSS2 (-1330– -800bp), HSS3 (-260– +180bp). HSS1 merupakan regio fungsional yang penting pada aktivasi transkripsi gen PDX-1 dan mencakup empat sub regio yaitu regio I (-2694– -2561bp), regio II (-2139– -1958bp), regio III (-1879– -1799bp) dan regio IV (-6200 dan -5670bp). Protein PDX-1 mengandung 283 asam amino dengan berat molekul 30.77 KDa. Urutan asam amino protein PDX-1 sangat homolog antar spesies yang berbeda. N-terminal mengandung domain transaktivasi. Regio tengah mengandung domain yang bertanggung jawab untuk pengikatan DNA dan interaksi protein-protein. Homeodomain terdiri dari

146–206 asam amino yang mengandung tiga regio helix yaitu helix 1, helix 2 dan helix 3 (H1 H2 H3), *nuclear localization signal* (NLS) adalah bagian dari H3. COOH-terminal terdiri dari 238–283 asam amino (Gambar 2.7.).^{15, 65}



Gambar 2.7. Struktur Gen dan Protein PDX-1⁶⁵

(A) Gen PDX-1, (B) Protein PDX-1.

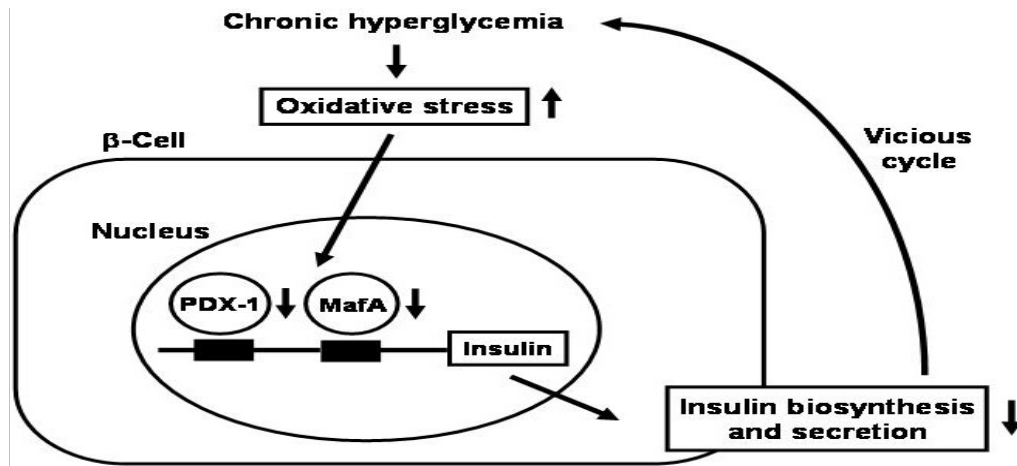
Mutasi pada gen PDX-1 jarang, tetapi bila terjadi mutasi pada PDX-1 dapat memengaruhi transkripsi gen insulin yang mengakibatkan respons lemah dalam sintesis dan sekresi insulin bila terdapat kenaikan kadar glukosa darah. Mutasi pada gen PDX-1 mengakibatkan penurunan aktivitas ikatan PDX-1 terhadap promotor insulin sehingga menyebabkan penurunan transkripsi insulin dalam merespons adanya hiperglikemia.¹⁵

Pada tingkat promotor gen insulin, PDX-1 berinteraksi dengan protein lain seperti B2/NeuroD1, E47/Pan1, p300 *coactivator*, dan *Bridge-1*. Daerah promotor gen insulin yang mengikat PDX-1 penting untuk pengaturan ekspresi gen. *Histone H4 acetylation* memainkan peran penting dalam pengaturan ekspresi gen. Glukosa dan asam lemak mengatur ekspresi PDX-1. Ekspresi PDX-1 secara bermakna berkurang selama glukotoksisitas dan lipotoksisitas.⁶⁵ PDX-1 mengatur ekspresi insulin berdasarkan konsentrasi glukosa rendah dan tinggi. Pada konsentrasi glukosa tinggi, PDX-1 memediasi hiperasetilasi histon H4 dan

meningkatkan ekspresi gen insulin. Pada konsentrasi glukosa rendah, PDX-1 berinteraksi dengan histon diasetilasi HDAC-1 dan HDAC-2 yang menyebabkan diasetilasi histon H4 dan menurunkan ekspresi gen insulin.¹⁵

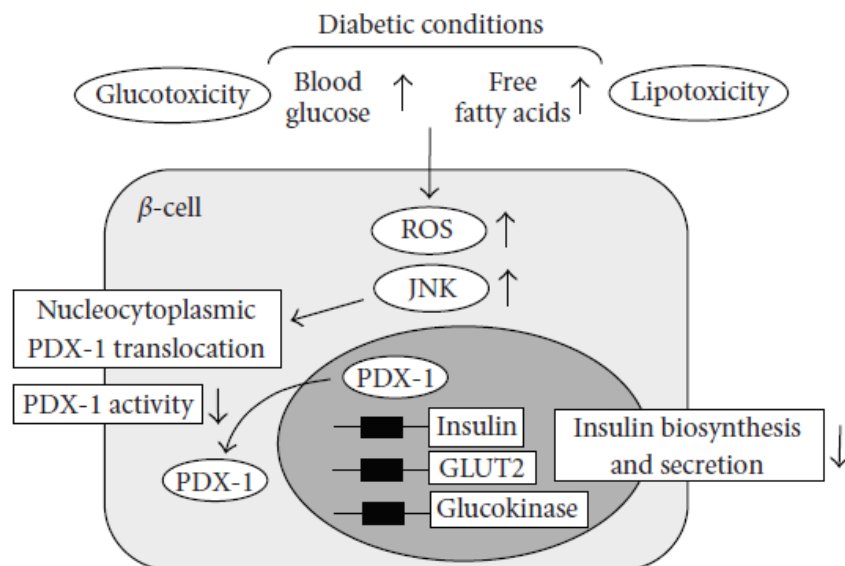
Hiperglikemia kronik dapat menekan sintesis dan sekresi insulin dengan memicu terjadinya stres oksidatif disertai dengan penurunan ekspresi dan atau penurunan aktivitas ikatan antara PDX-1 serta MafA dan DNA (Gambar 2.8.). Penyebab terjadinya stres oksidatif adalah ketidakseimbangan antara produksi metabolit oksigen dengan kemampuan antioksidan dalam menetralkan produk metabolit tersebut. Sel beta pankreas mengekspresikan enzim antioksidan seperti katalase dan glutathion peroksidase dalam kadar rendah, membuat sel beta pankreas sangat rentan terhadap stres oksidatif.^{25, 68}

Pada keadaan DM, stres oksidatif yang meningkat akan menurunkan ekspresi PDX-1 disertai dengan penurunan produksi dan sekresi insulin. Pengurangan ekspresi faktor transkripsi pankreas mungkin terlibat dalam disfungsi sel beta yang diobservasi pada DM tipe 2. Stres oksidatif juga kemungkinan menginduksi translokasi PDX-1 dari nukleus ke sitoplasma yang menyebabkan inaktivasi PDX-1 dan penekanan produksi insulin. Perubahan yang terdapat pada faktor transkripsi ini berperan pada terjadinya penekanan biosintesis dan sekresi insulin. Sel beta pankreas yang dalam jangka waktu lama terpajan oleh hiperglikemia dapat menyebabkan fungsi sel beta memburuk secara bertahap dan volume sel beta akan berkurang.^{16, 69} *Reactive oxygen species* yang dipicu oleh hiperglikemia dan atau hiperlipidemia pada DM akan mengaktivasi jalur c-Jun N-terminal kinase (JNK) pada sel beta pankreas. Contoh ROS seperti anion superoksida (O_2^-), hidrogen peroksida (H_2O_2), radikal hidroksil (OH), dan peroksinitrit ($OONO^-$) mempunyai satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan dan sangat reaktif. ROS ini dapat merusak protein, lipid, dan DNA. Peningkatan produksi ROS dapat mengakibatkan gangguan keseimbangan oksidatif yang dapat mengaktivasi NF κ B. ROS dan aktivasi jalur JNK selanjutnya akan menginduksi translokasi nukleositolasmik PDX-1 yang mengarah pada terjadinya pengurangan aktivitas PDX-1 dan penekanan insulin. Hal ini menunjukkan bahwa ROS dan jalur aktivasi JNK terlibat dalam disfungsi sel beta pankreas pada DM tipe 2 (Gambar 2.9.).^{23, 25}



Gambar 2.8. Pengaruh Hiperglikemia Kronik terhadap PDX-1 dan MafA di Sel Beta Pankreas⁶⁹

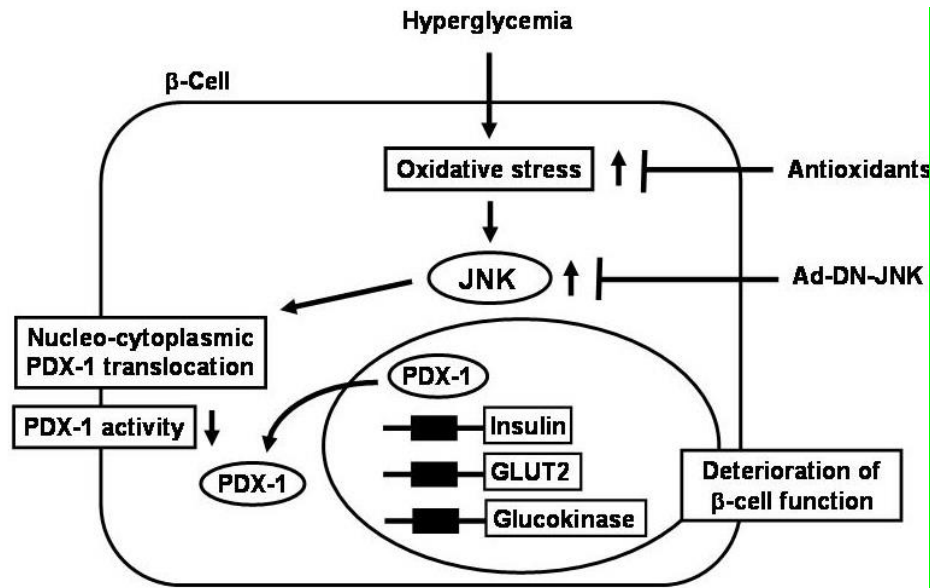
Hiperglikemia kronik memperburuk fungsi sel beta yang dipicu oleh adanya stres oksidatif disertai pengurangan aktivitas PDX-1 dan MafA.



Gambar 2.9. Pengaruh ROS terhadap Disfungsi Sel Beta Pankreas pada DM tipe 2²³

Aktivasi jalur JNK terlibat dalam pengurangan ekspresi gen insulin oleh stres oksidatif. Pengurangan serta penekanan aktivitas ikatan DNA dan PDX-1 yang dimediasi oleh jalur JNK menyebabkan terjadinya pengurangan transkripsi gen insulin. Dapat dikatakan bahwa aktivasi jalur JNK menyebabkan penurunan aktivitas PDX-1 yang mengakibatkan terjadinya penekanan transkripsi gen insulin pada DM tipe 2. Inaktivasi terhadap jalur JNK dapat melindungi sel beta pankreas dari stres oksidatif.^{69,70} *Dominant negative* jenis JNK1 (DN-JNK) dapat melindungi

ekspresi gen insulin dan sekresi insulin dari stres oksidatif. DN-JNK berperan pada inaktivasi jalur JNK. DN-JNK dapat menghambat translokasi PDX-1 yang dipicu oleh stres oksidatif. Selain dengan melakukan inaktivasi jalur JNK, pemberian antioksidan dapat melindungi sel beta pankreas dari toksisitas glukosa dengan cara menekan stres oksidatif (Gambar 2.10.).⁶⁹



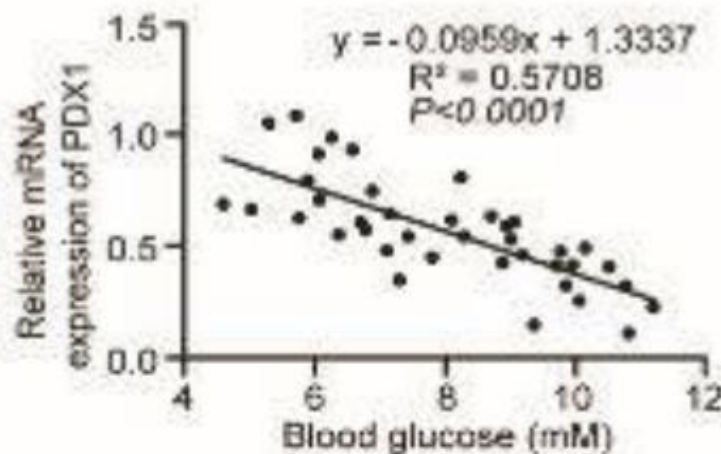
Gambar 2.10. Translokasi Nukleositolasmik PDX-1 dan Aktivasi Jalur JNK yang Menyebabkan Disfungsi Sel Beta Pankreas⁶⁹

Glukotoksitas dan lipotoksitas dapat menyebabkan terjadinya apoptosis dan disfungsi sel beta pankreas melalui stres oksidatif yang diperantarai oleh penurunan ekspresi PDX-1. Hiperglikemia kronik dapat menekan biosintesis dan sekresi insulin melalui peningkatan ROS yang disertai penurunan ekspresi PDX-1. Penurunan ekspresi PDX-1 karena pajanan kronik hiperglikemia dapat dicegah dengan pemberian antioksidan. Ekspresi PDX-1 akan lebih jelas terlihat di inti sel beta setelah pengobatan dengan antioksidan. Efek yang sama diperlihatkan pada pengamatan tikus DM tipe 2. Oleh karena hal tersebut maka kemungkinan pemberian antioksidan dapat melindungi sel beta dari glukotoksitas.^{12, 23}

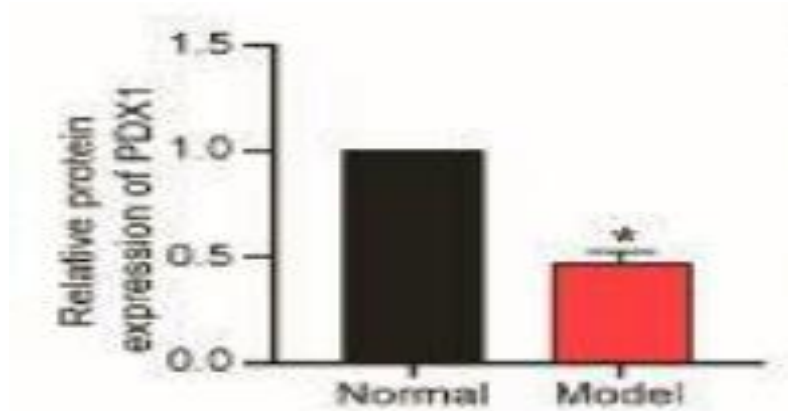
Banyak model hewan yang dibuat menderita DM menunjukkan penurunan ekspresi PDX-1. Penelitian menggunakan tikus oleh Herawati dkk.⁷¹ untuk menentukan efek diet tinggi glukosa terhadap PDX-1, menunjukkan tidak ada perbedaan bermakna ekspresi PDX-1 pada semua kelompok meskipun ada penurunan ekspresi PDX-1 pada kelompok yang diberi diet standar ditambah larutan glukosa 7,4% kalori setiap hari.

Hilangnya ekspresi PDX-1 menyebabkan penurunan jumlah insulin dan GLUT2. Pada tikus dengan defisiensi PDX-1 dapat menjadi DM akibat hilangnya insulin dan GLUT 2. Hal ini menunjukkan bahwa PDX-1 sebagai pengatur sentral fungsi sel beta pankreas yang diperlukan untuk mengatur kadar glukosa darah.⁷²

Terdapat penelitian yang menunjukkan bahwa PDX-1 berhubungan dengan kadar glukosa darah dan DM tipe 2 seperti penelitian Mellisa dkk.⁷³, menunjukkan peningkatan kadar glukosa darah $> 8,5$ mM selama 4 minggu menyebabkan penurunan ekspresi gen insulin di sel beta pankreas serta penurunan faktor transkripsi PDX-1. Penelitian Li Zheng dkk.⁷⁴, menunjukkan PDX-1 membantu viabilitas sel beta dan menekan apoptosis sel beta sehingga PDX-1 penting dalam kelangsungan hidup sel beta pankreas. Ekspresi PDX-1 menunjukkan korelasi negatif yang kuat dengan kadar glukosa darah (Gambar 2.11.), dan tingkat ekspresi protein PDX-1 lebih rendah pada kelompok DM tipe 2 dibanding kelompok kontrol (Gambar 2.12.).



Gambar 2.11. Ekspresi mRNA PDX-1 Kaitannya dengan Glukosa Darah⁷⁴



Gambar 2.12. Ekspresi PDX-1 pada DM tipe 2⁷⁴

Keterangan gambar: Model = DM tipe 2

2.5 Vitamin D dan Pengaruhnya pada Sel Beta Pankreas DM Tipe 2

2.5.1 Metabolisme, Sintesis, dan Struktur Kimia Vitamin D

Vitamin D pertama kali diidentifikasi pada tahun 1923 oleh Goldblatt dan Soames.⁷⁵ Vitamin D merupakan salah satu vitamin yang larut dalam lemak. Dua jenis utama vitamin D adalah D3 (*cholecalciferol*) dan D2 (*ergocalciferol*) yang berbeda dalam struktur rantainya.⁷⁶ Sumber vitamin D yaitu sintesis endogen dan makanan. Vitamin D3 berasal dari sintesis endogen yaitu 7-dehidrokolesterol yang terdapat di kulit pada saat terpajan ultraviolet B (UVB) sinar matahari, sedangkan vitamin D2 didapatkan dari makanan.⁷⁷

Sinar matahari menghasilkan sejumlah besar energi termasuk sinar kosmik, sinar gamma, sinar X, radiasi ultraviolet A dan B (UVA dan UVB) serta radiasi infra merah. Sebagian besar radiasi UVB diserap oleh lapisan ozon. Kira-kira sekitar 0,1% yang mencapai permukaan bumi pada siang hari di daerah khatulistiwa pada musim panas. Radiasi UVB akan menembus lebih dalam ke kulit daripada UVA. Kulit mengandung berbagai macam makromolekul dan protein yang secara efisien menyerap UVB, oleh karena itu hampir semua UVB diserap oleh makromolekul di epidermis.⁷⁸

Sinar UVB matahari mempunyai panjang gelombang 290–315 nm dan mencapai permukaan bumi sekitar 5–10% yang memiliki energi tinggi serta dapat menyebabkan kulit kemerahan. Terdapat beberapa faktor yang dapat memengaruhi pajanan sinar UV pada manusia antara lain ketinggian permukaan dan garis lintang

suatu daerah (daerah khatulistiwa memiliki radiasi UV yang tinggi), musim atau cuaca, aerosol (aerosol debu mineral dan jelaga dapat mengurangi tingkat radiasi UV sampai 20%), jenis kulit, dan indeks ultraviolet.⁷⁷

Minimal erythematous dose (MED) merupakan munculnya tanda eritema ringan di kulit, digunakan sebagai patokan penentuan dosis pajanan UVB yang dibutuhkan kulit. Pajanan sinar UVB satu satuan MED dapat meningkatkan kadar vitamin D yang setara dengan suplementasi vitamin D 10.000–20.000 IU. Pajanan UVB sinar matahari selama 25 menit sebanyak 3 kali seminggu dalam 6 minggu dapat meningkatkan kadar vitamin D. Intensitas UVB rendah pada pukul 7.00, dan meningkat sampai dengan pukul 11.00. Intensitas relatif stabil setelah pukul 11.00 dan setelah pukul 14.00 intensitas akan menurun hingga pukul 16.00 mencapai intensitas yang sama seperti jam 7.00. Pajanan UVB sinar matahari adalah sumber vitamin D yang paling baik dan tidak terdapat intoksikasi vitamin D akibat pajanan sinar matahari yang berlebihan karena previtamin D₃ dan vitamin D₃ yang terbentuk akan mengabsorpsi radiasi UVB, selanjutnya bertransformasi menjadi produk biologik yang tidak aktif.⁷⁷ Penelitian Holick yang dikutip oleh Rimahardika⁷⁹ menunjukkan bahwa waktu pajanan yang dibutuhkan untuk intensitas 1 MED/jam adalah $\frac{1}{4} \times 60$ menit atau sama dengan 15 menit. Metode *reflectance colorimetry* dapat digunakan untuk menentukan warna kulit sebagai pengukuran yang objektif terhadap pajanan sinar matahari ke kulit.²⁵

Penelitian Setiati⁸⁰ pada perempuan usia lanjut yang dipajan sinar UVB matahari mengalami peningkatan konsentrasi 25-(OH)D lebih tinggi daripada yang tidak dipajan. Waktu intensitas pajanan sinar matahari tertinggi antara pukul 11.00 sampai pukul 13.00. Pada rentang waktu tersebut diharapkan sintesis 25-(OH)D berlangsung dengan baik.

Sumber utama vitamin D pada anak dan dewasa adalah vitamin D₃ yang didapat secara sintesis endogen. Sintesis yang ada di kulit juga terbatas oleh adanya berbagai hal seperti pigmentasi kulit, umur, dan luas daerah tubuh yang terpajan oleh sinar matahari.^{76, 81} Sumber makanan vitamin D adalah minyak ikan, ikan salmon, ikan tuna, ikan sarden, ikan mackerel, jamur shitake, kuning telur, dan makanan yang difortifikasi mengandung vitamin D seperti susu, yoghurt, margarin,

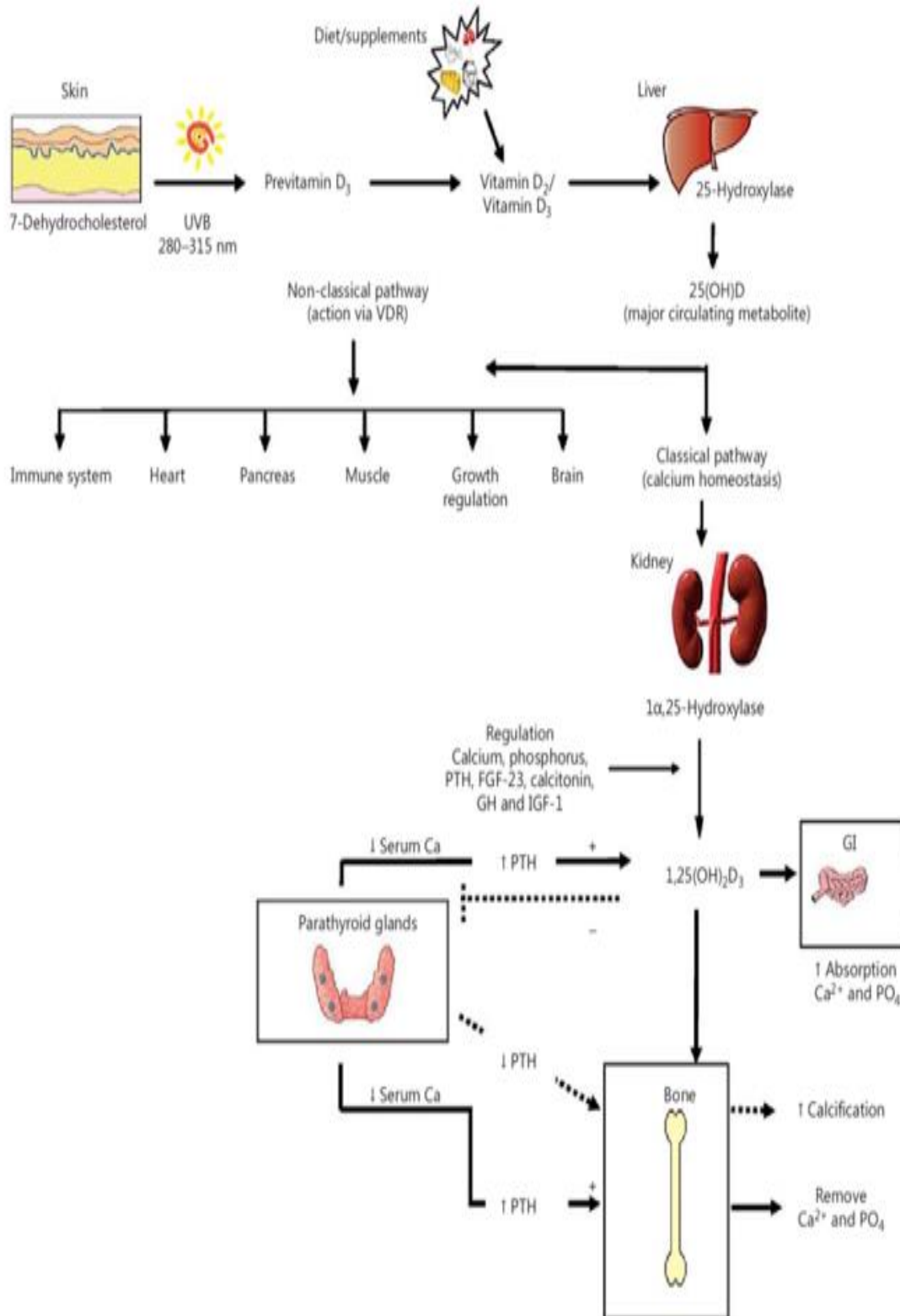
mentega, sereal. Suplemen juga merupakan sumber vitamin D, antara lain multivitamin yang mengandung vitamin D dan suplemen vitamin D3.^{28, 75}

Suplementasi vitamin D3 lebih efektif 87% dalam meningkatkan kadar 25-(OH)D dibandingkan vitamin D2 dan vitamin D3 dikonversi 500% lebih cepat menjadi *calcitriol* yang merupakan metabolit aktif. Vitamin D3 juga merupakan bentuk alami vitamin D yang diproduksi oleh tubuh kita serta lebih kuat dalam meningkatkan dan menjaga kadar vitamin D di sirkulasi. Kerja vitamin D3 kira-kira tiga kali lebih efektif karena afinitasnya tinggi dalam berikatan dengan *Vitamin D binding protein* (DBP) di plasma sehingga dapat bertahan lebih lama di sirkulasi.²²

Vitamin D binding protein (DBP) adalah protein yang bertugas membawa vitamin D. DBP membawa 95–99% 25-(OH)D total, sisanya dibawa oleh albumin dan lipoprotein melalui ikatan nonspesifik yang lemah. Vitamin D dari makanan maupun kulit dimetabolisme di hati menjadi 25-(OH)D oleh enzim 25-hidroksilase dan mempunyai waktu paruh 2–3 minggu. Waktu paruh vitamin D didalam tubuh 2 bulan. Di dalam darah 25-(OH)D terikat dengan DBP membentuk kompleks 25 (OH)D-DBP. Konsentrasi 25-(OH)D yang ada di sirkulasi merupakan indikator status vitamin D.^{75, 76, 82}

Metabolisme vitamin D juga terjadi di ginjal, 25-(OH)D mengalami hidroksilasi pada C-1 membentuk metabolit aktif yaitu 1,25-dihidroksivitamin D (*calcitriol*) dan pada C-24 membentuk metabolit inaktif yaitu 24,25-dihidroksivitamin D (*24-hydroxycalcidiol*). *Calcitriol* terikat pada reseptor inti sel dan reseptor vitamin D yang ada di ginjal, usus kecil, tulang. Di ginjal, *calcitriol* akan menstimulasi reabsorpsi kalsium di tubulus proksimal sedangkan di usus kecil akan menstimulasi absorpsi kalsium dan fosfat. *Calcitriol* dan hormon paratiroid memobilisasi kalsium dari jaringan tulang dengan cara menstimulasi osteoklast.⁷⁶

Penurunan kalsium serum akan menstimulasi peningkatan sekresi hormon paratiroid (PTH). Hormon paratiroid akan meningkatkan sintesis 1,25-(OH)D di ginjal, terjadi stimulasi mobilisasi kalsium dari tulang dan usus serta pengaturan sintesis hormon paratiroid oleh *feedback negative*. Jalur nonklasik vitamin D yang diperantarai oleh vitamin D reseptor (VDR) antara lain ke pankreas (Gambar 2.13.). VDR dan ekspresi enzim 1α -hidroksilase ada di sel beta pankreas.⁸³

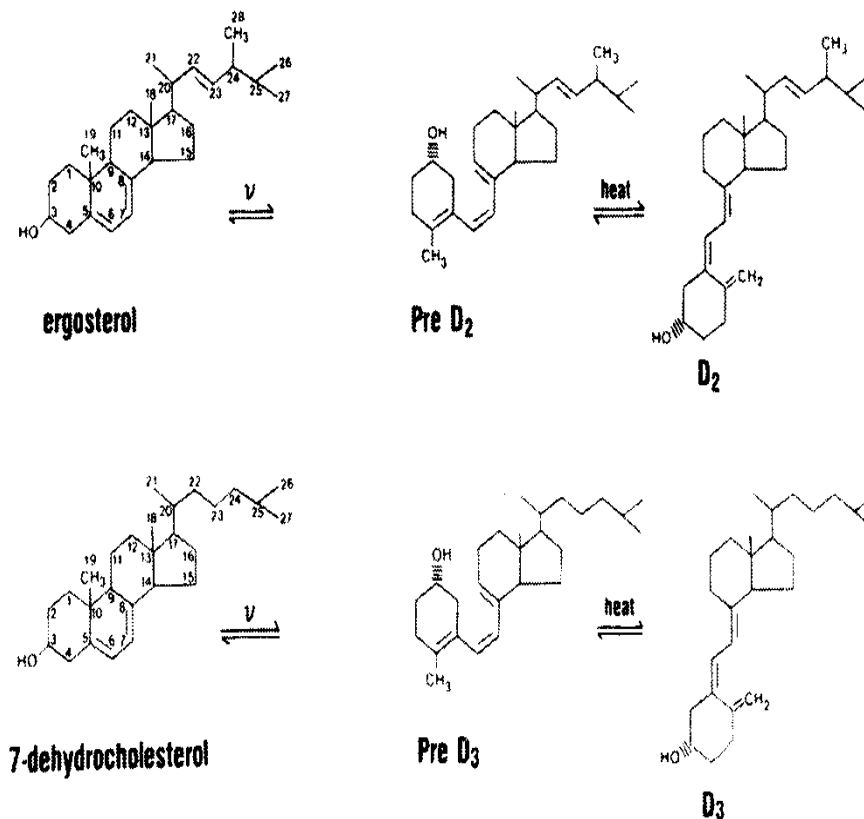


Gambar 2.13. Fotokimia Sintesis Vitamin D dan Jaringan Target Utama⁸³

Terdapat 36 jaringan di tubuh yang dapat berinteraksi dengan vitamin D. Dalam hal ini dapat berinteraksi dengan efek biologik bentuk aktif *calcitriol* yang diperantarai

dengan adanya enzim 1α hidroksilase (CYP27B1) dan reseptor vitamin D yang bekerja di jaringan target. Jaringan target tersebut antara lain adalah ginjal, tulang, kelenjar paratiroid, usus, jantung, plasenta, hati, payudara, sel beta pankreas, kelenjar tiroid, sel sistem imun, otak, kelenjar adrenal, ovarium, dan testis.⁸⁴ Konversi 25-(OH)D menjadi $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}$ ekstrarenal dapat terjadi di sejumlah organ atau jaringan yang mengekspresikan CYP27B1 seperti prostat, usus, sistem imun, dan pankreas.⁸¹

Struktur kimia vitamin D2 dan vitamin D3 diperlihatkan pada Gambar 2.14. Ergosterol dan 7-dehidrokolesterol mengalami fotolisis menjadi pre-D2 dan pre-D3, selanjutnya pre-D2 dan pre-D3 mengalami isomerisasi membentuk vitamin D2 dan vitamin D3.⁸⁵



Gambar 2.14. Struktur Vitamin D2 dan D3⁸⁵

2.5.2 Defisiensi dan Asupan Vitamin D

Beberapa hal yang dapat menyebabkan kadar vitamin D turun di dalam tubuh antara lain adalah kehilangan sinar matahari (pada musim dingin), penggunaan produk proteksi sinar matahari (penggunaan *sunblock* SPF 8 dapat menurunkan produksi

vitamin D sampai 93% dan penurunan produksi bisa meningkat hingga 99% bila menggunakan *sunblock* SPF 15), malabsorpsi, *intake* rendah vitamin D, serta penyakit ginjal dan hati yang menyebabkan aktivasi vitamin D terganggu. Beberapa daerah di Timur Tengah terdapat defisiensi vitamin D dengan prevalensi 50–97%. Hal ini kemungkinan berhubungan dengan pakaian tradisional yang menutupi seluruh tubuh menyebabkan sedikit bagian kulit yang terpajan sinar matahari sehingga mengurangi jumlah vitamin D yang dapat disintesis.^{49, 79, 86}

Dalam hal pembuatan vitamin D antara yang terpajan UVB di seluruh tubuh dengan yang hanya terpajan di bagian muka, lengan, dan tangan terdapat perbedaan yang bermakna. Sekitar 20% dari seluruh tubuh terpajan UVB didapatkan peningkatan kadar vitamin D di darah. Warna kulit juga berperan dalam pembentukan vitamin D alami. Warna kulit makin gelap maka waktu yang dibutuhkan untuk pembentukan vitamin D makin lama dibandingkan dengan warna kulit lebih cerah.⁸⁷

Endocrine society merekomendasikan batasan kadar 25-(OH)D. Apabila kadar 25-(OH)D < 20 ng/mL disebut defisiensi, bila 21–29 ng/mL disebut insufisiensi, dan bila ≥ 30 ng/mL disebut sufisiensi.⁸⁸ Beberapa kepustakaan melaporkan intoksikasi vitamin D terjadi bila kadar 25-(OH)D > 140 ng/mL. Nilai referensi kadar 25-(OH)D di laboratorium dapat dituliskan dalam ng/mL atau nmol/L, untuk mendapatkan satuan nmol/L dari ng/mL dilakukan pengalihan nilai dalam ng/mL dengan 2,5.⁸⁴

Penelitian Setiati⁸⁹ menunjukkan prevalensi defisiensi 25-(OH)D pada wanita lanjut usia Indonesia yang dalam perawatan sebesar 35,1%, hal ini mungkin disebabkan oleh kurang terpajan sinar matahari dan rendahnya asupan vitamin D. Penelitian Hidayat dkk.⁹⁰ menunjukkan prevalensi defisiensi vitamin D sebesar 78,2% pada populasi lanjut usia yang berobat ke poli geriatri RSCM Jakarta.

Penelitian Kanakaraju dkk.⁹¹ di India menunjukkan prevalensi defisiensi vitamin D 95% dengan 58% kadar vitamin D insufisiensi dan 37% dengan defisiensi vitamin D berat. India termasuk negara tropis dan sinar matahari bersinar terus sepanjang tahun. Defisiensi vitamin D yang ditemukan di India adalah masalah epidemik karena jumlah sinar matahari yang cukup, hal ini mungkin berhubungan dengan pigmentasi kulit, terpajan sinar matahari tidak adekuat, aktivitas fisik yang kurang, konsumsi rendah makanan kaya vitamin D, dan ketidakadaan/kurangnya fortifikasi makanan.

Kadar 25-(OH)D serum merupakan indikator yang paling baik karena mencerminkan produk vitamin D3 kulit dan vitamin D (D3 dan D2) makanan, serta mempunyai waktu paruh yang panjang di sirkulasi yaitu 3–4 minggu. 1,25(OH)₂D serum tidak direkomendasikan untuk penilaian status vitamin D, karena waktu paruh yang pendek yaitu 4–6 jam, kadar yang sangat rendah (1000 x lebih rendah dibanding 25-(OH)D). Pada saat defisiensi vitamin D, sekresi hormon paratiroid meningkat sebagai kompensasi yang akan menstimulasi ginjal untuk meningkatkan produksi 1,25(OH)₂D, sehingga bila terjadi defisiensi vitamin D maka kadar 25-(OH)D menurun tetapi kadar 1,25(OH)₂D normal bahkan meningkat.⁷⁶

The European Food Safety Authority (EFSA) mengatakan bahwa kadar 25-(OH)D 50 nmol/L merupakan nilai target semua populasi. Untuk dewasa dan anak usia 1–17 tahun *intake* adekuat vitamin D 15 µg perhari, dengan *intake* sebesar itu pada umumnya populasi dapat mencapai kadar 25-(OH)D mendekati 50 nmol/L.⁴⁹

Terdapat beberapa penelitian yang menunjukkan bahwa vitamin D3 lebih baik dalam meningkatkan 25-(OH)D, antara lain penelitian Tuomainen dkk.⁹² menunjukkan suplementasi oral 40 µg atau 80 µg vitamin D3 setiap hari selama lima bulan meningkatkan kadar 25-(OH)D, metaanalisis oleh Tripkovic⁹³ menunjukkan bahwa suplementasi vitamin D3 mempunyai efek positif dan bermakna dalam meningkatkan kadar 25-(OH)D dibanding vitamin D2.

Pada kadar 25-(OH)D < 20 ng/mL maka pemberian vitamin D harus dilaksanakan. Rekomendasi durasi pengobatan selama 1–3 bulan untuk penyandang dengan defisiensi vitamin D. Dosis pemberian vitamin D disesuaikan dengan umur dan berat badan. Untuk mencapai kadar 25-(OH)D > 30 ng/mL pada penyandang defisiensi vitamin D, diberikan dosis untuk anak usia 1–18 tahun 2.000 IU/hari selama 6 minggu atau 50.000 IU/minggu selama 6 minggu, untuk dewasa diberikan dosis 50.000 IU/minggu selama 8 minggu atau 6.000 IU/hari.²⁸ Secara umum, untuk sebagian besar penyakit direkomendasikan kadar 25-(OH)D batas bawah 30 ng/mL dan batas atas 50–60 ng/mL, untuk pemeliharaan dapat diberikan suplementasi vitamin D 3.000–5.000 IU/hari. Suplementasi vitamin D juga tergantung beberapa faktor antara lain klinis dan lingkungan (paparan sinar matahari, pigmentasi kulit, kultur budaya).²⁷

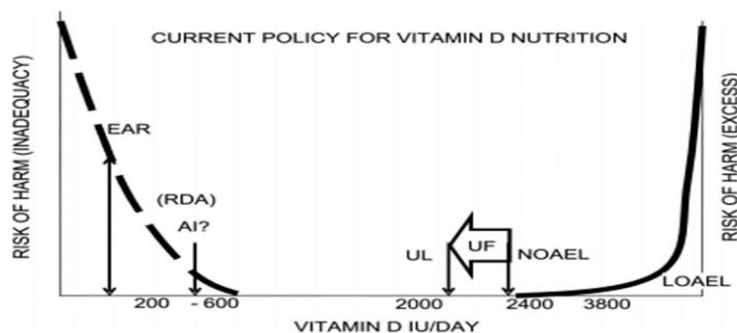
Berdasarkan penelitian Orwoll dkk.⁹⁴ didapatkan hasil responsss pengobatan vitamin D lebih besar pada penyandang DM yang kurang dari 3 tahun dibandingkan yang menderita DM 3–6 tahun atau lebih dari 6 tahun. Sekresi insulin lebih baik setelah suplementasi vitamin D yang diberikan dalam tiga tahun pertama sejak terdiagnosis DM tipe 2. Suplementasi vitamin D mungkin tidak akan efektif lagi bila diberikan setelah menderita DM lebih dari 3 tahun karena telah terjadi kelelahan sel beta pankreas.³⁵

Terdapat beberapa penelitian yang mengemukakan bahwa vitamin D merupakan vitamin yang tidak toksik. Penelitian Dudenkov dkk.²⁹ mendapatkan bahwa individu dengan kadar 25-(OH)D > 50 ng/mL mempunyai kadar kalsium serum normal, hanya didapatkan satu orang hiperkalsemia dengan kadar 25-(OH)D 364 ng/mL. Penelitian Pietras dkk.³⁰ pada dewasa sehat yang mendapatkan 50.000 IU vitamin D2 setiap 2 minggu selama 6 tahun menunjukkan kadar 25-(OH)D 40–60 ng/mL tanpa terdapat toksisitas. Penelitian Ekwaru dkk.³¹ pada dewasa diberikan 20.000 IU vitamin D3 setiap hari menunjukkan kenaikan kadar 25-(OH)D sampai 60 ng/mL tanpa ada toksisitas.

Hiperkalsemia merupakan tanda bahaya dari konsumsi vitamin D yang berlebihan. Sinar matahari pada orang dewasa dapat memberikan vitamin D dalam jumlah yang setara dengan konsumsi oral harian 10.000 IU, maka hal ini secara intuitif dikatakan dosis yang aman. Konsumsi tambahan 40 IU/hari vitamin D3 dapat meningkatkan kadar 25-(OH)D 0,4 ng/mL. Mekanisme keamanan vitamin D ditentukan oleh kapasitas protein pengikat vitamin D yang bersirkulasi. Bukti uji klinis menunjukkan bahwa asupan vitamin D3 10.000 IU/hari dalam jangka waktu lama cenderung tidak menimbulkan risiko efek samping pada hampir semua individu di populasi umum, sehingga hal ini memenuhi kriteria untuk asupan batas atas yang dapat ditoleransi.⁹⁵

Batas formal untuk asupan vitamin D yang aman disebut sebagai *tolerable upper intake level* (UL). *Tolerable upper intake level* didefinisikan sebagai jumlah vitamin D yang dapat dikonsumsi oleh orang dewasa dalam jangka panjang tanpa menimbulkan efek toksik. Prinsip nutrisi yang berkaitan dengan keamanan vitamin D dijelaskan pada Gambar 2.15. *No observed adverse effect* (NOAEL) adalah

asupan nutrisi tertinggi yang tidak memiliki efek toksik. *Tolerable upper intake level* (UL) dihitung dengan cara membagi NOAEL dengan *uncertainty faktor* (UF). *Lowest observed adverse effect level* (LOAEL) adalah dosis jangka panjang minimal yang dapat menimbulkan efek samping. *Estimated average requirement* (EAR) adalah asupan yang cukup untuk rata-rata orang. *Adequate intake* (AI) adalah kecukupan dasar yang esensial untuk semua orang. *Recommended dietary allowance* (RDA) adalah rekomendasi berdasarkan adanya bukti tentang asupan yang menjamin kecukupan hasil yang dicapai. Untuk mengonversi IU menjadi $\mu\text{g}/\text{hari}$ dengan dibagi 40 ($2000 \text{ IU}/\text{hari} = 50 \mu\text{g}/\text{hari}$).⁹⁵



Gambar 2.15. Istilah Gizi Terkait Vitamin D⁹⁵

EAR: *Estimated average requirement*, RDA: *Recommended dietary allowance*, AI: *Adequate intake*, UL: *Tolerable upper intake level*, UF: *uncertainty faktor*, NOAEL: *No observed adverse effect*, LOAEL: *Lowest observed adverse effect level*

Toksisitas vitamin D merupakan hal yang jarang ditemukan pada keadaan medis, biasanya disebabkan oleh asupan vitamin D dosis sangat tinggi dalam kisaran $> 50.000\text{--}100.000 \text{ IU}/\text{hari}$ selama berbulan-bulan hingga bertahun-tahun.⁹⁶

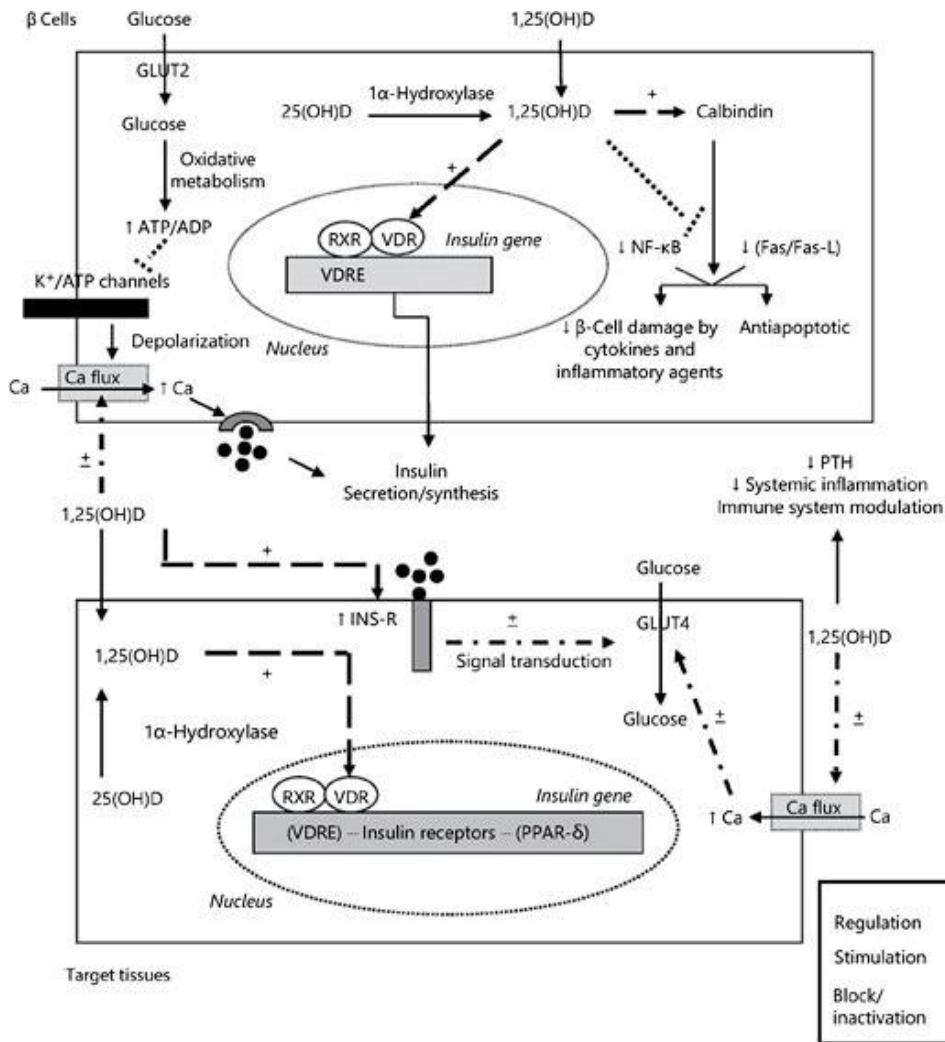
Toksisitas vitamin D terjadi bila kadar 25-(OH)D plasma $> 750 \text{ nmol/L}$. Toksisitas vitamin D ditandai dengan hipervitaminosis D dan hiperkalsemia. Terdapat beberapa hipotesis yang menjelaskan tentang mekanisme toksisitas vitamin D, yaitu: asupan vitamin D meningkatkan konsentrasi $1\alpha 25(\text{OH})_2\text{D}$ plasma yang meningkatkan konsentrasi $1\alpha 25(\text{OH})_2\text{D}$ selular; asupan vitamin D meningkatkan konsentrasi 25-(OH)D plasma yang melebihi kapasitas pengikatan DBP dan 25-(OH)D bebas masuk ke dalam sel; asupan vitamin D meningkatkan konsentrasi 25-(OH)D yang melebihi kapasitas pengikatan DBP dan menyebabkan pelepasan $1\alpha 25(\text{OH})_2\text{D}$ yang masuk ke sel target.^{76, 82}

2.5.3 Efek Vitamin D pada Sel Beta Pankreas DM Tipe 2

Vitamin D berhubungan dengan fungsi fisiologis sel beta pankreas. Reseptor vitamin D dan 1- α hidroksilase dihasilkan di jaringan pankreas. 1,25(OH)₂D menstimulasi sekresi insulin. Defisiensi vitamin D dapat mengganggu ekspresi insulin sehingga defisiensi vitamin D dapat meningkatkan DM tipe 2.⁴⁹

Vitamin D berperan dalam pengaturan homeostasis glukosa dan fungsi sel beta pankreas (Gambar 2.16.). 1,25-(OH)D dapat masuk ke sel beta pankreas. Pada sel beta pankreas terjadi mekanisme: (I). 1,25-(OH)D mengatur transkripsi gen insulin melalui ikatan VDR yang menyebabkan sintesis insulin. (II). Vitamin D juga memperbaiki sekresi insulin dan toleransi glukosa melalui pengaturan tidak langsung kalsium intraselular lewat peningkatan rasio ATP/ADP, terjadi penutupan saluran ATP membran plasma dan depolarisasi sel yang menyebabkan aliran kalsium ke intraselular sehingga terjadi peningkatan kalsium intraselular dan menyebabkan sekresi insulin. (III). Modulasi sekresi sitokin dan jalur apoptotik menyebabkan inaktivasi NF κ B dan penekanan reseptor Fas. (IV) Pengaturan *calbindin* dengan melawan kerja sitokin yang menginduksi apoptosis dan meningkatkan kalsium bebas intraselular. Pada jaringan target juga terjadi beberapa mekanisme, yaitu (I) Vitamin D akan menstimulasi ekspresi reseptor insulin dan memberi sinyal transduksi, menghasilkan translokasi GLUT 4 ke membran dan transport glukosa ke jaringan perifer. (II) Vitamin D menyebabkan aktivasi *peroxisome proliferator activated receptor* (PPAR- δ), merupakan faktor transkripsi yang terlibat dalam pengaturan metabolisme asam lemak. PPAR- δ terlibat dalam pengaturan metabolisme asam lemak di otot skeletal dan jaringan adiposa.^{26, 83}

Vitamin D berpengaruh pada sel beta pankreas melalui jalur langsung dan jalur tidak langsung. Pada jalur langsung, aktivasi vitamin D terjadi di sel beta pankreas oleh enzim 1- α hidroksilase. Vitamin D juga memperantarai aktivasi endopeptidase yang bergantung kalsium. Endopeptidase aktif akan memfasilitasi perubahan proinsulin menjadi insulin. Pada jalur tidak langsung melalui pengaturan *calbindin*.^{26, 75}



Gambar 2.16. Peran Vitamin D pada Pengaturan Homeostasis Glukosa dan Fungsi Sel Beta Pankreas⁸³

Terdapat keterkaitan antara vitamin D dan DM tipe 2 yaitu kadar 25-(OH)D rendah didapatkan pada DM tipe 2 seperti penelitian Azlin di Medan⁹⁷ menunjukkan terdapat perbedaan kadar vitamin D pada DM tipe 2 terkontrol dan tidak terkontrol walaupun pada uji statistik tidak terdapat perbedaan bermakna. Kadar vitamin D pada DM tipe 2 terkontrol adalah $22,94 \pm 6,18$ ng/mL, sedangkan kadar vitamin D pada yang tidak terkontrol adalah $20,99 \pm 6,47$ ng/mL. Penelitian Sanda dkk.⁹⁸ terhadap penyandang DM tipe 2 di Makasar didapatkan rata-rata kadar vitamin D 26,85 ng/mL. Penelitian Athanassiou dkk.⁹⁹ didapatkan kadar 25-(OH)D lebih rendah pada kelompok DM tipe 2 dibandingkan kelompok kontrol.

2.5.4 Pengaruh Vitamin D terhadap Homeostasis Glukosa, Inflamasi, dan Stres Oksidatif pada DM Tipe 2

2.5.4.1 Efek Vitamin D terhadap Homeostasis Glukosa

Terdapat beberapa penelitian yang menunjukkan bahwa suplementasi vitamin D3 jangka pendek dapat memberikan efek positif terhadap peningkatan kadar 25-(OH)D pada penyandang DM tipe 2 dengan defisiensi vitamin D. Penelitian Al-Sofiani dkk.³² menggunakan suplementasi vitamin D3 5.000 IU/hari selama 12 minggu, penelitian Fagundes dkk.³³ menggunakan suplementasi vitamin D3 4.000 IU/hari selama 8 minggu, penelitian Von Hurst dkk.³⁴ menggunakan suplementasi vitamin D3 4.000 IU/hari selama 6 bulan

Terdapat juga penelitian yang menunjukkan vitamin D kurang memberikan efek terhadap sensitivitas insulin. Penelitian Harris dkk.¹⁰⁰ menunjukkan penurunan sensitivitas insulin dan peningkatan sekresi insulin pada subjek obese yang diberikan suplementasi vitamin D3 4.000 IU/hari. Penelitian Davidson dkk.¹⁰¹ menunjukkan tidak ada efek terhadap sekresi insulin dan sensitivitas insulin pada subjek yang diberikan suplementasi vitamin D3 88,865 IU selama seminggu.

Penelitian Jiffri dkk.¹⁰² pada penyandang DM tipe 2 yang menderita DM selama $12,47 \pm 3,16$ tahun serta mendapat obat antidiabetes menunjukkan sensitivitas insulin tinggi, HOMA-IR dan HbA1c rendah pada kelompok dengan kadar 25-(OH)D > 30 ng/mL. Studi metaanalisis oleh Mirhosseini dkk.¹⁰³ tentang pengaruh peningkatan 25-(OH)D terhadap kontrol glikemik pada penyandang DM tipe 2, mendapatkan hasil bahwa suplementasi vitamin D dengan dosis minimum 4.000 IU/hari dapat mengurangi kadar glukosa darah puasa, kadar HbA1c, HOMA-IR, dan meningkatkan sensitivitas insulin pada DM tipe 2.

Dalam *systematic review* oleh Wu¹⁰⁴ dikatakan bahwa suplementasi vitamin D dapat menurunkan kadar HbA1c dan kadar glukosa darah puasa pada DM tipe 2 yang mengalami defisiensi vitamin D. Namun suplementasi vitamin D tidak akan berpengaruh terhadap kadar HbA1c dan kadar glukosa darah pada DM tipe 2 dengan kadar vitamin D yang cukup. Efek suplementasi vitamin D bervariasi tergantung kadar vitamin D pada awal dan indeks masa tubuh.

Terdapat penelitian yang menunjukkan intervensi vitamin D jangka pendek dapat memberikan efek positif terhadap kontrol glikemik. Penelitian Eftekhari dkk.¹⁰⁵, mendapatkan hasil bahwa suplementasi vitamin D meningkatkan sekresi insulin tetapi tidak berpengaruh pada resistensi insulin terhadap subjek DM tipe 2 yang mendapat suplementasi dua kapsul *calcitriol* per hari selama 12 minggu. Hasil *systematic review* oleh Haroon dkk.¹⁰⁶ terhadap berbagai penelitian RCT dan longitudinal dengan jangka waktu pendek ≤ 3 bulan mengenai suplementasi vitamin D menunjukkan hasil positif pada kontrol glikemik dan resistensi insulin serta disfungsi sel beta dibandingkan penelitian jangka panjang > 3 bulan. Perbedaan ini kemungkinan disebabkan dosis vitamin D yang digunakan tidak adekuat, adanya perbedaan suplementasi antara vitamin D2 dan D3 serta faktor genetik yang mungkin juga berperan pada metabolisme vitamin D.

Terdapat penelitian yang menunjukkan vitamin D dapat memperbaiki status glikemik bila diberikan bersama dengan obat antidiabetes oral. Penelitian Sandhu dkk.¹⁰⁷ menggunakan suplementasi vitamin D3 60.000 IU per minggu selama 12 minggu, mendapatkan bahwa vitamin D memperbaiki status glikemik serta vitamin D dapat sebagai terapi tambahan pada DM tipe 2 tidak terkontrol yang menggunakan obat antidiabetik oral dan mempunyai defisiensi vitamin D.

2.5.4.2 Efek Vitamin D terhadap Inflamasi

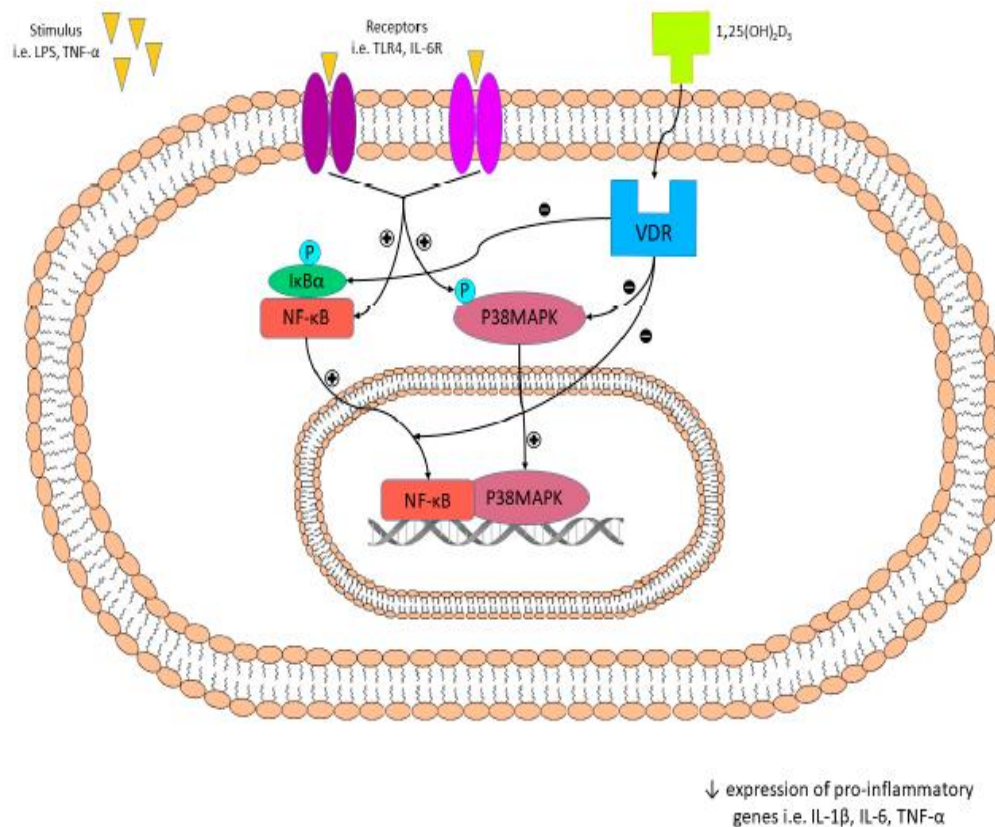
Vitamin D juga mempunyai sifat antiinflamasi yang dapat menekan produksi dan pelepasan beberapa sitokin proinflamasi serta meningkatkan produksi sitokin antiinflamasi.²² Penelitian El Hajj dkk.¹⁰⁸ menunjukkan adanya penurunan penanda inflamasi pada kelompok yang diberikan suplementasi *cholecalciferol* 30.000 IU/minggu selama enam bulan. Penelitian untuk melihat efek suplementasi vitamin D terhadap penanda inflamasi dan NF κ B di *peripheral blood mononuclear cells* (PBMC) oleh Mousa dkk.¹⁸ terhadap 65 penyandang obese dengan defisiensi vitamin D, subjek diberikan 100.000 IU bolus diikuti 4.000 IU harian *cholecalciferol* atau plasebo selama 16 minggu. Didapatkan hasil kadar 25-(OH)D meningkat pada pemberian suplementasi vitamin D dibanding plasebo ($p < 0,001$), tidak terdapat perbedaan untuk penanda inflamasi dan aktivitas NF κ B pada kelompok suplementasi maupun plasebo ($p > 0,05$). Disimpulkan bahwa

suplementasi vitamin D tidak menunjukkan efek terhadap penanda inflamasi atau aktivitas NF κ B in vivo.

Penelitian Nugroho dkk.¹⁷ terhadap tikus DM tipe 2 untuk mengetahui efek vitamin D yang terdapat pada tepung susu sapi terhadap kadar NF κ B, mendapatkan hasil bahwa tidak terdapat perbedaan kadar NF κ B pada kelompok perlakuan dan kontrol. Disimpulkan bahwa penurunan kadar NF κ B setelah perlakuan pada keadaan DM tidak terbukti sehingga pemberian susu sapi yang mengandung vitamin D tidak dapat dipakai untuk mencegah kerusakan sel beta pankreas melalui penurunan kadar NF κ B.

Wang dkk.¹⁰⁹ meneliti penyandang DM tipe 2 dan orang sehat untuk melihat hubungan kadar 25-(OH)D dan resistensi insulin. Didapatkan hasil kadar 25-(OH)D pada DM tipe 2 lebih rendah bermakna dibanding orang sehat dan kadar 25-(OH)D yang meningkat akan menurunkan HOMA-IR. Analisis korelasi menunjukkan kadar 25-(OH)D pada DM tipe 2 mempunyai korelasi negatif dengan HOMA-IR ($r = -0,750$, $p < 0,001$), IL-1 β ($r = -0,661$, $p < 0,001$), TNF α ($r = -0,705$, $p < 0,001$). Disimpulkan bahwa defisiensi vitamin D dapat meningkatkan respons inflamasi dan meningkatkan resistensi insulin melalui jalur NF κ B pada DM tipe 2.

Metaanalisis oleh Ali dkk.²⁰ menunjukkan bahwa suplementasi vitamin D menghasilkan penurunan kadar hsCRP yang bermakna pada DM. Beberapa studi menunjukkan bahwa suplementasi vitamin D dapat mengurangi faktor inflamasi dengan menghambat produksi IL-6. Selain itu vitamin D juga dapat menghambat aktivitas NF κ B dengan meningkatkan ekspresi I κ B yang pada akhirnya akan mengakibatkan penurunan produksi faktor proinflamasi. Metaanalisis oleh Yanting dkk.²¹, menunjukkan bahwa suplementasi vitamin D bermanfaat terhadap penurunan kadar hsCRP pada DM tipe 2 tetapi tidak berpengaruh bermakna terhadap kadar IL-6 dan TNF α pada DM tipe 2, meskipun ada studi in vitro yang menunjukkan bahwa vitamin D menghambat produksi IL-6. Vitamin D merupakan modulator negatif potensial untuk sitokin proinflamasi dengan cara menurunkan IL-6, TNF α , dan CRP. *Calcitriol* juga menekan aktivasi jalur pensinyalan NF κ B, menghalangi transkripsi gen faktor proinflamasi (Gambar 2.17.).⁴⁷



Gambar 2.17. Efek 1,25 (OH)₂D₃ pada Inflamasi⁴⁷

+ : aktivasi – : inhibisi. 1,25 (OH)₂D₃ menghambat inflamasi melalui penekanan fosforilasi IκBα dan translokasi P38MAPK atau NFκB kedalam nukleus, menyebabkan penurunan ekspresi gen pro inflamasi.

2.5.4.3 Efek Vitamin D terhadap Stres Oksidatif

Penyakit DM sering dikaitkan dengan penurunan kapasitas antioksidan dan peningkatan produksi ROS melalui peningkatan lipid, hasil oksidasi DNA dan protein serta molekul terglifikasi seperti *advanced glycation end product* (AGEs).²⁴ Pada hewan DM, ROS diinduksi di pankreas terutama pada keadaan hiperglikemia persisten dan induksi ROS dapat menekan aktivitas PDX-1. Stres oksidatif dapat menginduksi translokasi PDX-1 nukleus-sitoplasmik yang berperan pada penekanan ekspresi gen insulin dan biosintesis insulin. Pengobatan dengan antioksidan pada hewan DM dapat memperbaiki sintesis insulin dan meningkatkan ekspresi PDX-1 sel beta pankreas. Penekanan stres oksidatif oleh pemberian antioksidan akan mencegah perkembangan disfungsi sel beta pankreas pada DM tipe 2.¹¹⁰

Antioksidan sebagai sistem pertahanan berperan penting dalam mengurangi *reactive species* yang berlebihan dan menetralkan toksisitas yang dihasilkan dari peningkatan jumlah *reactive species*. Sistem antioksidan secara umum dibagi menjadi dua yaitu antioksidan endogen dan eksogen. Antioksidan endogen enzimatik termasuk superoksida dismutase (SOD), katalase, dan glutathion sedangkan antioksidan eksogen dapat diperoleh dari diet dan suplemen. SOD merupakan enzim antioksidan penting dalam pengaturan stres oksidatif pada DM. SOD adalah enzim antioksidan yang mengatalisis pelepasan anion superoksida menjadi hidrogen peroksida dan molekul oksigen. SOD berperan dalam memberikan perlindungan penting terhadap kerusakan selular dan histologis yang disebabkan oleh ROS.^{22, 111}

Vitamin D dihubungkan dengan pencegahan DM tipe 2 melalui pengaturan stres oksidatif dengan cara menginduksi ekspresi molekul yang terlibat dalam antioksidan seperti glutathion peroksidase dan SOD, dan melalui cara penekanan terhadap ekspresi NADPH oksidase. Penelitian eksperimental menggunakan tikus DM yang diberikan vitamin D3 menunjukkan bahwa vitamin D3 membantu mengurangi pembentukan ROS dengan menekan ekspresi gen NADPH oksidase. Vitamin D3 dapat menurunkan peroksidasi lipid dan meningkatkan aktivitas SOD pada tikus. Pada penelitian *in vitro* didapatkan bahwa vitamin D3 mempunyai efek antioksidan lebih banyak daripada vitamin E.²⁴ Vitamin D dapat melindungi sel beta dari kerusakan yang disebabkan oleh ROS sehingga vitamin D dapat mencegah apoptosis dan disfungsi sel beta pankreas.²⁵

Penurunan kadar vitamin D di sirkulasi dapat meningkatkan stres oksidatif pada DM. Antioksidan bekerja sebagai pertahanan paling pertama melawan *reactive species* untuk mengurangi stres oksidatif dan selanjutnya mengurangi risiko cedera selular dan histologis. Perubahan metabolik pada DM mengakibatkan penurunan aktivitas dan kadar SOD di organ, jaringan, dan darah. Kadar SOD yang kurang dapat meningkatkan produksi *reactive species*, yang dapat mengarah pada peningkatan stres oksidatif vaskular dan peningkatan risiko penyakit pembuluh darah otak pada DM. Ekspresi SOD yang berlebih atau suplementasi antioksidan ditargetkan dapat mengatasi stres oksidatif, mengurangi ROS, dan meningkatkan enzim antioksidan. Hal ini telah terbukti dapat mencegah DM.^{22, 111}

Dalam beberapa studi yang melibatkan manusia dan hewan dengan DM atau defisiensi vitamin D, suplementasi vitamin D menunjukkan penurunan kadar stres oksidatif. Vitamin D dapat mengurangi stres oksidatif dengan mengatur enzim antioksidan dan menekan peningkatan peroksidasi lipid.^{22, 112} Terdapat penelitian yang menunjukkan efek positif vitamin D terhadap stres oksidatif. Penelitian Ajabshir²⁵ menggunakan suplementasi vitamin D3 4.000 IU dan 6.000 IU selama 3 bulan dan 6 bulan, didapatkan hasil kadar 25-(OH)D meningkat secara bermakna sampai 3 bulan pasca suplementasi dan cenderung stabil kadarnya setelah 3 bulan sampai 6 bulan pasca suplementasi. Didapatkan juga penurunan bermakna stres oksidatif antara bulan 3–6 pasca suplementasi vitamin D3 4.000 IU/hari dan 6.000 IU/hari pada kelompok DM tipe 2 dengan defisiensi dan insufisiensi vitamin D serta tidak ada perbedaan bermakna antara vitamin D dosis rendah dan tinggi terhadap penurunan stres oksidatif. Penelitian Fagundes dkk.³³ menunjukkan peningkatan bermakna kadar 25-(OH)D serta penurunan parameter stres oksidatif pada penyandang DM tipe 2 yang diberikan suplementasi vitamin D3 4.000 IU/hari selama 8 minggu. Penelitian Anandabaskar dkk.¹¹³ menunjukkan suplementasi vitamin D3 60.000 IU/minggu selama 8 minggu dapat memperbaiki stres oksidatif pada penyandang DM tipe 2 dengan defisiensi vitamin D. Disimpulkan bahwa penurunan kadar stres oksidatif terjadi setelah 25-(OH)D mencapai kadar yang cukup dan terdapat efek positif suplementasi vitamin D3 terhadap stres oksidatif pada keadaan DM. *Systematic review* oleh Alamir dkk.¹¹⁴ menyimpulkan bahwa suplementasi vitamin D dapat memperbaiki stres oksidatif pada berbagai kondisi patologis.

Pada DM tipe 2 tahap awal, antioksidan dapat melawan efek peningkatan radikal bebas karena aktivitas enzim antioksidan meningkat sebagai respons kompensasi terhadap stres oksidatif, tetapi pada DM tahap lanjut keseimbangan antara peningkatan radikal bebas dan antioksidan terganggu akibat menurunnya aktivitas antioksidan.¹¹⁵ Penelitian Safarpour dkk.¹¹⁶ menunjukkan bahwa suplementasi vitamin D3 50.000 IU selama 8 minggu dapat meningkatkan kadar SOD pada penyandang DM tipe 2 dengan defisiensi vitamin D.

2.6 Hubungan *Peripheral Blood Mononuclear Cell* (PBMC) dengan Insulin dan Reseptor Vitamin D (VDR) pada DM Tipe 2

Peripheral blood mononuclear cells (PBMC) berperan pada perkembangan dan progresivitas penyakit kronik yang terkait obesitas seperti DM tipe 2 dan PBMC berpotensi untuk digunakan sebagai penanda status kesehatan.¹¹⁷ PBMC terdiri dari monosit, limfosit (sel B dan T), dan sel lain yang berasal dari limfoid. Terdapat tiga sub tipe monosit yang ada di sirkulasi berdasarkan ekspresi penanda permukaan CD14 dan CD16. Populasi monosit utama adalah monosit klasik yang jumlahnya sekitar 80–90%, mengekspresikan CD14 tinggi dan tidak memiliki ekspresi CD16 serta bersifat fagositik. Populasi monosit yang berjumlah 10–20% diklasifikasikan menjadi dua sub tipe yaitu sub tipe monosit nonklasikal yang mengekspresikan CD14 rendah dan CD16 tinggi serta sub tipe *intermediate monocyte* yang mengekspresikan CD14 dan CD16 tinggi.¹¹⁸ Monosit yang teraktivasi dapat menyekresi sitokin proinflamasi seperti TNF- α dan IL-6, serta dapat mengaktivasi leukosit lainnya dan memperburuk inflamasi. Beberapa penelitian melaporkan bahwa terdapat peningkatan aktivasi monosit pada penyandang DM tipe 2 dibandingkan orang sehat.¹¹⁹

Penelitian Dimitrias dkk.³⁸ menyimpulkan bahwa monosit merupakan sistem model yang valid untuk mempelajari efek insulin pada transpor glukosa dan monosit juga dapat digunakan sebagai alat untuk mempelajari aksi insulin pada tingkat selular. Tidak adanya sistem sel pada manusia yang mudah didapatkan untuk mempelajari aksi insulin pada tingkat selular mengakibatkan monosit dapat digunakan sebagai alat untuk menyelidiki defek insulin yang menyebabkan terjadinya resistensi insulin pada DM tipe 2. Monosit mempunyai reseptor insulin yang dapat dengan cepat merespons perubahan konsentrasi insulin.

Pada DM tipe 2 awal, PBMC sensitif terhadap berbagai stimulus sehingga penyandang DM tipe 2 menunjukkan reaksi inflamasi PBMC yang besar daripada orang tanpa diabetes. Monosit berperan dalam permulaan dan perkembangan reaksi inflamasi dengan menghasilkan sitokin proinflamasi. Metabolit PBMC dapat sebagai sumber baru biomarker DM tipe 2.¹²⁰ Banyak jenis sel progenitor ditemukan pada PBMC, yang menunjukkan kemungkinan PBMC mempunyai kemampuan untuk berdiferensiasi menjadi berbagai jenis sel fungsional pada

lingkungan tertentu. PBMC dapat diubah menjadi sel yang dapat menghasilkan insulin untuk memperbaiki glukosa darah, sehingga dapat dikatakan bahwa PBMC dapat digunakan untuk regenerasi sel beta pankreas sebagai transplantasi autologous.¹²¹ Monosit memiliki potensi untuk berdiferensiasi yang sangat luas. Monosit dapat berdiferensiasi menjadi sel yang menghasilkan insulin dengan jumlah yang cukup untuk menstabilkan kadar glukosa darah. Untuk perbandingan secara *in vivo*, bahwa manusia dengan lima liter darah dalam keadaan puasa memiliki 22,8 μU atau 0,912 ng insulin dalam aliran darahnya, jadi secara teoritis 4×10^5 sel dapat memproduksi insulin yang cukup untuk memenuhi kebutuhan puasa orang dewasa. Sel mononuklear dapat menjadi kandidat untuk terapi penggantian sel diabetes di masa yang akan datang.¹²²

PBMC juga mengekspresikan VDR dan enzim 1α hidroksilase. VDR dapat juga ditemukan di berbagai sel imun termasuk limfosit, sel dendritik dan monosit.^{123, 124} Penelitian Ogunkulade dkk.¹²³ menunjukkan bahwa tingkat sirkulasi $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ sebagai prediktor protein VDR dalam PBMC dan protein VDR dalam PBMC yang bersirkulasi juga memprediksi variasi indeks sekresi insulin *in vivo* seperti yang dinilai pada tes toleransi glukosa oral. Penelitian Calton dkk.¹¹⁷ menyimpulkan bahwa vitamin D mempunyai efek antiinflamasi terhadap sitokin yang dihasilkan serta diekspresikan oleh PBMC. Penelitian Giulietti dkk.¹²⁴ menyatakan bahwa monosit penyandang DM tipe 2 memiliki sifat proinflamasi.

Perbaikan defisiensi vitamin D pada penyandang yang diberikan kolekalsiferol menghasilkan perubahan protein pengatur vitamin D di monosit. Monosit mengekspresikan CYP27B1 yaitu enzim yang mengubah 25-(OH)D menjadi $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ serta mengekspresikan reseptor untuk $1,25(\text{OH})_2\text{D}$, dan VDR. Hal ini ditunjukkan pada penelitian *in vitro* bahwa monosit dari individu defisiensi vitamin D yang diberikan 25-(OH)D menyebabkan sintesis $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ meningkat mengindikasikan adanya aktivitas CYP27B1 di dalam sel. Peningkatan ekspresi CYP27B1 di monosit penyandang yang diberikan suplementasi vitamin D menunjukkan produksi $1,25(\text{OH})_2\text{D}$, peningkatan ekspresi VDR mungkin merupakan indikasi tidak langsung sintesis intraselular $1,25(\text{OH})_2\text{D}$. Penelitian *in vitro* pada sel mononuklear individu sehat menunjukkan bahwa $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ atau

analog vitamin D dapat menghambat produksi sitokin, efek antiinflamasi vitamin D dapat menurunkan ekspresi IL-6 di monosit setelah pemberian kolekalsiferol.¹²⁵

Penelitian Mesquida dkk.¹²⁶ tentang stres oksidatif di PBMC menyimpulkan bahwa aktivitas semua enzim antioksidan di PBMC serta produksi ROS meningkat sejalan dengan meningkatnya indeks massa tubuh. Peningkatan aktivitas dan kadar enzim antioksidan di PBMC lebih tinggi pada obesitas dan berat badan berlebih dibanding berat badan normal mungkin merupakan konsekuensi dari aktivasi sel, akibat peradangan kronik dan stres oksidatif terkait akumulasi lemak yang berlebih. Di PBMC antioksidan terlihat meningkat sebagai mekanisme kompensasi dalam menghadapi stimulus pro-oksidatif dan pro-inflamasi kronik.

PBMC telah digunakan secara luas lebih dari 10 tahun sebagai alat untuk biomarker kesehatan dan penyakit. Aspek menarik dari PBMC adalah PBMC bersirkulasi di dalam darah secara permanen dan melalui semua bagian tubuh yang terdapat variasi komposisi cairan termasuk nutrisi, dan hormon. Sama seperti organ tubuh yang lain maka PBMC harus dapat beradaptasi terhadap perubahan.¹²⁷

Tabel 2.1. Penelitian Intervensi: Pengaruh Suplementasi Vitamin D pada Inflamasi, Stres Oksidatif, dan Antioksidan

Peneliti	Karakteristik subjek/Lokasi	Rancangan penelitian	Lama penelitian	Deskripsi suplemen	Pengukuran	Luaran
Fajar NA ¹⁷	Tikus jantan Rattus Novergicus strain Wistar	Randomized post test only control design	91 hari	Tepung susu sapi yang mengandung 400 IU vit D	Kadar NFκB	Tidak terdapat penurunan
Mousa A ¹⁸	65 orang obese	Double blind RCT	16 minggu	100.000 IU bolus dan 4000 IU cholecalciferol	BMI, 25-(OH)D, hsCRP, TNF, IFN-γ, NFκB	25-(OH)D meningkat, tidak ada efek pada NFκB
El Hajj C ¹⁰⁸	88 penyandang DM tipe 2 non obese di Libanon	RCT	6 bulan	30.000 IU cholecalciferol/minggu	hsCRP, TNFα, IL-6	↓ bermakna hsCRP dan TNFα, ↓ tidak bermakna IL-6
Safarpour ¹¹⁶	90 penyandang DM tipe 2 & vit D < 30 ng/mL	Double blind RCT	8 minggu	50.000 IU	SOD	↑ SOD
Fagundes ³³	75 penyandang DM tipe 2	-	8 minggu	Vit D3 4.000 IU/hari	stres oksidatif, kerusakan DNA	↓ stres oksidatif & kerusakan DNA

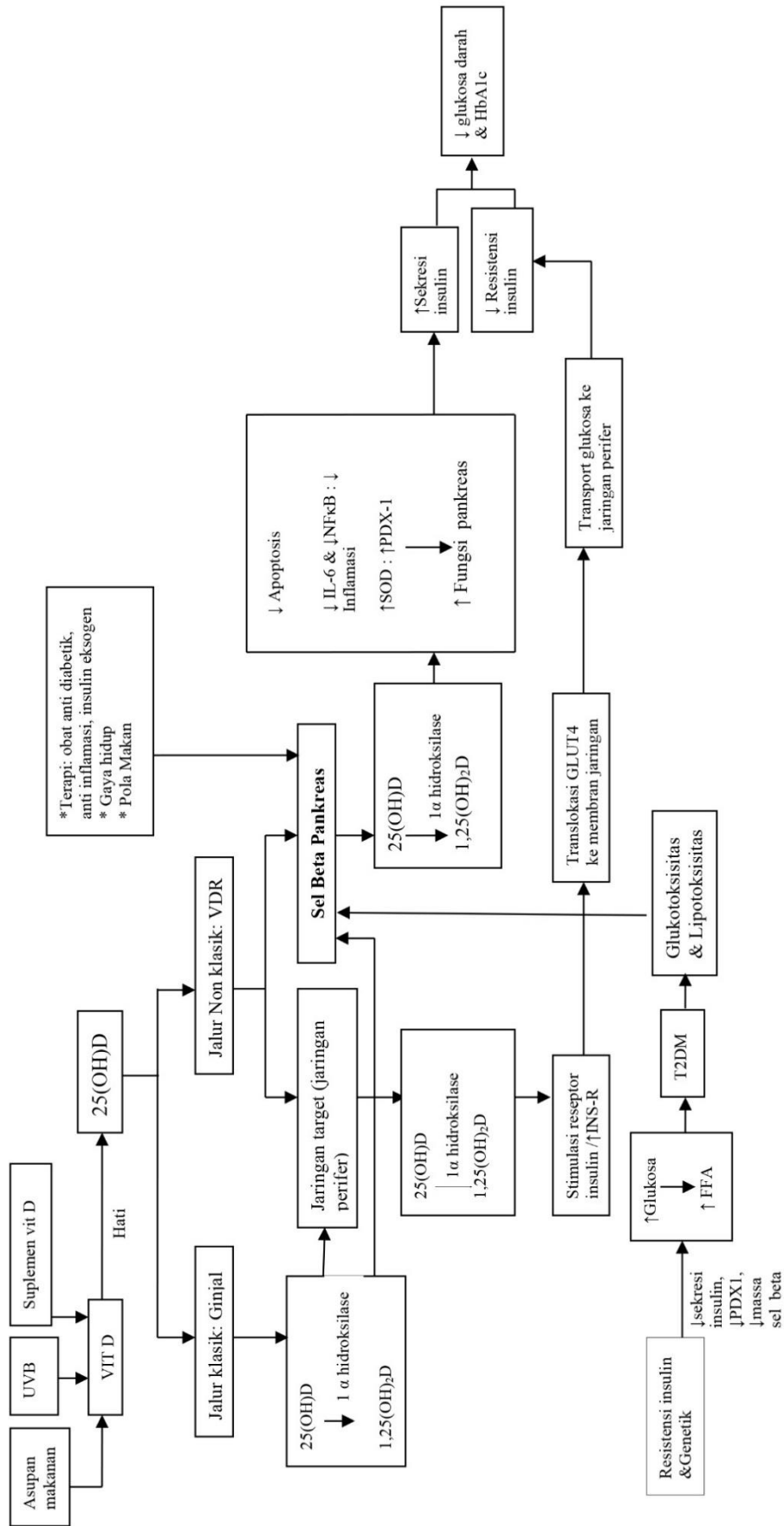
NFκB, Nuclear faktor kappa B; BMI, Body mass index; hsCRP, High sensitivity C reactive protein; TNF, Tumor necrosis faktor; IFN-γ, Interferon gamma; IL-6, Interleukin 6; SOD, Superoxide dismutase

Tabel 2.2. Penelitian Intervensi Pengaruh Suplementasi Vitamin D pada Parameter Metabolik

Peneliti	Karakteristik subjek/Lokasi	Rancangan Penelitian	Lama Penelitian	Deskripsi Suplemen	Pengukuran	Luaran
Al-Sofiani ³²	22 penyandang DM tipe 2	Double blind RCT	12 minggu	Cholecalciferol 5000 IU/hari	HbA1c, 25-(OH)D	↑ 25-(OH)D, HbA1c tidak ada perubahan bermakna
Von Hurst ³⁴	Wanita South Asia usia 23–68 tahun DM tipe 2 & defisiensi vitamin D	Double blind RCT	6 bulan	Vit D3 4.000 IU	25-(OH)D, resistensi insulin, sensitivitas insulin	25-(OH)D ↑, perbaikan resistensi insulin & sensitivitas insulin
Fagundes ³³	75 penyandang DM tipe 2	–	8 minggu	Vit D3 4.000 IU/hari	25-(OH)D, glukosa puasa, insulin	25-(OH)D ↑, perubahan bermakna glukosa puasa dan insulin
Harris ¹⁰⁰	89 penyandang obese dengan prediabetes	Randomized placebo controlled trial	12 minggu	Vit D3 4.000 IU/hari	25-(OH)D, sensitivitas insulin, sekresi insulin	25-(OH)D ↑, sekresi insulin ↑ & sensitivitas insulin ↓ pada kelompok vit D
Sandhu ¹⁰⁷	50 penyandang DM tipe 2 & defisiensi vit D	Before and after, Open labeled study	12 minggu	Vit D3 60.000 IU/minggu	25-(OH)D, FBG, HbA1c	25-(OH)D ↑, FBG ↓, HbA1c ↓
Eftekhari MH ¹⁰⁵	70 subjek T2DM	Double blind randomized placebo controlled trial	12 minggu	2 kapsul calcitriol/hari (0,25 ug 1,25(OH) ₂ cholecalciferol/kapsul)	Glukosa puasa, insulin, HbA1c, sekresi insulin	Glukosa puasa tidak berubah pada kelompok perlakuan, insulin & HbA1c ↑ pada kelompok perlakuan dan kontrol, sekresi insulin ↑ pada kelompok perlakuan

HbA1c, glycated hemoglobin; T2DM, type 2 DM mellitus; FBG, Fasting blood glucose

2.7 Kerangka Teori



Gambar 2.18. Kerangka Teori Peran Suplementasi Vitamin D pada Fungsi Sel Beta Pankreas

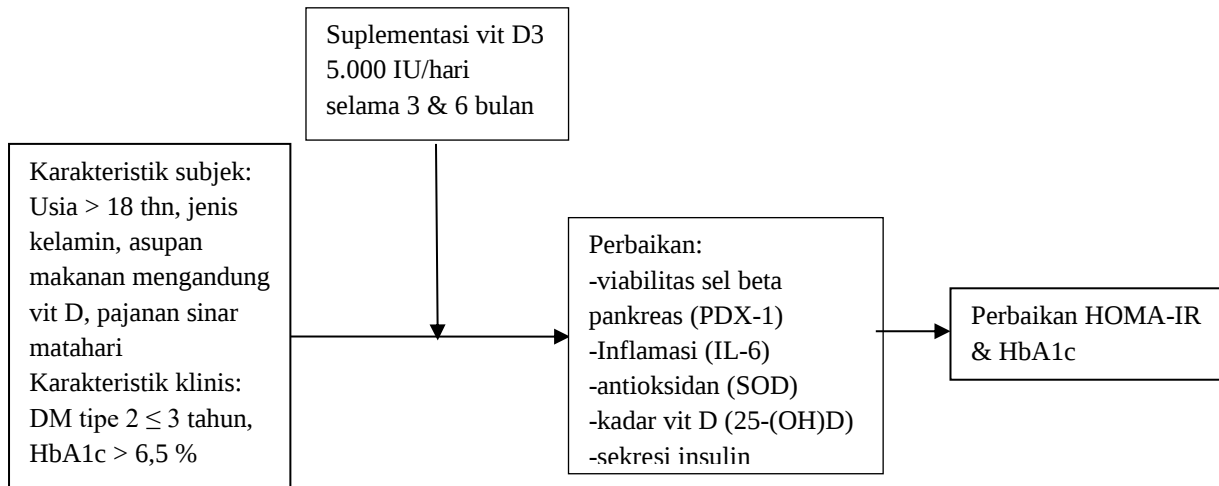
Penjelasan Kerangka Teori:

Vitamin D dapat diperoleh dari asupan makanan, sinar UVB matahari dan suplementasi vitamin D. Vitamin D akan diubah menjadi 25-(OH)D di hati yang selanjutnya akan masuk jalur klasik yaitu ke ginjal dan jalur nonklasik ke jaringan/organ yang mempunyai reseptor vitamin D (VDR) antara lain jaringan target/jaringan perifer serta sel beta pankreas. Di ginjal, jaringan target dan sel beta pankreas, 25-(OH)D akan diubah menjadi 1,25(OH)₂D oleh enzim 1 α hidroksilase. 1,25(OH)₂D yang berasal dari ginjal akan memengaruhi jaringan lain seperti jaringan target dan sel beta pankreas. 1,25(OH)₂D di jaringan target/jaringan perifer akan menstimulasi reseptor insulin sehingga reseptor insulin meningkat. Selanjutnya terjadi translokasi GLUT 4 ke membran jaringan sehingga terjadi transport glukosa ke jaringan perifer yang akhirnya dapat menurunkan resistensi insulin.

1,25(OH)₂D di sel beta pankreas dapat menurunkan terjadinya apoptosis, menurunkan inflamasi melalui penurunan aktivitas NF κ B dan penurunan IL-6, meningkatkan enzim antioksidan SOD yang dapat memperbaiki aktivitas PDX-1. Hal ini akan memengaruhi fungsi pankreas sehingga fungsi pankreas membaik yang dapat meningkatkan sintesis dan sekresi insulin. Peningkatan sekresi insulin dan penurunan resistensi insulin diharapkan dapat menurunkan kadar glukosa darah dan HbA1c. Terdapat faktor lain yang dapat berpengaruh terhadap sel beta pankreas antara lain obat (seperti obat diabetes, obat antiinflamasi, obat insulin) serta gaya hidup dan pola makan.

Resistensi insulin dan faktor genetik dapat memengaruhi penurunan aktivitas PDX-1 dan massa sel beta yang menyebabkan peningkatan glukosa. Peningkatan glukosa dapat meningkatkan *free fatty acid* (FFA) sehingga terjadi T2DM. Pada T2DM terdapat glukotoksisitas dan lipotoksisitas yang dapat memengaruhi sel beta pankreas.

2.8 Kerangka Konsep



Gambar 2.19. Kerangka Konsep Peran Suplementasi Vitamin D pada Fungsi Sel Beta Pankreas

BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1 Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan studi eksperimental dengan desain *double blind randomized control trial* untuk mengetahui apakah perubahan pada kelompok perlakuan lebih baik dibanding kelompok kontrol. Dibandingkan rerata perubahan ekspresi SOD, ekspresi IL-6, ekspresi PDX-1, kadar insulin, resistensi insulin, dan HbA1c antara kelompok yang mendapat vitamin D 5.000 IU/hari dan kelompok yang hanya mendapat plasebo selama 3 dan 6 bulan.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Puskesmas kecamatan Mampang sebagai tempat kegiatan pengabdian masyarakat FK Trisakti, dari bulan Januari–Desember 2022. Pemeriksaan laboratorium dilakukan di Laboratorium Terpadu FKUI (untuk pemeriksaan ekspresi SOD, IL-6, dan VDR), Laboratorium Klinik Prodia (untuk pemeriksaan ekspresi PDX-1), dan Laboratorium Patologi Klinik RSCM (untuk pemeriksaan 25-(OH)D, HbA1c, glukosa darah puasa, dan insulin puasa).

3.3 Populasi dan Subjek

- Populasi target adalah penyandang DM tipe 2.
- Populasi terjangkau adalah penyandang DM tipe 2 yang berobat ke puskesmas kecamatan Mampang.
- Subjek adalah penyandang DM tipe 2 yang berobat ke Puskesmas kecamatan Mampang yang memenuhi kriteria penelitian.

3.4 Kriteria Subjek Penelitian

3.4.1 Kriteria Inklusi:

- berjenis kelamin laki-laki dan perempuan serta berusia > 18 tahun
- lama menderita DM ≤ 3 tahun
- kadar HbA1c $> 6,5\%$
- menggunakan obat antidiabetik tunggal seperti metformin atau glibenklamid
- bersedia kontrol untuk *follow up*
- bersedia berpartisipasi dengan menandatangani *informed consent*

3.4.2 Kriteria Eksklusi:

- pernah, sudah, dan sedang mendapatkan terapi insulin
- menderita penyakit ginjal
- menderita penyakit hepar
- wanita hamil dan menyusui
- riwayat alergi
- riwayat hiperkalsemia
- mengonsumsi vitamin D3 selama 3 bulan terakhir

3.4.3 Kriteria Drop Out:

- Tidak melakukan *follow up* sesuai protokol penelitian
- Mengonsumsi tablet suplementasi kurang dari 80% dari dosis yang ditetapkan
- Mengalami kejadian yang tidak diharapkan seperti mual, muntah, konstipasi, sakit kepala.

3.5 Besar Sampel

Besar sampel dihitung menggunakan rumus untuk uji hipotesis beda rerata dua kelompok:

$$n_1 = n_2 = 2 \left[\frac{(Z\alpha + Z\beta)S}{X_1 - X_2} \right]^2$$

n = jumlah sampel

S = simpang baku kedua kelompok

$X_1 - X_2$ = perbedaan klinis yang diinginkan

$Z\alpha = 1,96$ $Z\beta = 0,842$

Untuk perhitungan jumlah sampel digunakan rerata dan simpang baku kadar IL-6, SOD, dan resistensi insulin (HOMA-IR) pada penyandang DM tipe 2 yang telah dipublikasi (Tabel 3.1.).

Tabel 3.1. Rerata dan Simpang Baku Kadar IL-6, SOD, dan Resistensi Insulin (HOMA-IR) pada Penyandang DM Tipe 2

Parameter	$X \pm SB$	$X_1 - X_2$	Besar sampel
IL-6 (pg/mL) ¹⁰⁸	3,86 $\pm$ 1,7	1,06	42
HOMA-IR ¹²⁸	5,55 $\pm$ 0,47	0,3	38
SOD (U/mL) ¹²⁹	14,3 $\pm$ 2,4	1,43	45

Perhitungan perbedaan hasil klinis untuk SOD dan resistensi insulin (HOMA-IR) dipakai sebesar 10% sedangkan untuk IL-6 dipakai sebesar 20%. Dari hasil perhitungan untuk IL-6 diperlukan 42 subjek, HOMA-IR diperlukan 38 subjek dan SOD diperlukan 45 subjek. Untuk besar sampel PDX-1 tidak dihitung karena belum ada publikasi yang melaporkan penelitian tentang vitamin D dengan PDX-1 sehingga mengikuti jumlah sampel terbesar. Dari perhitungan besar sampel yang terbanyak adalah 45 subjek untuk tiap kelompok. Untuk mengantisipasi adanya *drop out* atau *loss to follow up*, besar sampel harus ditambah 20%. Dari hasil perhitungan didapatkan besar subjek untuk masing-masing kelompok menjadi 56, sehingga total subjek keseluruhan yang dibutuhkan adalah 112.

n kelompok = 56

$\text{Drop out 20\%, n kelompok} = \frac{1}{1 - 0,2} \times 45 = 56,25$ dibulatkan menjadi 56

3.6 Bahan dan Cara Kerja

3.6.1 Seleksi Subjek

Penyandang DM tipe 2 berusia > 18 tahun yang berobat ke Puskesmas kecamatan Mampang dilakukan wawancara, pengisian kuesioner, dan *informed consent* sesudah mendapat penjelasan terlebih dahulu oleh peneliti mengenai maksud penelitian yang akan dilakukan (Lampiran 1). Subjek yang bersedia berpartisipasi dalam penelitian ini dilakukan wawancara oleh pewawancara sebanyak 13 orang yang berpendidikan minimal SMA setelah diberikan pelatihan dahulu oleh peneliti mengenai cara wawancara dan pengisian kuesioner. Subjek diwawancara menggunakan kuesioner skrining (Lampiran 2). Tiap kuesioner terdapat nomor identitas subjek yang terdiri dari 8 digit nomor. Digit kesatu untuk kelurahan, digit kedua sampai ketiga untuk RW, digit keempat sampai kelima untuk RT, dan digit keenam sampai kedelapan untuk nomor urut subjek. Pengisian kuesioner dilakukan setiap hari dari hari senen sampai jumat setiap minggunya. Kemudian dilanjutkan pengambilan darah untuk pemeriksaan skrining yang meliputi pemeriksaan SGPT, albumin, kreatinin, dan Ca darah. (Lampiran 6)

Kuesioner yang sudah terisi dikumpulkan peneliti untuk dilakukan evaluasi subjek yang dapat mengikuti penelitian berdasarkan kriteria inklusi dan eklusi. Berdasarkan kuesioner skrining dan hasil pemeriksaan skrining laboratorium

jumlah subjek yang dapat mengikuti penelitian ini sebanyak 114 orang. Subjek yang memenuhi kriteria dilanjutkan untuk dilakukan wawancara dan pengisian kuesioner lengkap (Lampiran 3).

3.6.2 Pengukuran dan Pengambilan Darah

Pengukuran dan pengambilan darah untuk pemeriksaan laboratorium dilakukan setiap hari Sabtu selama 4 minggu berturut-turut. Setiap minggunya diperiksa 30–35 subjek. Subjek penelitian yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi datang ke Puskesmas pada hari yang sudah ditentukan untuk dilakukan pemeriksaan fisis yang terdiri dari tinggi badan dan berat badan. Pengukuran tinggi badan menggunakan *microtois portable* dalam cm dengan ketelitian 0,1 cm. Pengukuran berat badan menggunakan timbangan *sage portable scale* dalam kg dengan ketelitian 0,1 kg.

Pengambilan darah dilakukan oleh petugas flebotomis yang sudah berpengalaman. Darah diambil sebanyak 5 tabung *vacutainer* (2 tabung dengan antikoagulan EDTA untuk pemeriksaan HbA1c dan PDX-1, 1 tabung dengan antikoagulan NaF untuk pemeriksaan glukosa darah, 1 tabung dengan antikoagulan heparin untuk pemeriksaan IL-6, SOD, dan VDR serta 1 tabung tanpa antikoagulan untuk pemeriksaan 25-(OH)D dan insulin). Masing-masing tabung *vacutainer* berisi darah 3 mL.

3.6.3 Randomisasi dan Aloksai Perlakuan

Terdapat 114 subjek yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi untuk dilakukan randomisasi, 57 subjek masuk kelompok vitamin D dan 57 subjek masuk kelompok kontrol. Kelompok vitamin D mendapatkan suplementasi vitamin D 5.000 IU setiap hari dan kelompok kontrol mendapatkan plasebo setiap hari.

Randomisasi dilakukan dengan bantuan komputer menggunakan teknik *block permuted randomization* dan *block size* kombinasi 4. Dalam setiap blok didapatkan dua kelompok subjek yaitu dua kelompok vitamin D dan dua kelompok plasebo/kontrol. Kode hasil randomisasi dimasukkan dalam amplop tertutup untuk menjaga kerahasiaan urutan jenis suplementasi yang diberikan serta dipegang oleh petugas yang berwenang. Baik peneliti, dokter penanggung jawab penyandang dan

subjek penelitian (penyandang sendiri) tidak mengetahui jenis suplementasi yang diberikan (*double blind*). Petugas pembantu penelitian yang sudah ditunjuk membuat daftar randomisasi untuk seluruh responden sesuai hasil randomisasi dari komputer (Lampiran 7). Subjek yang layak ikut penelitian diambil secara berurutan dan mendapatkan suplementasi sesuai nomor urutnya. Kode randomisasi dibuka dihadapan promotor pada tanggal 30 Maret 2023 (Lampiran 8).

Semua penyandang yang terlibat dalam penelitian diberikan pelayanan sesuai standar oleh dokter penanggung jawab penyandang di puskesmas. Selama penelitian penyandang dipantau kondisi klinisnya (keluhan mual, muntah, konstipasi, sakit kepala). Pengamatan dilakukan 3 bulan dan 6 bulan sejak pertama kali pemberian suplementasi. Pengamatan penyandang dipantau melalui telepon atau *google form* kepada penyandang atau keluarganya, dan setiap kejadian wajib ditulis di lembar pengamatan klinis penelitian. Penyandang yang *loss to follow up* atau yang menghentikan konsumsi suplementasi sebelum penelitian berakhir dicatat juga dalam lembar pengamatan klinis penelitian.

3.6.4 Penanganan Spesimen Darah

Bahan spesimen berupa darah vena dimasukkan dalam tabung tanpa anti koagulan, tabung EDTA, tabung heparin, dan tabung NaF. Untuk memperoleh serum, darah tanpa antikoagulan dibiarkan membeku pada suhu kamar kira-kira 30 menit, kemudian tabung diputar dengan kecepatan 3500 g selama 10 menit. Serum dipisahkan dan dimasukkan dalam 2 tabung aliquot untuk digunakan pada pemeriksaan 25-(OH)D dan insulin. Pengambilan spesimen darah dilakukan sebanyak 3 kali yaitu sebelum suplementasi, 3 bulan, dan 6 bulan pasca suplementasi.

3.6.5 Pemantauan Asupan Makanan

Pemantauan asupan makanan mengandung vitamin D dengan menggunakan kuesioner *Semi Quantitatives Food Frequency Questionnaire* (SQ-FFQ) vitamin D yang dilakukan pada awal penelitian, 3 bulan, dan 6 bulan pasca suplementasi (Lampiran 4). Pengukuran SQ-FFQ dilakukan oleh 3 petugas dari Akademi Gizi yang sudah mempunyai sertifikat sebagai enumerator gizi.

3.6.6 Pemeriksaan Laboratorium

3.6.6.1 Insulin¹³⁰

Konsentrasi insulin di dalam serum diukur dengan metode *sandwich enzyme linked immunosorbent assay* (ELISA). Prosedur pemeriksaan diawali dengan tahap inkubasi pertama yaitu 20 µL spesimen, *biotinylated monoclonal insulin-specific antibody*, dan *monoclonal insulin-specific antibody* yang dilabel dengan *ruthenium complex* (*Tris(2,2'-bipyridyl)ruthenium(II)-complex* (*Ru(bpy)*)) membentuk kompleks *sandwich*. Inkubasi kedua setelah ditambahkan mikropartikel berlapis streptavidin sehingga kompleks menjadi terikat pada fase padat melalui interaksi biotin dan streptavidin. Campuran reaksi diaspirasi ke dalam sel pengukur, mikropartikel ditangkap secara magnetik ke permukaan elektroda. Substansi yang tidak terikat kemudian dibersihkan dengan ProCell. Aplikasi tegangan ke elektroda akan menginduksi emisi *chemiluminescent* yang diukur dengan *photomultiplier*. Jumlah cahaya yang dihasilkan berbanding lurus dengan jumlah insulin di dalam spesimen. Untuk pemeriksaan insulin ini subjek diminta berpuasa selama 12 jam.

3.6.6.2 Glukosa darah¹³¹

Metode pemeriksaan secara enzimatik heksokinase.

Prinsip pemeriksaan: heksokinase (HK) mengatalisis fosforilasi glukosa oleh ATP untuk membentuk glukosa-6-fosfat dan ADP. Selanjutnya glukosa-6-fosfat dehidrogenase (G6PD) digunakan untuk mengatalisis oksidasi glukosa-6-fosfat oleh NAD^+ untuk membentuk NADH. Konsentrasi NADH yang terbentuk berbanding lurus dengan konsentrasi glukosa. Untuk pemeriksaan glukosa ini subjek diminta berpuasa selama 12 jam.

3.6.6.3 25-(OH) D¹³²

Konsentrasi 25-(OH)D di serum diukur dengan prinsip *direct competitive chemiluminescent microparticle immunoassay* (CMIA). Prosedur pemeriksaan diawali dengan menyampur spesimen (serum) dan reagen (*triethanolamine methanol buffer* dan *8-anilino-1-naphtalensulfonic acid*) menjadi suatu alikuot. Alikuot ini dicampurkan dengan diluen (bufer asam asetat) dan mikropartikel berlapis anti vitamin D untuk mendapatkan suatu campuran reaksi. Vitamin D yang ada di dalam spesimen berikatan dengan mikropartikel berlapis anti vitamin D.

Setelah inkubasi, konjugat berlabel *biotinylated vitamin D anti-biotin* ditambahkan ke dalam campuran reaksi dan mengikat tempat ikatan yang kosong dari mikropartikel berlapis antivitamin D. Selanjutnya dilakukan pencucian, setelah pencucian ditambahkan larutan hidrogen peroksida dan larutan natrium hidroksi ke dalam campuran reaksi. Hasil reaksi *chemiluminescent* diukur sebagai *relative light units* (RLUs). Jumlah vitamin D yang terdapat di dalam spesimen berbanding terbalik dengan RLU yang terdeteksi di alat.

3.6.6.4 VDR, SOD, IL-6

VDR, SOD dan IL-6 diukur menggunakan metode imunofluoresitometri. Prosedur pemeriksaan diawali dengan menghidupkan inkubator suhu 37 °C kemudian ke dalam tabung eppendorf ditambahkan 500 µL sampel darah dan 10 µL brefeldin (BFA) dari BD FastImmune™ CD8 Intracellular Cytokine Detection Kit lalu dihomogenkan dan diinkubasi dalam inkubator selama 10 menit.

Tabung flowsitometri disiapkan untuk sampel dan *unstained* lalu dimasukkan 100 µL sampel serta ditambahkan 1,5 µL CD14 (PerCP-Cy™5.5 Mouse Anti-Human CD14 BD Pharmingen™ BD Biosciences) pada masing-masing tabung, kemudian divorteks dan inkubasi selama 15 menit di ruang gelap. Setelah inkubasi ditambahkan *lysing buffer/solution* (BD FACST™ Lysing Solution) masing-masing 1 mL, kemudian divorteks dan diinkubasi 10 menit di ruang gelap.

Selanjutnya ditambahkan 1 mL *stain buffer* (Stain Buffer BD Pharmingen™ BD Biosciences) lalu divorteks dan setelah itu disentrifus pada kecepatan 2100 rpm selama 5 menit. Supernatan dibuang dan diketuk-ketukkan ke tisu kering (*blot*). Selanjutnya ditambahkan 500 µL *cytofix* (BD Cytofix/Cytoperm™ PlusFixation /Permeabilization Kit (with BD Golgi Stop™protein transport inhibitor) (Cat. No. 554715)) dan divorteks lalu diinkubasi selama 10 menit pada ruang gelap, disentrifus kembali pada kecepatan 2100 rpm selama 5 menit.

Supernatan dibuang dan tabung diketukkan ke tisu kering/*blot*. Kemudian tambahkan 1 mL *stain buffer*, divorteks dan disentrifus pada kecepatan 2100 rpm selama 5 menit lalu supernatan dibuang dan dilakukan *blot*. Selanjutnya ditambahkan 1 mL permwash lalu divorteks dan disentrifus dengan kecepatan 2100 rpm selama 5 menit. Supernatan dibuang dan di-*blot*. Selanjutnya ke dalam 1

tabung sampel ditambahkan 3 μ L antiSOD (Santa Cruz Biotechnology, INC.SOD-2 (A-2): sc-133134), 3 μ L antiVDR (Santa Cruz Biotechnology, INC.VDR (D-6): sc-13133), dan 3 μ L antiIL-6 (Santa Cruz Biotechnology, INC.IL-6 (E-4): sc-28343) serta 100 μ L permwash. Antibodi tidak ditambahkan pada tabung *unstained*. Kemudian diinkubasi selama 30 menit dalam ruang gelap. Selanjutnya ditambahkan 1 mL permwash, divorteks dan disentrifus pada kecepatan 2100 rpm selama 5 menit. Supernatan dibuang dan di-*blot* lalu ditambahkan 300 μ L *stain buffer* pada masing-masing tabung, selanjutnya dibaca pada alat *flowcytometer*.

3.6.6.5 PDX-1

RNA diisolasi dari *whole blood* menggunakan Genezol RNA Extraction Kit (Geneaid) (Cat.GZR200,Lot.FI06208). Sebanyak 500 μ L *wholeblood* dipindahkan ke dalam tabung 2 mL dan ditambahkan Genezol Reagent sebanyak 1500 μ L. Tabung divorteks selama 30 detik kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 5 menit, lalu disentrifugasi pada 16.000 g (4 $^{\circ}$ C) selama 10 menit. Setelah sentrifugasi, supernatan dipindahkan ke tabung 2 mL lalu ditambahkan 300 μ L kloroform. Tabung divorteks selama 15 detik kemudian disentrifugasi pada 16.000 g (4 $^{\circ}$ C) selama 15 menit.

RNA terdapat dalam fase atas (*aqueous*). Fase *aqueous* dipindahkan ke tabung 2 mL yang baru. Ditambahkan 1x volume isopropanol ke dalam fase *aqueous* dan dicampur dengan membolakbalikkan tabung sebanyak 10 kali, kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 10 menit lalu disentrifugasi pada 16.000 g (4 $^{\circ}$ C) selama 10 menit untuk membentuk pelet RNA. Supernatan dibuang dengan memperhatikan pelet yang sudah terbentuk agar tidak terbang. Ditambahkan 1 mL etanol 70% untuk mencuci pelet RNA, kemudian divorteks dalam waktu singkat, lalu disentrifugasi pada 16.000 g (4 $^{\circ}$ C) selama 5 menit. Supernatan dibuang dengan memperhatikan pelet yang sudah terbentuk agar tidak terbang. Pelet RNA dikeringkan pada suhu ruang selama 10 menit. Jika masih ada etanol yang tersisa waktu untuk mengeringkan bisa diperpanjang. Selanjutnya ditambahkan 50 μ L *Rnase-free water* untuk meresuspensi pelet RNA lalu diinkubasi pada suhu 56 $^{\circ}$ C selama 10 menit untuk melarutkan pelet RNA. Bagian bawah tabung diketuk perlahan setiap 2 menit untuk meresuspensi pelet RNA. Pengukuran konsentrasi

dan kemurnian RNA dilakukan berdasarkan prinsip spektrofotometri menggunakan NanoDrop™ One spectrophotometer (Thermo Fisher Scientific Inc., Wilmington, USA)

Ekspresi PDX-1 dianalisis menggunakan metode *Real time polymerase chain reaction (Real-Time PCR)*. Pemeriksaan menggunakan reagen TaqMan® Gene Expression Assays PDX-1: Hs00236830_m1 (Cat.865054900, Lot.73908885) dan Taqman® Gene Expression Assays GAPDH: Hs999999905_m1 *endogenous control* (Cat.865047634, Lot.73908885). Kedua assay terdiri dari *primer* dan *probe* spesifik dengan dua jenis pewarna fluoresens untuk masing-masing alel. Campuran PCR terdiri dari 5 µL Taqpath 1 step Multiple Master Mix (Cat.A28522, lot.01237690), 1 µL TaqMan® Gene Expression Assays PDX-1 dan 1 µL Taqman® Gene Expression Assay (GAPDH), 11 µL sampel RNA, dan *nuclease-free water* hingga mencapai volume akhir 20 µL. Amplifikasi dilakukan menggunakan alat CFX 96 Touch™ Real-Time PCR (Bio-Rad, USA) dengan pengaturan 2 menit inkubasi UNG pada suhu 25 °C, *reverse transcription* pada suhu 53 °C selama 10 menit, aktivasi enzim polimerase 2 menit pada suhu 95 °C, diikuti dengan 40 siklus amplifikasi yang terdiri dari *denaturation* 3 detik pada suhu 95 °C dan *annealing-extension* selama 30 detik pada suhu 60 °C. Ekspresi RNA ditentukan berdasarkan *Relative Fluorescence Unit* (RFU) dari masing-masing alel.

Ekspresi RNA (gen target) diukur secara relatif terhadap GAPDH (gen *reference*) dengan menghitung selisih *cycle threshold* (Ct) kedua gen dengan rumus:

$$\Delta Ct \text{ (Delta Ct): } Ct \text{ (gen target)} - Ct \text{ (gen reference)}$$

Ekspresi RNA pada penyandang dan subjek kontrol dapat dibandingkan dengan menghitung $\Delta\Delta Ct$ (Delta Delta CT) dengan rumus :

$$\Delta\Delta Ct \text{ (Delta Delta CT): } \Delta Ct \text{ penyandang} - \text{rerata } \Delta Ct \text{ kontrol}$$

Relative fold change ekspresi RNA pada penyandang dapat dihitung dengan menggunakan rumus:

$$2^{-\Delta\Delta Ct}: \text{Dua pangkat minus } \Delta\Delta Ct \text{ (Delta Delta CT)}$$

3.7 Penyediaan Preparat Tablet Suplementasi

Tablet vitamin D 5.000 IU yang digunakan pada penelitian ini disiapkan oleh PT Imedco, selanjutnya dikemas ulang dan diberi label oleh PT Ikapharmindo Putramas. Tablet plasebo/kontrol yang digunakan dalam penelitian ini disiapkan dan dikemas oleh PT Ikapharmindo Putramas. Bahan untuk pembuatan plasebo terdiri dari *microcrystalline cellulose*, *calcium carbonate*, *sodium starch glycolate*, *magnesium stearate*. Baik tablet vitamin D 5.000 IU maupun tablet plasebo dikemas dalam botol kaca berwarna coklat. Tidak terdapat perbedaan antara kedua jenis tablet tersebut baik dalam bentuk, warna, bau dan kemasan yang diketahui oleh peneliti dan subjek penelitian.

3.8 Pemberian Suplementasi

Tablet suplementasi untuk kelompok vitamin D dan kontrol diberikan dalam bentuk tablet yang ukuran, bentuk, bau, dan warnanya sama. Suplementasi diberikan secara tersamar ganda. Kelompok vitamin D diberikan suplementasi tablet berisi plasebo + vitamin D 5.000 IU, sedangkan kelompok kontrol diberikan suplementasi tablet plasebo. Tablet suplementasi diberikan secara per oral pada masing-masing kelompok setiap hari satu tablet oleh petugas yang ditunjuk. Tablet diberikan setiap hari 1 tablet dan harus diminum di depan petugas yang sudah ditunjuk. Tablet harus diminum setiap pagi antara pukul 07.00 sampai pukul 10.00 setelah makan pagi. Tablet suplementasi untuk kelompok vitamin D dan kontrol dikemas dalam botol kaca berwarna coklat, setiap botol berisi 30 tablet (1 botol untuk 1 bulan). Peneliti memberikan 1 botol tiap 1 bulan kepada petugas lapangan sesuai jumlah subjek yang menjadi tanggung jawabnya. Pada masing-masing botol sudah ditempel label yang berisi nama dan nomor identitas subjek. Lama pemberian suplementasi pada penelitian ini adalah 6 bulan (24 minggu). Untuk mengetahui apakah tablet diminum tiap hari atau tidak, maka dilakukan pencatatan suplementasi dengan menggunakan *form check list* (Lampiran 9). *Form check list* tersebut diambil oleh peneliti satu minggu setelah waktu suplementasi untuk 1 botol berakhir.

3.9 Kepatuhan Subjek

Kepatuhan subjek dalam meminum obat dinilai dari melihat secara langsung subjek meminum obat di hadapan petugas, menghitung sisa jumlah tablet dalam setiap

botol setiap bulan serta memeriksa kadar vitamin D dalam darah pada awal penelitian, 3 bulan, dan 6 bulan pasca suplementasi. Petugas mengisi *form check list* kepatuhan subjek minum tablet. Petugas menanyakan efek atau keluhan yang dirasakan oleh subjek selama meminum tablet (Lampiran 10). Subjek dikategorikan *drop out* bila tablet yang diminum $< 80\%$ (72 tablet) untuk 3 bulan dan $< 80\%$ (144 tablet) untuk 6 bulan.

3.10 Variabel Penelitian

3.10.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah suplementasi vitamin D.

3.10.2 Variabel Tergantung

Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah variabel inflamasi (persentase ekspresi IL-6), variabel antioksidan (persentase ekspresi SOD), variabel viabilitas sel beta pankreas (ekspresi PDX-1), variabel fungsi sel beta pankreas (kadar insulin), variabel resistensi insulin (HOMA-IR), dan HbA1c.

3.11 Definisi Operasional

1. DM: subjek penelitian yang sudah terdiagnosis menderita DM tipe 2 dengan wawancara menggunakan kuesioner, skala nominal.
2. Jenis kelamin: perbedaan sifat, bentuk, dan fungsi biologi laki-laki dan perempuan yang menentukan perbedaan dalam reproduksi, dengan wawancara menggunakan kuesioner dan melihat KTP, skala nominal.
3. Indeks massa tubuh (IMT): berat badan dibagi tinggi badan kuadrat, dinyatakan dalam kg/m^2 , skala rasio.
4. Lama DM: waktu dari diketahuinya pertama kali menderita DM sampai saat penelitian dimulai, dinyatakan dalam bulan, skala rasio.
5. Usia subjek: dihitung dari saat penelitian dimulai dengan tanggal lahir yang tertera di KTP, dinyatakan dalam tahun, skala rasio.
6. Terapi insulin dan atau obat antidiabetik oral: subjek penelitian menggunakan suntikan insulin dan atau obat antidiabetik oral untuk pengobatan DM, dengan wawancara menggunakan kuesioner, skala nominal.

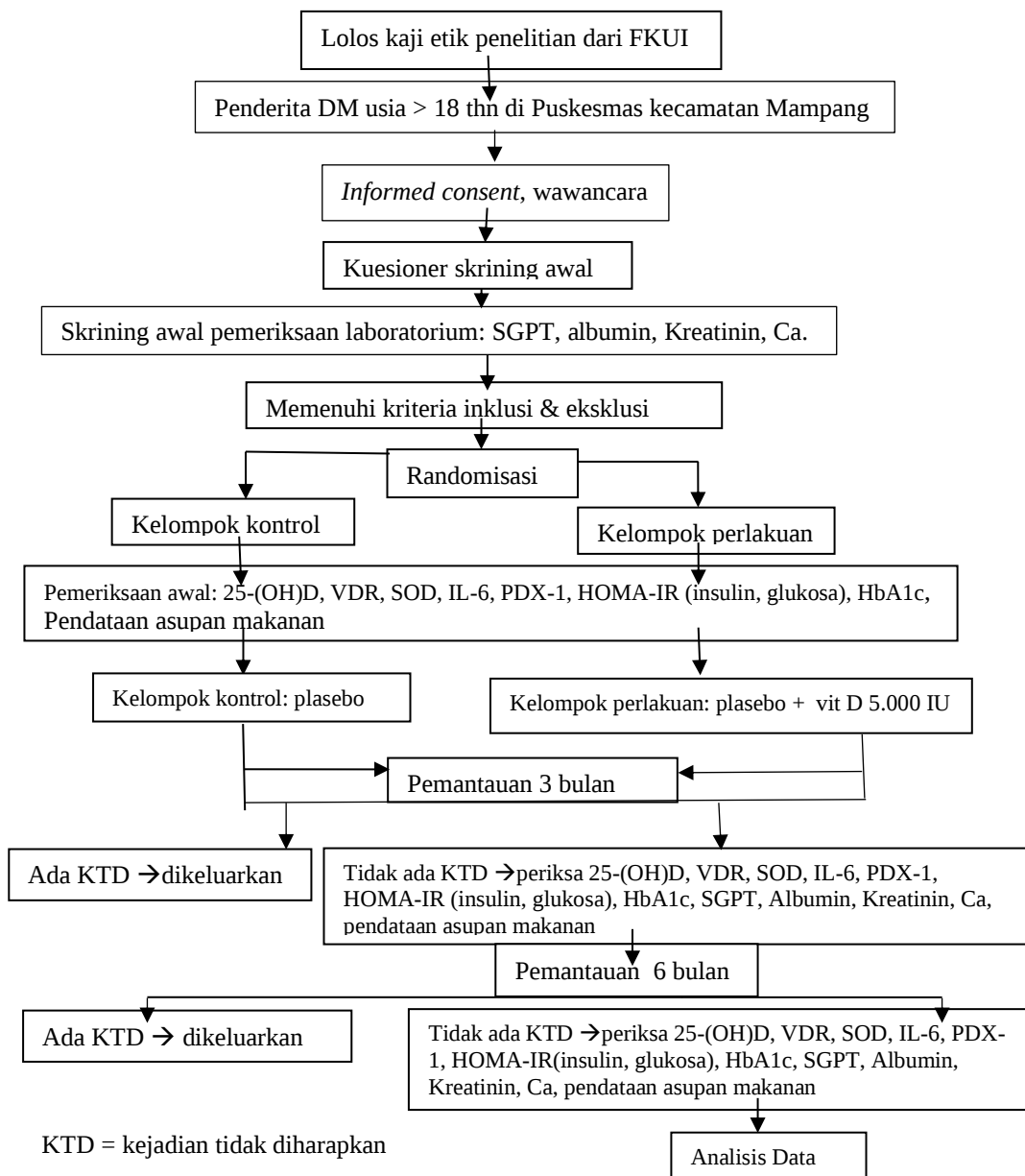
7. Wanita hamil dan menyusui: subjek penelitian berjenis kelamin wanita yang sedang hamil dan menyusui, dengan wawancara menggunakan kuesioner, skala nominal.
8. Riwayat alergi: subjek penelitian mempunyai riwayat alergi, dengan wawancara menggunakan kuesioner, skala nominal.
9. Pendidikan: tingkat pendidikan subjek penelitian dari pendidikan formal, dengan wawancara menggunakan kuesioner, tingkat pendidikan tinggi dari universitas (subjek lulus sarjana) dan akademi (subjek lulus akademi), tingkat pendidikan menengah dari SMA (subjek tamat SMA) dan SMP (subjek tamat SMP), tingkat pendidikan rendah dari SD (subjek tamat SD), tidak sekolah (subjek tidak pernah mendapat pendidikan formal), skala ordinal.
10. Pekerjaan: pekerjaan subjek penelitian, dengan wawancara menggunakan kuesioner, bekerja, tidak bekerja termasuk ibu rumah tangga (subjek penelitian sebagai ibu rumah tangga dan tidak bekerja di kantor), skala nominal.
11. Asupan makanan mengandung vitamin D: asupan makanan subjek penelitian yang mengandung vitamin D, diukur dengan menggunakan *semi quantitative food frequency questionnaire*, dinyatakan dalam $\mu\text{g/hari}$, skala rasio.
12. Kebiasaan berjemur sinar matahari: kebiasaan subjek penelitian berjemur di bawah sinar matahari, dengan wawancara menggunakan kuesioner, skala nominal.
13. Kebiasaan menggunakan baju lengan panjang: kebiasaan subjek penelitian dalam menggunakan baju lengan panjang sehari-hari, dengan wawancara menggunakan kuesioner, skala nominal.
14. Variabel resistensi insulin diukur dengan:
 - a. Kadar glukosa darah: kadar glukosa yang terdapat di dalam darah, diperiksa menggunakan metode enzimatis heksokinase, alat Architect, reagensia Abbott laboratories, dinyatakan dalam mg/dL , skala rasio.
 - b. Kadar insulin: kadar insulin di dalam darah, diperiksa menggunakan metode *sandwich enzyme linked immunosorbent assay* (ELISA), alat Elecys, reagensia Roche Diagnostic, dinyatakan dalam $\mu\text{IU/mL}$, skala rasio.
 - c. HOMA IR: perhitungan menggunakan rumus untuk mengetahui adanya resistensi insulin, menggunakan rumus perhitungan (Insulin puasa

$(\mu\text{IU/mL}) \times \text{glukosa darah puasa (mg/dL)}/405$ atau $\text{Insulin puasa } (\mu\text{IU/mL}) \times \text{glukosa darah puasa (mmol/L)}/22.5$, skala rasio.

15. Variabel inflamasi diukur dengan persentase ekspresi IL-6: persentase ekspresi IL-6 di monosit diperiksa menggunakan metode imunofluoresitometri, dinyatakan dalam %, skala rasio.
16. Variabel vitamin D diukur dengan:
 - a. kadar 25-(OH)D: kadar 25-(OH)D yang terdapat di dalam darah, diperiksa menggunakan metode *direct competitive chemiluminescent microparticle immunoassay* (CMIA), alat Architect, reagensia Abbott laboratories, dinyatakan dalam ng/mL, skala rasio.
 - b. VDR: persentase ekspresi VDR di monosit diperiksa menggunakan metode imunofluoresitometri, dinyatakan dalam %, skala rasio.
17. Variabel viabilitas sel beta pankreas diukur dengan ekspresi PDX-1: ekspresi PDX-1 yang terdapat di dalam darah, diperiksa menggunakan metode *Real time polymerase chain reaction (Real-Time PCR)*, alat CFX 96 Touch™ Real-Time PCR, reagensia TaqMan® Gene Expression Assays PDX-1, dinyatakan dalam Ct, skala rasio.
18. Variabel antioksidan diukur dengan persentase ekspresi SOD: persentase ekspresi SOD di monosit diperiksa menggunakan metode imunofluoresitometri, dinyatakan dalam %, skala rasio.
19. Variabel penyakit hati diukur dengan :
 - a. Kadar SGPT: kadar SGPT yang terdapat di dalam darah, diperiksa menggunakan metode enzimatik, alat Cobas C111, reagensia dari Roche Diagnostic, dinyatakan dalam U/L, skala rasio.
 - b. Kadar albumin: kadar albumin yang terdapat di dalam darah, diperiksa menggunakan metode kolorimetrik, alat Cobas C111, reagensia dari Roche Diagnostic, dinyatakan dalam g/dL
 - c. Menderita penyakit hepar: subjek penelitian menderita penyakit hepar dengan wawancara menggunakan kuesioner, skala nominal.
20. Variabel penyakit ginjal diukur dengan:

- a. Kadar kreatinin: kadar kreatinin yang terdapat di dalam darah, diperiksa menggunakan metode enzimatik, alat Cobas C111, reagensia dari Roche Diagnostic, dinyatakan dalam mg/dL, skala rasio.
 - b. Menderita penyakit ginjal: subjek penelitian menderita penyakit ginjal dengan wawancara menggunakan kuesioner, skala nominal.
21. Variabel hiperkalsemia diukur dengan kadar Ca: kadar Ca yang terdapat di dalam darah, diperiksa menggunakan metode *colorimetric endpoint*, alat Cobas C111, reagensia dari Roche Diagnostic, dinyatakan dalam mg/dL, skala rasio.

3.12 Alur Kerja Penelitian



Gambar 3.1. Alur Penelitian

3.13 Analisis Data

Data yang diperoleh dari subjek penelitian dan hasil pemeriksaan dimasukkan dalam program excel komputer. Data yang sudah ada dicek kelengkapannya oleh peneliti. Data dilakukan pengkodean dan proses validasi data. Setelah semua data tervalidasi dengan benar selanjutnya dilakukan pengolahan data. Pengolahan data pada tahap awal dilakukan uji normalitas data untuk skala interval dan rasio menggunakan uji Kolmogorov Smirnov. Bila data berdistribusi normal digunakan test parametrik, bila data berdistribusi tidak normal digunakan uji non parametrik. Untuk menjamin semua variabel yang ada tersebar secara merata pada kelompok vitamin D dan kontrol dilakukan penilaian hasil randomisasi. Variabel yang dinilai meliputi (1) karakteristik subjek yaitu usia, lama diabetes, IMT, status pekerjaan dan pendidikan terakhir; (2) pemeriksaan laboratorium meliputi kadar 25-(OH)D, glukosa darah, insulin, HbA1c, HOMA-IR, SOD, IL-6, VDR, PDX-1; (3) Asupan nutrisi meliputi asupan makanan mengandung vitamin D, karbohidrat, protein dan lemak. Analisis statistik menggunakan SPSS versi 20 dengan tingkat kemaknaan $p < 0,05$.

3.14 Etika Penelitian dan *Informed Consent*

Sebelum memulai penelitian diajukan protokol penelitian ke Komite Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia untuk mendapatkan pengesahan (Lampiran 11). Ada empat prinsip utama etika penelitian yang harus dipenuhi yaitu (i). menghormati harkat dan martabat manusia; (ii). menghormati privasi dan kerahasiaan subjek penelitian; (iii). keadilan dan inklusivitas; (iv). melihat manfaat dan kerugian yang ditimbulkan.

Untuk memenuhi prinsip pertama dan ketiga, calon subjek berhak untuk menyetujui atau menolak ikut berpartisipasi pada penelitian ini setelah mendapat penjelasan. Calon subjek yang bersedia ikut berpartisipasi dalam penelitian ini telah menandatangani *informed consent* kesediaan berpartisipasi. Calon subjek juga berhak untuk menolak ikut berpartisipasi dalam penelitian ini tanpa dikenai sanksi apa pun. Calon subjek juga berhak untuk berhenti dari penelitian ini kapan saja tanpa dikenai sanksi apa pun walaupun penelitian ini sedang berlangsung. Calon

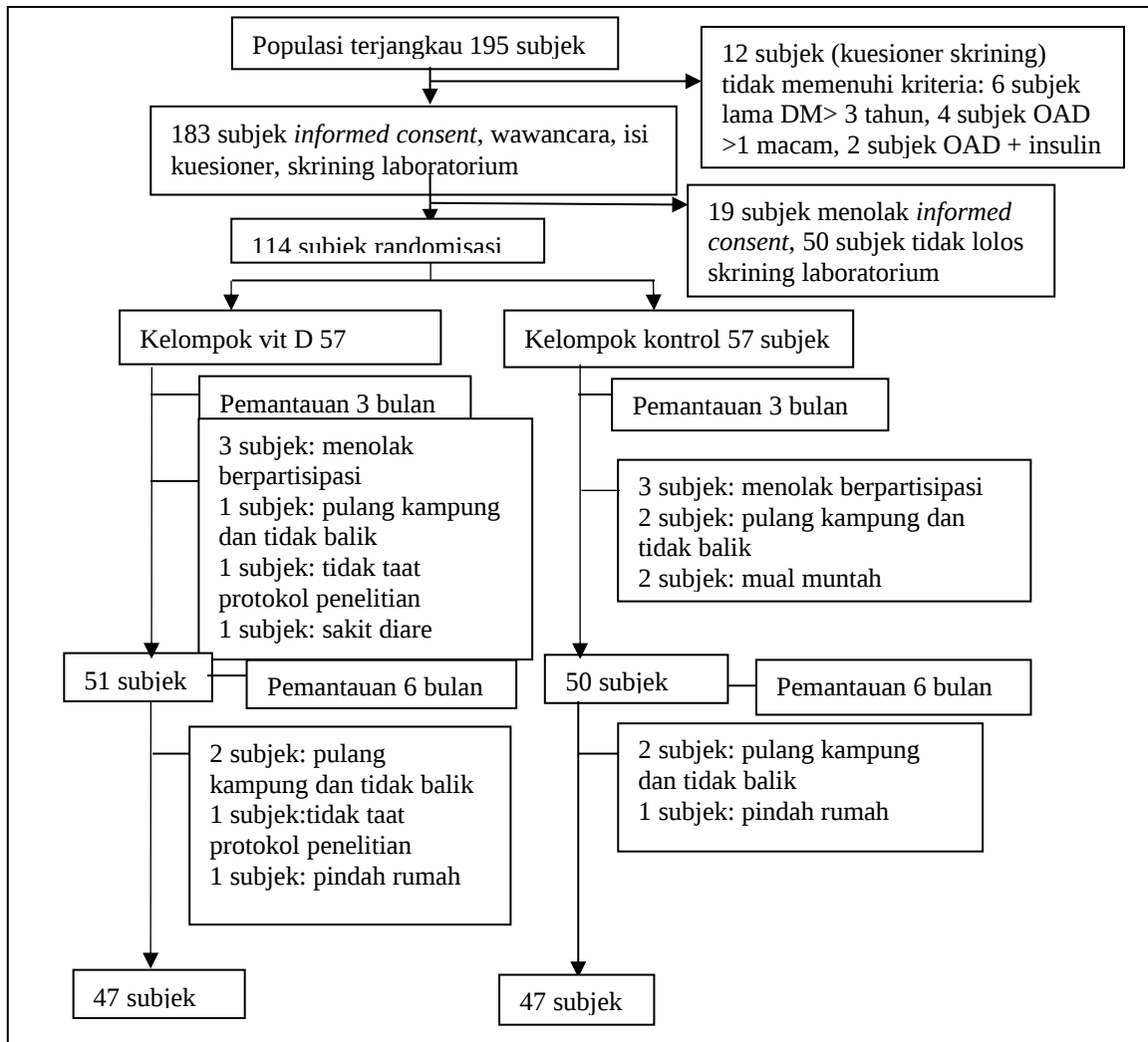
subjek yang ikut berpartisipasi dalam penelitian ini mendapat pengganti transport setiap diadakan pertemuan dan pengambilan darah.

Untuk memenuhi prinsip kedua, calon subjek yang bersedia berpartisipasi pada penelitian ini diberitahukan serta dijelaskan mengenai hasil setiap pemeriksaan yang dilakukan. Identitas dan hasil pemeriksaan dirahasiakan terhadap orang yang tidak berkepentingan.

Untuk memenuhi prinsip keempat, calon subjek yang berpartisipasi pada penelitian ini diberikan penjelasan terlebih dahulu mengenai penelitian ini yang terdiri dari tujuan penelitian, manfaat penelitian, efek samping yang timbul dan bagaimana cara mengatasi efek samping tersebut (Lampiran 1).

BAB 4 HASIL PENELITIAN

4.1 Partisipasi Subjek Penelitian



Gambar 4.1. Alur Partisipasi Subjek dalam Penelitian
OAD:obat anti diabetes

Gambar 4.1. memperlihatkan jumlah subjek yang berpartisipasi dalam penelitian ini sampai selesai. Sampai selesai suplementasi bulan ke-6, responden yang ikut dalam penelitian ini sebanyak 94 subjek, 47 subjek masuk dalam kelompok vitamin D dan 47 subjek masuk dalam kelompok kontrol.

4.2 Data Dasar Subjek Penelitian

4.2.1 Karakteristik Subjek

Karakteristik subjek yang terdiri dari jenis kelamin, usia, tingkat pendidikan, riwayat pekerjaan, IMT, lama menderita DM, obat antidiabetik, kebiasaan berjemur diri, kebiasaan menggunakan baju lengan panjang, dapat dilihat pada Tabel 4.1. Jenis kelamin perempuan lebih banyak dibandingkan laki-laki, baik pada kelompok kontrol maupun kelompok vitamin D. Tidak ada perbedaan bermakna jenis kelamin antara kelompok kontrol dan kelompok vitamin D ($p = 0,441$). Jumlah subjek laki-laki dan perempuan pada kelompok kontrol adalah 11 dan 36, sedangkan pada kelompok vitamin D adalah 8 dan 39.

Usia subjek berkisar antara 35 sampai 80 tahun. Distribusi data usia pada kelompok kontrol dan kelompok vitamin D adalah normal, sehingga data usia ditampilkan dalam rerata dan simpang baku. Pada kelompok kontrol rerata usia dan simpang baku adalah 54 tahun (9,3 tahun) sedangkan pada kelompok vitamin D rerata usia adalah 55,6 tahun dengan simpang baku 9,6 tahun. Tidak ada perbedaan bermakna untuk usia ($p = 0,411$) dan kelompok usia ($p = 0,645$) antara kelompok kontrol dan kelompok vitamin D.

Tingkat pendidikan subjek bervariasi mulai dari tingkat pendidikan rendah, menengah, dan tinggi. Tidak ada perbedaan bermakna tingkat pendidikan antara kelompok kontrol dan kelompok vitamin D ($p = 0,520$).

Riwayat pekerjaan subjek paling banyak adalah tidak bekerja, baik pada kelompok kontrol maupun kelompok vitamin D. Tidak terdapat perbedaan bermakna riwayat pekerjaan antara kelompok kontrol dan kelompok vitamin D ($p = 0,216$).

Tidak terdapat perbedaan bermakna untuk IMT ($p = 0,064$) antara kelompok kontrol dan kelompok vitamin D. Distribusi lama menderita DM berkisar kurang dari 1 tahun sampai 3 tahun. Tidak terdapat perbedaan bermakna lama menderita DM antara kelompok kontrol dan kelompok vitamin D ($p = 0,863$). Obat antidiabetik oral yang paling banyak dikonsumsi oleh subjek pada kelompok kontrol maupun kelompok vitamin D adalah metformin dan obat antidiabetik oral lainnya yang dikonsumsi adalah glibenklamid serta glimepirid. Tidak terdapat perbedaan bermakna untuk obat antidiabetik oral antara kelompok kontrol dan kelompok vitamin D ($p = 0,216$).

Tabel 4.1. Distribusi Karakteristik Subjek pada Awal Penelitian Berdasarkan Kelompok Perlakuan

Karakteristik	Kelompok kontrol (n = 47)	Kelompok vitamin D (n = 47)	p
Usia (tahun)	54 (9)	55 (9)	0,411**
Kelompok usia			
35–60 tahun (n)	33	35	0,645 ^s
61–80 tahun (n)	14	12	
Lama DM (bulan)	12 (1–36) ^{##}	12 (1–36) ^{##}	0,863*
Penggolongan Lama DM			
< 12 bulan (n)	16	16	0,691 ^s
12 bulan (n)	4	2	
>12 bulan (n)	27	29	
Jenis Kelamin			
Laki-laki(n)	11	8	0,441 ^s
Perempuan(n)	36	39	
Tingkat pendidikan			
Rendah (n)	11	21	0,520 ^s
Menengah (n)	12	10	
Tinggi (n)	24	16	
Status pekerjaan			
Tidak bekerja (n)	4	8	0,216 ^s
Bekerja (n)	43	39	
IMT (kg/m²)	27,4 (4,3) [#]	25,8 (4,0) [#]	0,064**
Pengobatan DM			
Metformin (n)	43	39	0,216 ^s
Obat lain (n)	4	8	
Kebiasaan berjemur diri			
Ya (n)	8	7	0,778 ^s
Tidak (n)	39	40	
Kebiasaan penggunaan baju lengan panjang			
Setiap hari (n)	36	38	0,587 ^s
Kadang-kadang (n)	11	9	

Nilai adalah #rerata (simpang baku), ##median (rentang antar kuartil). Nilai p dihitung menggunakan ^suji Chi square, *uji Mann Whitney, **uji T tidak berpasangan.

Untuk kebiasaan berjemur diri terpajan sinar matahari banyak yang tidak berjemur diri baik pada kelompok kontrol maupun kelompok vitamin D. Tidak terdapat perbedaan bermakna untuk kebiasaan berjemur diri antara kelompok kontrol dan kelompok vitamin D (p = 0,778). Untuk kebiasaan penggunaan baju lengan panjang

atau baju tertutup, tidak terdapat perbedaan bermakna kebiasaan penggunaan baju lengan panjang antara kelompok kontrol dan kelompok vitamin D ($p = 0,587$).

4.2.2 Pemeriksaan Laboratorium pada Awal Penelitian

Tabel 4.2. Pengukuran Laboratorium pada Awal Penelitian Berdasarkan Kelompok Perlakuan

Parameter Laboratorium	Kelompok kontrol (n = 47)	Kelompok vitamin D (n = 47)	p
SGPT (U/L)**	16 (6–52)	17 (6–47,7)	0,727 ^{##}
Albumin (g/dL)*	4,5 (0,3)	4,3 (0,3)	0,061 [#]
Kreatinin (mg/dL)*	0,72 (0,16)	0,72 (0,16)	0,958 [#]
Ca darah (mg/dL)*	9,1 (0,4)	9,0 (0,4)	0,353 [#]
25-(OH)D (ng/mL)*	13,07 (5,19)	12,50 (5,28)	0,803 [#]
HbA1c (%)*	8,47 (2,40)	9,18 (3,28)	0,640 [#]
Glukosa darah puasa (mg/dL)*	156 (66,8)	167 (88,1)	0,751 [#]
Insulin (μ U/mL)**	2,3 (0,2–53,9)	2,2 (0,1–25,4)	0,552 ^{##}
HOMA-IR**	1,01 (0,1–26)	1,0 (0,02–8,22)	0,612 ^{##}
SOD (%)*	79,05 (12,23)	78,55 (12,67)	0,847 [#]
IL-6 (%)*	96,83 (3,48)	97,08 (2,26)	0,677 [#]
VDR (%)*	70,53 (17,82)	72,16 (19,37)	0,673 [#]
Ekspresi PDX-1**	0,92 (0,01–13,18) n = 21 ^s	1,98 (0,54–19,97) n = 24 ^s	0,239 ^{##}

* rerata (simpang baku), ** median (rentang antar kuartil),

SGPT: *serum glutamic pyruvic transaminase*, HOMA-IR: *homeostatic model assessment for insulin resistance*, SOD: *superoxide dismutase*, IL-6: *interleukin 6*, VDR: *vitamin D receptor*, PDX-1: *pancreatic and duodenal homeobox 1*, [#]uji T tidak berpasangan, ^{##}uji Mann Whitney. ^sKeterangan: untuk ekspresi PDX-1 n hanya 21 pada kelompok kontrol karena 26 subjek ekspresi PDX-1 tidak terdeteksi; pada kelompok vitamin D hanya ditampilkan ekspresi pada 24 subjek karena 23 subjek ekspresi PDX-1 tidak terdeteksi

Pemeriksaan laboratorium pada awal penelitian dapat dilihat pada Tabel 4.2. Pada kelompok kontrol dan kelompok vitamin D, semua parameter laboratorium pada kelompok kontrol dan kelompok vitamin D tidak memperlihatkan perbedaan bermakna. Tidak adanya perbedaan bermakna untuk semua parameter awal penelitian menunjukkan randomisasi berhasil menyebarkan variabel secara merata pada kedua kelompok.

4.2.3 Asupan Nutrien Subjek pada Awal Penelitian

Data asupan nutrient pada kelompok perlakuan dan kelompok vitamin D, menunjukkan tidak terdapat perbedaan bermakna untuk asupan makanan yang mengandung vitamin D, karbohidrat, lemak, dan protein pada kedua kelompok (Tabel 4.3.).

Tabel 4.3. Asupan Nutrien per Hari pada Awal Penelitian Berdasarkan Kelompok Perlakuan

Jenis nutrien	Kelompok kontrol (n = 47)	Kelompok vitamin D (n = 47)	p*
Vitamin D (µg)	2,41 (0,0–9,0)	1,50 (0,09–12,44)	0,542
Karbohidrat (g)	33,6 (3,3–169)	28,6 (1,3–93,4)	0,219
Protein (g)	31 (7,2–111)	26,1 (3,0–109)	0,172
Lemak (g)	33,9 (6,7–169)	29,6 (2,1–187)	0,110

Nilai adalah median (interquartile). *Uji Mann Whitney.

4.3 Kepatuhan Subjek Penelitian

Kepatuhan subjek penelitian dalam mengonsumsi tablet suplementasi dinilai dengan menghitung jumlah sisa tablet yang dikembalikan di dalam botol setiap akhir bulan. Satu botol suplementasi berisi 30 tablet. Pasca suplementasi 3 bulan sisa tablet yang dikembalikan ada 19 tablet berasal dari 5 subjek, yaitu 1 subjek kelompok vitamin D lupa minum tablet selama 5 hari karena pulang kampung dan lupa membawa botol suplementasi, 1 subjek kelompok vitamin D lupa minum tablet selama 3 hari karena menginap di rumah anaknya dan lupa membawa botol suplementasi, 1 subjek kelompok kontrol lupa minum tablet selama 7 hari karena puasa, 1 subjek kelompok kontrol lupa minum tablet selama 3 hari karena tugas keluar kota dan lupa membawa botol suplementasi, 1 subjek kelompok kontrol lupa minum tablet selama 1 hari. Angka kepatuhan minum tablet pasca suplementasi 3 bulan untuk kelompok vitamin D (51 subjek) adalah 99,8% (4582/4590) dan untuk kelompok kontrol (50 subjek) adalah 99,7% (4489/4500).

Pasca suplementasi 3 bulan sampai 6 bulan terdapat sisa tablet yang dikembalikan ada 8 tablet berasal dari 3 subjek yaitu 1 subjek kelompok vitamin D lupa minum tablet selama 3 hari karena tugas luar kota dan lupa membawa botol suplementasi, 1 subjek kelompok vitamin D lupa minum tablet selama 2 hari, 1 subjek kelompok kontrol lupa minum tablet selama 3 hari karena botol obat tertinggal di rumah anaknya. Angka kepatuhan minum tablet pasca suplementasi 3 bulan sampai 6 bulan untuk kelompok perlakuan (47 subjek) adalah 99,8% (4225/4230) dan untuk kelompok kontrol (47 subjek) adalah 99,9% (4227/4230).

4.4 Kadar 25-(OH)D Pasca Suplementasi

Pasca suplementasi vitamin D selama 3 bulan dan 6 bulan kadar 25-(OH)D pada kelompok kontrol dan kelompok vitamin D menunjukkan perbedaan yang bermakna. Pada analisis menggunakan ANOVA *general linear repeated measurement* terdapat interaksi yang bermakna antara faktor waktu dan faktor kelompok. Pemberian vitamin D terbukti meningkatkan kadar 25-(OH)D lebih tinggi secara bermakna pada kelompok vitamin D dibanding kelompok kontrol (Tabel 4.4.).

Tabel 4.4. Kadar 25-(OH)D pada Awal Penelitian, Pasca Suplementasi 3 dan 6 Bulan

Kadar 25-(OH)D (ng/mL)	Kontrol (n = 47)	Vitamin D (n = 47)	Nilai p
Awal	13,07 (5,19)	12,50 (5,28)	0,000*
Pasca suplementasi 3 bulan	15,73 (7,80)	43,57 (17,14)	
Pasca suplementasi 6 bulan	13,11 (6,09)	38,38 (17,64)	

Nilai adalah rerata (simpang baku). *ANOVA *general linear repeated measurement*.

Faktor waktu menunjukkan pengaruh yang bermakna maka dilakukan analisis *post hoc multiple comparison*. Hasil analisis menunjukkan adanya perbedaan bermakna kadar 25-(OH)D pada faktor waktu yaitu awal penelitian dan pasca suplementasi 3 bulan serta awal penelitian dan pasca suplementasi 6 bulan. Tidak ada perbedaan bermakna antara pasca suplementasi 3 bulan dan pasca suplementasi 6 bulan (Tabel 4.5.).

Tabel 4.5. Analisis Post Hoc Multiple Comparison Selisih Kadar 25-(OH)D Saat Awal, Pasca Suplementasi 3 dan 6 Bulan

Waktu	Selisih kadar 25-(OH)D (Δ mean diff (SE))	p
Awal penelitian-3 bulan	-16,687 (1,639)	0,000
Awal penelitian-6 bulan	-12,965 (1,639)	0,000
3 bulan-6 bulan	3,902 (1,639)	0,054

Δ mean diff: Δ mean difference, SE: standard error. p dihitung menggunakan uji ANOVA multivariat GLM *repeated measurement*

4.5 Pengaruh Suplementasi Vitamin D terhadap HbA1c, Glukosa Darah, Insulin, HOMA-IR Pasca Suplementasi 3 Dan 6 Bulan Berdasarkan Kelompok Perlakuan

Penilaian kontrol glikemik pasca pemberian vitamin D dinilai berdasarkan pemeriksaan kadar HbA1c, glukosa darah, insulin, dan HOMA-IR (Tabel 4.6.).

Tidak terdapat perbedaan bermakna kadar HbA1c dan glukosa darah antara kelompok kontrol dan kelompok vitamin D pada awal, pasca suplementasi 3 bulan dan pasca suplementasi 6 bulan.

Tabel 4.6. Kadar HbA1c, Glukosa, Insulin, HOMA-IR pada Awal Penelitian, Pasca Suplementasi 3 dan 6 Bulan

Parameter glikemik	Saat pengukuran	Kontrol (n = 47)	VitaminD (n = 47)	Nilai p
HbA1c (%)	Awal penelitian	8,47 (2,40)	9,18 (3,28)	0,360*
	Pasca suplementasi 3 bulan	8,41 (3,02)	8,31 (2,77)	
	Pasca suplementasi 6 bulan	8,21 (2,63)	8,34 (2,73)	
Glukosa (mg/dL)	Awal penelitian	156 (66,8)	167 (88,1)	0,296*
	Pasca suplementasi 3 bulan	175 (86,6)	169 (86,4)	
	Pasca suplementasi 6 bulan	177 (84,2)	187 (119,2)	
Insulin (μIU/mL)	Awal penelitian	2,3 (0,2–53,9)	2,2 (0,1–25,4)	0,552 [#]
	Pasca suplementasi 3 bulan	7,0 (0,9–57,8)	6,1 (1,9–16,4)	0,034[#]
	Pasca suplementasi 6 bulan	8,7 (3,4–55,7)	6 (1,9–14,5)	0,013[#]
HOMA-IR	Awal penelitian	1,01 (0,1–26)	1,00 (0,02–8,22)	0,612 [#]
	Pasca suplementasi 3 bulan	2,79 (0,4–31,1)	1,95 (0,6–8,4)	0,033[#]
	Pasca suplementasi 6 bulan	3,22 (0–31,4)	2,28 (0–7,95)	0,031[#]

*ANOVA *general linear repeated measurement*, [#] Uji Mann Whitney.

Pada kelompok kontrol kadar insulin pasca suplementasi 3 dan 6 bulan secara bermakna meningkat lebih tinggi dibandingkan kelompok vitamin D. HOMA-IR pasca suplementasi 3 dan 6 bulan lebih tinggi bermakna pada kelompok kontrol dibandingkan kelompok vitamin D.

4.6 Pengaruh Suplementasi Vitamin D terhadap Ekspresi IL-6, SOD, VDR di Monosit dan Ekspresi PDX-1 Pasca Suplementasi 3 dan 6 Bulan Berdasarkan Kelompok Perlakuan

Analisis ANOVA multivariat GLM *repeated measurement* ekspresi IL-6 antara kelompok vitamin D dan kelompok kontrol menunjukkan adanya perbedaan bermakna pada faktor waktu. Pada awal penelitian, pasca suplementasi 3 bulan dan 6 bulan memperlihatkan ekspresi IL-6 pasca suplementasi 3 bulan pada kelompok vitamin D lebih rendah dibandingkan kelompok kontrol. Hanya faktor waktu yang berperan pada perubahan IL-6. Tidak ada perbedaan bermakna pada faktor kelompok (Tabel 4.7).

Tabel 4.7. Ekspresi IL-6, SOD, VDR pada Awal Penelitian, Pasca Suplementasi 3 dan 6 Bulan

Kelompok	n	Pasca Suplementasi			Nilai p
		0 bulan	3 bulan	6 bulan	
IL-6 (%)					
Kontrol	47	96,83 (3,48)	98,26 (1,34)	86,94 (13,43)	0,000
Vitamin D	47	97,08 (2,26)	97,59 (1,95)	87,23 (13,0)	
SOD (%)					
Kontrol	47	79,05 (12,23)	87,87 (10,39)	77,92 (14,78)	0,000
Vitamin D	47	78,55 (12,67)	83,49 (18,35)	77,22 (16,22)	
VDR (%)					
Kontrol	47	70,53 (17,82)	91,12 (13,80)	38,82 (31,87)	0,000
Vitamin D	47	72,16 (19,37)	84,04 (19,15)	35,03 (30,55)	

Nilai adalah rerata (simpang baku). Nilai p dihitung menggunakan uji ANOVA multivariate GLM *repeated measurement*

Perbedaan antar waktu IL-6 p = 0,000 ; SOD p = 0,000 ; VDR p = 0,000

Perbedaan antar kelompok: IL-6 p = 0,963 ; SOD p = 0,278 ; VDR p = 0,264

Analisis *post hoc multiple comparison* untuk mengetahui antar waktu mana yang berbeda. Hasil analisis menunjukkan ekspresi IL-6 yang berbeda yaitu antara awal penelitian dan pasca suplementasi 6 bulan serta antara pasca suplementasi 3 bulan dan 6 bulan (Tabel 4.8.).

Tabel 4.8. Analisis *Post Hoc Multiple Comparison* Selisih Ekspresi IL-6, SOD, VDR Pasca Suplementasi 3 dan 6 Bulan

Waktu	Δ Mean Diff (SE)	Nilai p
IL-6		
Awal penelitian-3 bulan	- 0,967 (1,149)	1,000
Awal penelitian-6 bulan	9,872 (1,149)	0,000
3 bulan-6 bulan	10,839 (1,149)	0,000
SOD		
Awal penelitian-3 bulan	- 6,884 (2,094)	0,003
Awal penelitian-6 bulan	1,229 (2,094)	1,000
3 bulan-6 bulan	8,113 (2,094)	0,000
VDR		
Awal penelitian-3 bulan	- 16,234 (3,368)	0,000
Awal penelitian-6 bulan	34,423 (3,368)	0,000
3 bulan-6 bulan	50,657 (3,368)	0,000

Δ mean diff: Δ mean difference, SE: standard error. p dihitung menggunakan uji ANOVA multivariat GLM *repeated measurement*

Analisis ANOVA multivariat GLM *repeated measurement* ekspresi SOD antara kelompok vitamin D dan kelompok kontrol menunjukkan adanya perbedaan

bermakna pada faktor waktu. Pada awal penelitian, pasca suplementasi 3 dan 6 bulan terlihat ekspresi SOD pada kelompok vitamin D lebih rendah dibandingkan kelompok kontrol. Hanya faktor waktu yang berperan pada perubahan SOD. Tidak ada perbedaan bermakna pada faktor kelompok (Tabel 4.7.). Hasil analisis *post hoc multiple comparison* menunjukkan ekspresi SOD yang berbeda yaitu awal penelitian dan pasca suplementasi 3 bulan serta pasca suplementasi 3 bulan dan 6 bulan (Tabel 4.8.).

Analisis ANOVA multivariat GLM *repeated measurement* ekspresi VDR antara kelompok vitamin D dan kelompok kontrol menunjukkan adanya perbedaan bermakna pada faktor waktu. Pada awal penelitian, pasca suplementasi 3 bulan dan 6 bulan memperlihatkan ekspresi VDR pasca suplementasi 3 dan 6 bulan pada kelompok vitamin D lebih rendah dibandingkan kelompok kontrol. Hanya faktor waktu yang berperan pada perubahan VDR. Tidak ada perbedaan bermakna pada faktor kelompok (Tabel 4.7.). Hasil analisis *post hoc multiple comparison* menunjukkan bahwa ekspresi VDR yang berbeda yaitu pada awal penelitian dan pasca suplementasi 3 bulan, pada awal penelitian dan pasca suplementasi 6 bulan serta pada pasca suplementasi 3 bulan dan 6 bulan (Tabel 4.8.).

Tabel 4.9. Ekspresi PDX-1 pada Awal Penelitian, Pasca Suplementasi 3 dan 6 Bulan

Waktu	Ekspresi PDX-1		P
	Kontrol (n=21)	VitaminD (n=24)	
Awal	0,92 (0,01–13,18)	1,98 (0,54–19,97)	0,239
Pasca suplementasi 3 bulan	0,71 (0,04–2,38)	1,60 (0,06–12,55)	0,464
Pasca suplementasi 6 bulan	0,45 (0,01–7,16)	0,54 (0,29–12,38)	0,499

p diuji menggunakan test Mann Whitney

Keterangan: 26 subjek pada kelompok kontrol dan 23 subjek pada kelompok vitamin D, ekspresi PDX-1 *no detected*

Ekspresi PDX-1 awal penelitian pada kelompok vitamin D tidak berbeda bermakna dengan kontrol. Pasca 3 dan 6 bulan suplementasi juga tidak didapatkan perbedaan bermakna ekspresi PDX-1 antara kelompok kontrol dan kelompok vitamin D (Tabel 4.9.).

4.7 Adverse Event Selama Suplementasi

Untuk memantau adanya *adverse event* dilakukan pemeriksaan laboratorium SGPT dan albumin untuk fungsi hati, kreatinin untuk fungsi ginjal, dan kalsium darah untuk mengetahui adanya hiperkalsemia.

Sebagian besar subjek penelitian baik kelompok vitamin D maupun kelompok kontrol tidak mempunyai keluhan. Pada kelompok vitamin D terdapat keluhan nyeri telapak tangan sebanyak 2 subjek, keluhan pegal-pegal sebanyak 3 subjek; namun pada evaluasi 6 bulan pasca suplementasi keluhan pegal-pegal menghilang. Pada kelompok kontrol terdapat keluhan gatal di telapak tangan sebanyak 1 subjek, keluhan kesemutan di tangan sebanyak 1 subjek. Tidak ada subjek penelitian yang *drop out* karena alasan klinis.

Tidak terdapat perbedaan bermakna kadar SGPT, albumin, kreatinin dan kalsium antara kelompok vitamin D dan kelompok kontrol pada pemantauan pasca suplementasi 3 bulan dan 6 bulan (Tabel 4.10.). Hal ini menunjukkan pemberian suplementasi baik vitamin D dan plasebo tidak menimbulkan efek yang merugikan bagi hati dan ginjal.

**Tabel 4.10. Hasil Pemeriksaan Laboratorium Pasca Suplementasi
3 dan 6 Bulan**

Parameter	Kelompok kontrol (47)	Kelompok vitamin D (47)	p
3 bulan			
SGPT (U/L)**	8 (6–30)	8 (6–29)	0,653 ^{##}
Albumin (g/dL)*	3,2 (0,4)	3,1 (0,4)	0,302 [#]
Kreatinin (mg/dL)*	0,65 (0,18)	0,65 (0,17)	0,953 [#]
Ca darah (mg/dL)*	9,6 (0,4)	9,6 (0,4)	0,778 [#]
6 bulan			
SGPT (U/L)**	17 (8–62)	18 (7–50,7)	0,658 ^{##}
Albumin (g/dL)*	4,2 (0,3)	4,2 (0,4)	0,847 [#]
Kreatinin (mg/dL)*	0,73 (0,16)	0,72 (0,16)	0,808 [#]
Ca darah (mg/dL)*	9,0 (0,5)	9,1 (0,6)	0,478 [#]

*nilai rerata (simpang baku) ** median (rentang antar kuartil),

SGPT : *serum glutamic pyruvic transaminase*. Nilai p dihitung menggunakan [#]uji T tidak berpasangan, ^{##} uji Mann Whitney,.

4.8 Asupan Nutrien Selama Suplementasi

Tabel 4.11. Asupan Nutrien per Hari Pasca Suplementasi 3 dan 6 Bulan

Asupan nutrient	Kelompok kontrol (47)	Kelompok vitamin D (47)	p
3 bulan			
Vitamin D (µg)	1,71 (0,0–16,8)	2,34 (0,1–39)	0,615
Karbohidrat (g)	28,9 (2,8–201,5)	28,3 (2,4–209,8)	0,853
Protein (g)	26,4 (4,3–101)	24,9 (2,7–75,4)	0,634
Lemak (g)	15,9 (3,3–89,3)	14,0 (1,4–56)	0,237
6 bulan			
Vitamin D (µg)	1,23 (0,1–12,4)	1,67 (0,0–12,17)	0,226
Karbohidrat (g)	35,6 (3,3–109)	35,9 (6,6–207)	0,356
Protein (g)	28,6 (4,1–92)	34,1 (7,4–96,7)	0,206
Lemak (g)	21,6 (2,8–68,8)	22,1 (0,6–67,9)	0,630

Nilai adalah median (rentang antar kuartil). Nilai p dihitung menggunakan uji Mann Whitney.

Tidak ada perbedaan bermakna antara kelompok vitamin D dan kelompok kontrol pada asupan makanan yang mengandung vitamin D pada awal penelitian, pasca suplementasi 3 dan 6 bulan menunjukkan. Hal ini menunjukkan asupan makanan selama pemberian suplementasi umumnya sama (Tabel 4.11.).

BAB 5 PEMBAHASAN

5.1 Validitas Penelitian

Validitas suatu penelitian dapat diartikan sejauh mana kesimpulan penelitian dapat terjamin dengan melihat metode penelitian, keterwakilan sampel penelitian dan darimana populasi penelitian diambil. Validitas penelitian terdiri dari dua jenis yaitu validitas internal dan validitas eksternal.¹³³

Validitas internal meliputi kesalahan bias (kesalahan sistematis) dan kesalahan acak (kesalahan statistik). Sumber kesalahan bias pada uji klinis antara lain adalah bias seleksi, *performance bias*, *detection bias*. Untuk mengeliminasi bias seleksi dilakukan randomisasi untuk membuat kelompok kontrol yang semirip mungkin dengan kelompok perlakuan. Untuk meminimalkan *performance bias* dan *detection bias* dilakukan *blinding*. Pada penelitian ini dilakukan *double blinding* yaitu subjek penelitian dan semua pengumpul data tidak mengetahui tablet atau obat yang diberikan.¹³³

Validitas internal pada penelitian ini terlihat pada hasil perbandingan karakteristik subjek yang ikut penelitian sampai selesai (kelompok penelitian/*non drop out*) dan kelompok subjek *drop out* (kelompok *drop out*) meliputi data distribusi karakteristik subjek penelitian, data pengukuran laboratorium, data asupan nutrisi. Data distribusi antara kelompok penelitian dan kelompok *drop out* tidak terdapat perbedaan bermakna (Lampiran 13). Hal ini menunjukkan bahwa hasil penelitian yang didapat dari subjek yang bisa menyelesaikan penelitian dapat digeneralisasikan untuk subjek terpilih yaitu penyandang DM tipe 2 di Puskesmas Kecamatan Mampang yang ikut dalam penelitian.

Validitas eksternal merupakan kemampuan hasil uji klinis memberikan dasar yang benar untuk dapat digeneralisasikan terhadap keadaan klinis di populasi.¹³³

5.2 Pembahasan Umum

Pada penelitian ini didapatkan jenis kelamin perempuan lebih banyak dibandingkan laki-laki serta rerata usia 54–55 tahun dan paling banyak pada kelompok usia 35–60 tahun (Tabel 4.1.). Data penelitian ini serupa dengan yang ditemukan Mihardja dkk.¹ yang melaporkan bahwa DM lebih banyak diderita oleh perempuan dengan

bertambahnya usia dan IMT. Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) 2018 menemukan prevalensi DM lebih tinggi pada perempuan dibanding laki-laki dengan perbandingan 1,78:1,21 dan pada 5 tahun terakhir prevalensi perempuan menunjukkan adanya peningkatan.⁵

Usia lanjut merupakan risiko untuk terjadinya DM karena berhubungan dengan penurunan fungsi pankreas sehingga insulin yang dihasilkan kurang efektif.¹ Secara global prevalensi DM pada perempuan dan laki-laki sama tetapi sedikit lebih tinggi pada laki-laki usia < 60 tahun dan perempuan usia lanjut. Di negara berkembang mayoritas penyandang DM berada pada rentang usia 45–64 tahun.³ Berdasarkan pusat data informasi Kementerian Kesehatan Republik Indonesia (RI) tahun 2020, terdapat peningkatan prevalensi DM seiring dengan bertambahnya usia penyandang yang mencapai puncaknya pada usia 55–64 tahun.⁵

Pada penelitian ini didapatkan penyandang DM lebih banyak dengan tingkat pendidikan tinggi daripada tingkat pendidikan rendah. Hal ini sejalan dengan hasil Riskesdas 2013 dan 2018 bahwa proporsi penyandang DM dengan tingkat pendidikan universitas atau akademi mempunyai proporsi tertinggi sebesar 2,5% dan 2,8%. Hal ini dikaitkan dengan gaya hidup seperti berkurangnya aktivitas olahraga dan sering mengonsumsi makanan cepat saji.⁵

Pada penelitian ini didapatkan adanya defisiensi vitamin D pada subjek penelitian. Rerata kadar 25-(OH)D adalah 10,5 ng/mL pada kelompok vitamin D dan 12,2 ng/mL pada kelompok kontrol. Defisiensi vitamin D ini kemungkinan berhubungan dengan kebiasaan kurang berjemur diri untuk terpajan sinar matahari dan kebiasaan menggunakan baju lengan panjang serta kurangnya asupan makanan yang mengandung vitamin D. Sebagian besar subjek penelitian tidak mempunyai kebiasaan berjemur diri serta mempunyai kebiasaan hampir setiap hari menggunakan baju lengan panjang (Tabel 4.1.). Defisiensi vitamin D dapat disebabkan oleh beberapa hal antara lain proses sintesis yang menurun, asupan yang berkurang, malabsorpsi, dan peningkatan degradasi 25-(OH)D. Dari semua penyebab tersebut penurunan sintesis vitamin D yang paling berpengaruh yang disebabkan karena kurangnya pajanan sinar matahari. Cara berpakaian yang tertutup, penggunaan tabir surya dan kurang aktivitas di luar ruangan menjadi penyebab kurangnya pajanan sinar matahari. Warna kulit yang

bertambah gelap dapat menyebabkan menurunnya sintesis vitamin D karena penetrasi sinar UV berkurang terhalang oleh melanin.^{28, 79, 87}

Penelitian Kanakaraju dkk.⁹¹ di India mendapatkan bahwa prevalensi defisiensi vitamin D 95%, 58% insufisiensi dan 37% defisiensi berat. India sama seperti Indonesia yaitu negara tropis tetapi defisiensi vitamin D masih banyak ditemukan meskipun banyak sinar matahari.

Asupan gizi vitamin D juga rendah yaitu hanya 2,41 µg/hari pada kelompok kontrol dan 1,50 µg/hari pada kelompok vitamin D (Tabel 4.3.). Menurut rekomendasi IOM asupan gizi vitamin D 15 µg/hari untuk usia 31–70 tahun baik perempuan maupun laki-laki sedangkan untuk perempuan dan laki-laki usia >70 tahun 20 µg/hari.²⁸ Malnutrisi dan defisiensi protein juga menyebabkan penurunan *vitamin D binding protein* di dalam darah sehingga mengurangi kemampuan tubuh untuk mengonversi 25-(OH)D.¹³⁴

5.3 Manfaat Suplementasi Vitamin D terhadap Kadar 25-(OH)D pada Penyandang DM Tipe 2

Pada penelitian ini didapatkan adanya perbedaan bermakna kadar 25-(OH)D antara kelompok kontrol dan kelompok vitamin D pasca suplementasi 3 dan 6 bulan. Terdapat peningkatan kadar 25-(OH)D pada kelompok vitamin D pasca suplementasi 3 dan 6 bulan. Peningkatan kadar 25-(OH)D pada kelompok vitamin D masih dalam batas normal atau sufisiensi. Terdapat peningkatan kadar 25-(OH)D sebesar tiga kali dari kadar 25-(OH)D awal pada kelompok vitamin D pasca suplementasi 3 bulan, tetapi kadar 25-(OH)D cenderung hampir sama atau sedikit menurun pasca suplementasi 6 bulan. Hasil ini sama seperti penelitian Chandler dkk.¹³⁵ terhadap populasi Afrika Amerika yang diberikan suplementasi vitamin D3 1000 IU, 2000 IU, 4000 IU setiap hari selama 6 bulan, didapatkan adanya peningkatan kadar 25-(OH)D pasca suplementasi 3 bulan dan penurunan kadar 25-(OH)D pasca 6 bulan suplementasi pada semua kelompok dosis vitamin D.

Terdapatnya peningkatan kadar 25-(OH)D pasca suplementasi 3 bulan menunjukkan adanya kepatuhan subjek dalam mengonsumsi tablet suplementasi. Luttmann-Gibson dkk.¹³⁶ menyatakan bahwa efektivitas suplementasi dalam meningkatkan konsentrasi 25-(OH)D tergantung pada konsentrasi awal 25-(OH)D.

Respons 25-(OH)D yang kuat terhadap suplementasi vitamin D terjadi jika konsentrasi 25-(OH)D awal rendah.

Suplementasi vitamin D juga dapat menginduksi eliminasi 25-(OH)D khususnya pada konsentrasi 25-(OH)D awal yang tinggi. Konsentrasi VDBP yang rendah juga berhubungan dengan berkurangnya respons 25-(OH)D terhadap suplementasi.¹³⁷ Hal ini terlihat pada penelitian ini yaitu pasca suplementasi 3 bulan kadar 25-(OH)D meningkat karena kadar 25-(OH)D awal yang sangat rendah tetapi pada pasca suplementasi 6 bulan sudah tidak ada peningkatan atau menetap. Penurunan atau menetapnya kadar 25-(OH)D pasca suplementasi 6 bulan pada penelitian ini kemungkinan karena kadar 25-(OH)D di dalam darah pasca suplementasi 3 bulan sudah cukup sehingga pemberian suplementasi sudah kurang efisien dan memberikan respons yang lambat.

Pada penelitian ini tidak diketahui kapan kadar 25-(OH)D antara awal penelitian dan pasca suplementasi mencapai kadar yang tertinggi karena pengukuran kadar 25-(OH)D hanya dilakukan pada awal penelitian, pasca suplementasi 3 dan 6 bulan. Peningkatan kadar 25-(OH)D dalam darah selama suplementasi mengikuti kurva bifasik yaitu peningkatan respons yang cepat pada keadaan konsentrasi 25-(OH)D yang sangat kurang dan respons menjadi lambat ketika konsentrasi 25-(OH)D sudah lebih tinggi.¹³⁸

Kurva bifasik juga ditunjukkan pada penelitian Rahme dkk.¹³⁹ Kelompok vitamin D yang diberikan vitamin D 3 600 IU per hari selama 12 bulan menunjukkan peningkatan dalam 6 bulan pertama, selanjutnya stabil pada kadar 25-(OH)D sekitar 36 ng/mL. Menurut Heaney dkk.¹³⁸ ketika konsentrasi vitamin D di sirkulasi rendah maka vitamin D yang disimpan akan dilepaskan secara perlahan dan dikonversi menjadi 25-(OH)D. Respons 25-(OH)D terhadap suplementasi vitamin D bisa bervariasi antar individu. Variasi antar individu bisa berupa umur, berat badan, kadar 25-(OH)D awal.¹³⁷ Vitamin D merupakan vitamin yang larut dalam lemak. Asam lemak rantai panjang dapat mengganggu penyerapan vitamin D.¹⁴⁰

Pada penelitian ini, pada kelompok kontrol juga terdapat peningkatan kadar 25-(OH)D. Hal ini sama seperti penelitian Jehle dkk.¹⁴¹ pada penyandang DM tipe 2 lebih dari 10 tahun yang diberikan vitamin D3 300.000 IU intramuskular selama 6

bulan, menunjukkan adanya peningkatan kadar 25-(OH)D pasca suplementasi 3 dan 6 bulan pada kelompok plasebo dan kelompok vitamin D. Hal ini kemungkinan disebabkan efek pajanan sinar matahari karena penelitian dilakukan selama musim panas dan musim semi yang membuat kelompok kontrol mengalami peningkatan 25-(OH)D secara spontan. Penelitian Von Hurst dkk.³⁴ pada perempuan Asia Selatan usia 23–68 tahun yang diberikan vitamin D3 4.000 IU selama 6 bulan menunjukkan adanya peningkatan kadar 25-(OH)D pasca suplementasi baik pada kelompok plasebo maupun kelompok vitamin D, kemungkinan disebabkan adanya pajanan sinar matahari secara kebetulan karena penelitian dilakukan pada musim panas.³⁴ Kadar 25-(OH)D digunakan sebagai indikator penilaian vitamin D karena mempunyai waktu paruh yang panjang di dalam darah yaitu dua sampai tiga minggu.¹³⁷

5.4 Pengaruh Suplementasi Vitamin D terhadap SOD pada Penyandang DM Tipe 2

Pada penelitian ini terdapat peningkatan ekspresi SOD pada kelompok vitamin D dan kelompok kontrol pasca suplementasi 3 bulan, sedangkan pasca suplementasi 6 bulan terdapat penurunan ekspresi SOD pada kelompok kontrol dan kelompok vitamin D. Adanya peningkatan ekspresi SOD pada kelompok vitamin D pasca suplementasi 3 bulan menunjukkan vitamin D dapat meningkatkan SOD karena vitamin D dapat menginduksi ekspresi beberapa molekul yang terlibat dalam sistem pertahanan antioksidan termasuk SOD²⁴, sedangkan peningkatan SOD pada kelompok kontrol mekanismenya belum diketahui. Menurunnya ekspresi SOD pada suplementasi 6 bulan pada kelompok vitamin D kemungkinan disebabkan ekspresi SOD yang cukup pasca suplementasi 3 bulan.

Pada DM tipe 2 tahap awal, pertahanan antioksidan dapat melawan efek peningkatan radikal bebas sehingga kemungkinan aktivitas enzim antioksidan meningkat sebagai reaksi kompensasi terhadap adanya stres oksidatif. Akan tetapi pada tahap lanjut keseimbangan antara radikal bebas dan pertahanan antioksidan menurun akibat penurunan aktivitas antioksidan karena terjadi deplesi. SOD merupakan garis pertahanan pertama dalam melawan radikal bebas sehingga diharapkan aktivitas enzim SOD dapat melawan stres oksidatif lebih dahulu sebelum aktivitas enzim antioksidan yang lain.¹¹⁵

Terdapat beberapa penelitian pro dan kontra mengenai pemberian vitamin D terhadap aktivitas enzim antioksidan pada DM. Penelitian Saedisomeolia dkk.¹⁴² memperlihatkan hubungan terbalik antara kadar 25-(OH)D dan aktivitas SOD pada penyandang DM. Penelitian Ati Abdel dkk.¹⁴³ terhadap tikus DM tipe 2 yang diberikan suplementasi vitamin D 1.000 IU dan 2.000 IU menunjukkan terdapat penurunan bermakna pada TNF- α dan NF κ B serta peningkatan SOD. Penelitian Safarpour dkk.¹¹⁶ terhadap penyandang DM tipe 2 dengan insufisiensi dan defisiensi vitamin D yang diberikan suplementasi vitamin D 50.000 IU selama 8 minggu, menunjukkan adanya peningkatan aktivitas SOD. Penelitian Nikooyeh dkk.¹⁴⁴ terhadap penyandang DM tipe 2 usia 30–50 tahun yang diberikan minuman yoghurt, yoghurt difortifikasi vitamin D 1.000 IU, yoghurt difortifikasi vitamin D 1.000 IU dan kalsium 500 mg selama 12 minggu menunjukkan penurunan kadar SOD bermakna pada kelompok yoghurt tanpa fortifikasi. Penelitian Shab Bidar dkk.¹¹² terhadap penyandang DM tipe 2 yang diberikan yoghurt fortifikasi vitamin D 500 IU dua kali sehari selama 12 minggu menunjukkan vitamin D tidak memengaruhi konsentrasi SOD. Penelitian Yiu dkk.¹⁴⁵ terhadap penyandang DM tipe 2 yang diberikan suplementasi vitamin D 5.000 IU setiap hari selama 12 minggu menunjukkan tidak ada efek perbaikan SOD. Hal ini menunjukkan dosis dan lama suplementasi vitamin D memberikan hasil yang berbeda terhadap SOD. Individu yang heterogen dan gambaran stres oksidatif yang berbeda tiap individu kemungkinan bisa menjadi faktor yang memengaruhi efektivitas vitamin D terhadap SOD. Mengenai hal ini perlu dilakukan penelitian lebih lanjut.

Peningkatan SOD selama inflamasi merupakan mekanisme pertahanan selular untuk menonaktifkan ROS yang dihasilkan secara berlebihan.¹¹² Aksi antioksidan vitamin D melalui penghambatan peroksidasi lipid dan perbaikan pertahanan antioksidan. Vitamin D juga berfungsi sebagai antioksidan membran sel.^{115, 146, 147} Ada beberapa hal yang menyebabkan kapasitas antioksidan di serum atau jaringan pada penyandang DM tipe 2 tidak konsisten yaitu sulit untuk menilai kapasitas antioksidan pada jaringan yang sensitif insulin seperti jaringan adiposa. Obat antidiabetik oral sudah mempunyai efek antioksidan sehingga bisa menutupi efek pemberian vitamin dan antioksidan alami pada penyandang DM tipe 2.¹⁴⁸

Heterogenitas populasi, variabilitas jenis suplementasi, dosis yang berbeda, lama intervensi kemungkinan dapat menyebabkan hasil atau efek yang berbeda.¹⁴⁹

5.5 Pengaruh Suplementasi Vitamin D terhadap IL-6 pada Penyandang DM Tipe 2

Pada penelitian ini didapatkan ekspresi IL-6 di awal, pasca suplementasi 3 dan 6 bulan terlihat hampir sama antara kelompok kontrol dan kelompok vitamin D. Pasca suplementasi 3 bulan terdapat peningkatan ekspresi IL-6 pada kelompok vitamin D dan kelompok kontrol, sedangkan pasca suplementasi 6 bulan terjadi penurunan ekspresi IL-6 pada kedua kelompok. Hal ini menunjukkan bahwa vitamin D memberikan efek terhadap IL-6 pasca suplementasi 6 bulan. Kurangnya efektivitas vitamin D terhadap IL-6 kemungkinan karena DM tipe 2 merupakan suatu peradangan sistemik tingkat rendah sehingga efek vitamin D kurang menonjol.¹⁵⁰

Penelitian Pasupuleti dkk.¹⁵¹ pada penyandang DM tipe 2 dan defisiensi vitamin D yang diberikan vitamin D 2.000 IU per hari selama 6 bulan menunjukkan adanya penurunan kadar IL-6. Penelitian Akbarzadeh dkk.¹⁵⁰ terhadap penyandang DM tipe 2 yang diberikan 0,25 µg 1,25(OH)₂D selama 3 bulan menunjukkan tidak ada perbedaan bermakna kadar IL-6 antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Penelitian Hikim dkk.¹⁵² terhadap penyandang prediabetes defisiensi vitamin D yang diberikan vitamin D 85.300 IU setiap minggu selama 1 tahun menunjukkan tidak ada efek terhadap IL-6.

Perbedaan hasil pada penelitian ini dibandingkan penelitian lain bahwa IL-6 pada penelitian ini diukur pada monosit sedangkan penelitian lain mengukur kadar IL-6 di dalam darah. Perbedaan metode cara pengukuran dan bahan pemeriksaan kemungkinan juga akan memengaruhi perbedaan hasil. Monosit dari penyandang DM tipe 2 mempunyai profil proinflamasi dan mengekspresikan IL-6 lebih tinggi dibanding monosit dari penyandang DM tipe 1.¹²⁴ Vitamin D setelah berikatan dengan VDR akan menekan TNF-α yang menginduksi aktivasi NFκB sehingga mencegah inflamasi lebih lanjut.¹⁵¹ Vitamin D juga mengaktifkan protein penghambat NFκB, yang berperan pada penurunan kadar CRP dan proinflamasi lainnya, serta mungkin menekan produksi IL-6.¹⁰⁸

5.6 Pengaruh Suplementasi Vitamin D terhadap PDX-1 pada Penyandang DM Tipe 2

Pada penelitian ini ekspresi PDX-1 yang dapat terdeteksi dalam darah didapatkan sebanyak 45 dari 94 subjek (21 subjek kelompok kontrol dan 24 subjek kelompok vitamin D). Hal ini kemungkinan karena ekspresi PDX-1 yang terlalu rendah. Ekspresi PDX-1 tinggi dalam sel beta pankreas tetapi dalam penelitian ini data ekspresi PDX-1 tidak didapatkan dari pankreas, melainkan dari darah. Namun demikian terdapat sejumlah data ekspresi PDX-1 di dalam darah pada penyandang DM seperti penelitian Santana dkk.¹⁵³, Li Zheng dkk.⁷⁴, dan Wang dkk.¹⁵⁴ sehingga dapat digunakan sebagai pembanding dalam penelitian ini. Mekanisme terdapatnya ekspresi PDX-1 di dalam darah pada penyandang DM kemungkinan disebabkan pada DM terjadi apoptosis atau kehilangan sel beta yang progresif dan sel beta yang mengalami apoptosis dilepaskan ke sirkulasi perifer. Pada DM juga terdapat penurunan ekspresi PDX-1 di sel beta pankreas akibat adanya stres oksidatif, hal ini mengakibatkan ekspresi PDX-1 yang terdeteksi di darah juga akan menurun.^{23, 155} Tetapi hal ini masih memerlukan penelitian yang lebih mendalam.

Pada penelitian ini didapatkan ekspresi PDX-1 pasca suplementasi 3 dan 6 bulan tidak berbeda bermakna antara kelompok kontrol dan kelompok vitamin D. Pasca suplementasi 3 dan 6 bulan terdapat penurunan ekspresi RNA PDX-1 pada kelompok kontrol dan kelompok vitamin D. Menurunnya ekspresi PDX-1 pada kelompok kontrol kemungkinan disebabkan pemberian plasebo yang tidak mempunyai efek antioksidan dan enzim antioksidan pada sel beta pankreas yang jumlahnya sedikit. Menurunnya ekspresi PDX-1 pada kelompok vitamin D kemungkinan disebabkan efek antioksidan vitamin D belum optimal. Tetapi bila dilihat antara kelompok kontrol dan kelompok vitamin D pasca suplementasi 3 dan 6 bulan terdapat peningkatan ekspresi PDX-1 pada kelompok vitamin D dibandingkan kelompok kontrol. Hal ini menunjukkan adanya efek vitamin D walaupun belum optimal dalam memperbaiki ekspresi PDX-1.

Penelitian Santana dkk.¹⁵³ terhadap ekspresi PDX-1 dalam serum perempuan penyandang diabetes gestasional didapatkan ekspresi PDX-1 cenderung lebih rendah dibandingkan kehamilan normal. Penelitian Wang dkk.¹⁵⁴ mengenai ekspresi PDX-1 dalam darah penyandang DM tipe 2 populasi Cina Han didapatkan

ekspresi PDX-1 cenderung rendah pada penyandang T2DM dibandingkan populasi sehat walaupun perbedaan tidak bermakna.

Pada penelitian ini didapatkan tidak ada korelasi bermakna antara kadar insulin dengan ekspresi PDX-1 pasca suplementasi 3 dan 6 bulan pada kelompok vitamin D (Lampiran 14). Hal ini kemungkinan disebabkan bahwa berkurangnya ekspresi PDX-1 dapat dikompensasi oleh faktor transkripsi lain untuk menjaga stabilitas ekspresi gen insulin serta mempertahankan kadar insulin di pankreas. Faktor transkripsi lain yaitu *mammalian transcription factor A* (MafA). MafA berperan dalam mengaktifkan transkripsi insulin.⁷¹

Pada penelitian ini tidak ditemukan korelasi bermakna antara ekspresi PDX-1 dan kadar glukosa darah pasca suplementasi 3 dan 6 bulan pada kelompok vitamin D (Lampiran 14). Hal ini kemungkinan disebabkan glukosa darah tidak secara langsung berhubungan dengan ekspresi PDX-1 dan glukosa darah dipengaruhi oleh banyak faktor seperti pola makan dan aktivitas fisik. Hal ini serupa ditemukan pada penelitian Santana dkk.¹⁵³ terhadap perempuan diabetes gestasional bahwa tidak terdapat korelasi bermakna antara kadar glukosa dengan gen PDX-1 ($R^2 = -0,072$, $p = 0,666$).

5.7 Pengaruh Suplementasi Vitamin D terhadap HbA1c, Glukosa Darah, Insulin, dan HOMA-IR pada Penyandang DM Tipe 2

Pada penelitian ini didapatkan tidak ada perbedaan bermakna kadar glukosa darah dan HbA1c pada kelompok kontrol dan kelompok vitamin D pasca suplementasi 3 dan 6 bulan. Hasil penelitian ini berbeda dengan penelitian Bhosle dkk.¹⁵⁶ pada penyandang DM tipe 2 usia 30–60 tahun yang mendapatkan suplementasi 60.000 IU seminggu sekali selama 2 bulan dan dilanjutkan sebulan sekali selama 4 bulan didapatkan kadar glukosa darah dan HbA1c pada kelompok suplementasi vitamin D dan kelompok kontrol menurun bermakna pasca suplementasi 3 dan 6 bulan. Hasil penelitian ini juga berbeda dengan penelitian Ibrahim dkk.¹⁵⁷ terhadap penyandang DM tipe 2 usia lebih dari 18 tahun yang mendapatkan suplementasi vitamin D 2.000 IU selama 3 bulan didapatkan perbaikan glukosa darah puasa. Perbedaan ini kemungkinan disebabkan adanya perbedaan lama waktu pemberian suplementasi.

Vitamin D memengaruhi sekresi insulin secara tidak langsung melalui pengaturan homeostasis kalsium intraselular sehingga efek vitamin D terhadap kadar glukosa juga dipengaruhi oleh kadar kalsium serum seseorang. Kalsium berperan penting dalam pengaturan kadar glukosa di darah.¹⁰⁵ Kadar kalsium juga memengaruhi HbA1c. Penelitian Hasan dkk.¹⁵⁸ memperlihatkan adanya peningkatan HbA1c disertai penurunan bermakna kadar kalsium pada penyandang DM tipe 2. Konsentrasi kalsium dalam sirkulasi dikontrol oleh hormon paratiroid dan vitamin D. Penurunan kadar kalsium serum pada penyandang DM tipe 2 mengakibatkan hiperkalsiuria. Adanya hiperkalsiuria merangsang hormon paratiroid untuk mempertahankan kadar kalsium serum. Hormon paratiroid juga memediasi metabolisme glukosa.¹⁵⁸

Pada penelitian ini, kelompok kontrol mendapatkan plasebo berisi kalsium yang kemungkinan dapat memengaruhi kadar glukosa darah dan HbA1c sehingga kadar glukosa darah dan HbA1c pada kelompok kontrol dan kelompok vitamin D tidak ada perbedaan. Pada penelitian ini tidak dilakukan pengukuran kalsium intraselular dan ekstraselular serta hormon paratiroid sehingga tidak dapat dinyatakan dengan jelas peran kalsium terhadap glukosa darah dan HbA1c.

Penelitian Kumar dkk.¹⁵⁹ terhadap penyandang DM tipe 2 usia 35–60 tahun yang diberikan vitamin D 800 IU dan metformin 1000 mg per hari selama tiga bulan tidak menunjukkan dampak vitamin D terhadap penurunan glukosa darah dan HbA1c pada kelompok vitamin D. Penelitian Randhawa dkk.¹⁶⁰ terhadap penyandang DM tipe 2 yang diberikan metformin 500 mg dan vitamin D 200.000 IU setiap bulan selama tiga bulan menunjukkan adanya perbaikan kontrol glikemik tetapi penurunan HbA1c secara statistik tidak bermakna antara kelompok kontrol dan kelompok vitamin D. Hal ini menunjukkan bahwa metformin tidak memengaruhi perubahan status vitamin D dan defisiensi vitamin D tidak menjadi masalah pada penyandang DM tipe 2 yang diberikan metformin.^{161, 162}

Pada penelitian ini didapatkan adanya perbedaan bermakna untuk kadar insulin dan HOMA-IR pada kelompok kontrol dan kelompok vitamin D pasca suplementasi 3 dan 6 bulan. Kadar insulin dan HOMA-IR menurun pada kelompok vitamin D dibandingkan kelompok kontrol pasca suplementasi 3 dan 6 bulan, tetapi bila dibandingkan dengan keadaan awal maka HOMA-IR pada kelompok vitamin D dan

kelompok kontrol meningkat pasca suplementasi 3 dan 6 bulan. Meskipun begitu HOMA-IR pada kelompok vitamin D lebih rendah dibandingkan kelompok kontrol. Hal ini menunjukkan adanya perbaikan terhadap resistensi insulin pada kelompok vitamin D.

Pada penelitian ini kadar glukosa dan insulin mengalami peningkatan pasca suplementasi 3 dan 6 bulan pada kelompok vitamin D dan kelompok kontrol. Hal ini sama seperti hasil penelitian Safarpour dkk.¹¹⁶ terhadap penyandang DM tipe 2 berusia 50–60 tahun yang mendapatkan vitamin D 50.000 IU per minggu selama 8 minggu. HOMA-IR meningkat pada kelompok vitamin D dan kelompok kontrol kemungkinan disebabkan adanya perubahan kadar glukosa darah dan insulin setelah intervensi. HOMA-IR merupakan suatu teknik yang murah dan sederhana untuk menilai resistensi insulin dari keadaan kadar glukosa darah puasa dan kadar insulin.

Pada penelitian ini didapatkan kadar insulin pada kelompok vitamin D lebih rendah dibandingkan kelompok kontrol pasca suplementasi 3 dan 6 bulan. Hal ini kemungkinan disebabkan adanya peningkatan kadar 25-(OH)D pada kelompok vitamin D sehingga terjadi perbaikan resistensi insulin yang diikuti oleh penurunan sekresi insulin. Peningkatan kadar 25-(OH)D serum akan menyebabkan perbaikan resistensi insulin, peningkatan sensitivitas insulin, dan penurunan kadar insulin puasa.³⁴ Peningkatan kadar 25-(OH)D dari 10 ng/mL menjadi 30 ng/mL dapat memperbaiki sensitivitas insulin sebesar 60%.¹⁵⁶ Sekresi insulin juga dipengaruhi oleh kadar kalsium. Walaupun kadar kalsium serum normal tetapi jika terdapat abnormalitas pengaturan kalsium intraselular maka hal ini dapat memengaruhi sekresi dan sensitivitas insulin.¹⁰⁵ Pada penelitian ini juga didapatkan peningkatan kadar insulin pada kelompok kontrol, kemungkinan disebabkan kalsium yang ada dalam tablet plasebo dapat memengaruhi sekresi insulin. Pada penelitian ini, responden tetap mengonsumsi obat antidiabetik oral yang diberikan oleh Puskesmas. Obat yang banyak dikonsumsi oleh responden adalah metformin (perlakuan vs kontrol; 83 % vs 91,5 %) sedangkan obat lainnya yang dikonsumsi adalah glibenklamid dan glimepiride (perlakuan vs kontrol; 17 % vs 8,5 %). Glibenklamid dan glimepirid termasuk dalam golongan sulfonilurea. Mekanisme kerja sulfonilurea adalah meningkatkan konsentrasi insulin plasma sedangkan metformin adalah meningkatkan penyerapan glukosa ke jaringan.^{163, 164} Walaupun

obat antidiabetik golongan sulfonilurea tetap dikonsumsi oleh responden, hal ini tidak memengaruhi pengukuran kadar insulin pada kelompok kontrol maupun kelompok vitamin D karena hanya digunakan pada sebagian kecil responden dan dari hasil analisis statistik tidak ada perbedaan bermakna penggunaan obat antidiabetik oral pada kedua kelompok (Tabel 4.1.) sehingga pengaruh sulfonilurea terhadap kadar insulin sangat kecil kemungkinannya.

Penelitian Talaei dkk.³⁷ menyimpulkan bahwa vitamin D mempunyai dampak yang bermakna terhadap resistensi insulin ketika konsentrasi 25-(OH)D 40–60 ng/mL. Hal ini sejalan dengan hasil penelitian, kadar 25-(OH)D pada kelompok vitamin D pasca suplementasi 3 dan 6 bulan 38–46 ng/mL berdampak terhadap HOMA-IR dibandingkan kelompok kontrol. Hiperglikemia kronik dapat menurunkan sekresi dan sensitivitas insulin. Semakin lama menderita diabetes menyebabkan terjadi glukotoksisitas yang dapat merusak sel beta pankreas sehingga efek vitamin D berkurang.¹⁰⁵ Pada penelitian ini semua subjek menderita diabetes kurang dari 3 tahun dan belum mencapai hiperglikemia kronik. Kemungkinan sel beta pankreas masih berfungsi dengan baik sehingga dapat tetap menyekresi insulin, dan kemungkinan juga bisa menyebabkan adanya peningkatan kadar insulin pada kelompok kontrol.

Karakteristik subjek penelitian berperan dalam menentukan efektivitas suplementasi. Penurunan kadar glukosa darah puasa dan HOMA-IR bermakna pada keadaan defisiensi vitamin D karena pada keadaan sufisiensi kelebihan vitamin D dari suplementasi disimpan dalam jaringan adiposa. Suplementasi vitamin D memberikan efek yang berbeda antar berbagai etnis. Orang Timur Tengah menunjukkan penurunan glukosa darah dan HOMA-IR lebih besar dibandingkan orang Asia dan etnis lainnya karena orang Timur Tengah berisiko menderita defisiensi vitamin D akibat kurang terpajan sinar matahari sehingga suplementasi vitamin D lebih berefek.¹⁶⁵

5.8 Evaluasi VDR Pasca Suplementasi Vitamin D pada Penyandang DM Tipe 2

Pada penelitian ini didapatkan peningkatan ekspresi VDR pasca suplementasi 3 bulan pada kelompok kontrol dan kelompok vitamin D, tetapi ekspresi VDR mengalami penurunan pasca suplementasi 6 bulan pada kedua kelompok. Ekspresi VDR yang meningkat pasca suplementasi 3 bulan pada kelompok kontrol kemungkinan disebabkan adanya perbedaan genetik dan juga pajanan lingkungan

pada populasi subjek penelitian sehingga pada kelompok kontrol dapat tetap meningkat ekspresi VDR walaupun tidak mendapat suplementasi vitamin D. Terdapatnya penurunan ekspresi VDR pada kelompok vitamin D pasca suplementasi 6 bulan kemungkinan karena kadar vitamin D pada kelompok ini sudah cukup pasca suplementasi 3 bulan sehingga VDR sebagai perantara aksi biologis vitamin D mengalami penurunan pasca suplementasi 3 bulan. Menurunnya ekspresi VDR pada kelompok kontrol kemungkinan karena asupan vitamin D dari makanan atau suplementasi tidak ada sedangkan pajanan lingkungan mungkin sudah mulai berkurang sehingga ekspresi VDR mengalami penurunan. Hal ini memerlukan penelitian lebih lanjut.

Terdapat tiga faktor utama yang memengaruhi gen VDR yaitu lingkungan, genetik, dan epigenetik. Faktor lingkungan yang dapat memengaruhi VDR adalah diet, pajanan sinar matahari, polusi dan infeksi. Faktor lingkungan utama yang dapat memengaruhi VDR adalah pajanan sinar matahari dan asupan vitamin D. Faktor genetik yang dapat memengaruhi VDR adalah polimorfisme gen VDR. Polimorfisme gen VDR juga dipengaruhi oleh lingkungan.¹⁶⁶⁻¹⁶⁸

Respons masing-masing individu terhadap suplementasi vitamin D bisa berbeda yang disebabkan adanya variasi genetik gen VDR. Polimorfisme gen VDR menyebabkan modifikasi aktivitas VDR dalam merespons suplementasi vitamin D. Aktivitas VDR lebih besar dikaitkan dengan respons yang lebih baik terhadap suplementasi vitamin D.¹⁶⁹ Terdapatnya peningkatan ekspresi VDR di monosit mungkin juga hasil peningkatan 1,25(OH)₂D di sirkulasi karena adanya sintesis di sel ginjal.¹²⁵ Ada kemungkinan peningkatan VDR di monosit pada kelompok kontrol disebabkan adanya peningkatan kadar 1,25(OH)₂D di sirkulasi dan sintesis intraselular 1,25(OH)₂D. Pada penelitian ini tidak dilakukan pengukuran kadar 1,25(OH)₂D, sehingga kemungkinan tersebut belum dapat dipastikan.

5.9 Adverse Event Selama Suplementasi

Pada penelitian ini pemantauan *adverse event* selama suplementasi menggunakan parameter laboratorium yaitu SGPT, albumin, kreatinin, dan kalsium darah yang menunjukkan hasil tidak ada perbedaan bermakna antara kedua kelompok baik pada pemantauan bulan ketiga dan bulan keenam.

Penelitian Gulseth dkk.¹⁷⁰ menganalisis keamanan penggunaan suplementasi vitamin D terhadap 62 penyandang DM tipe 2 dengan defisiensi vitamin D yang diberikan suplementasi vitamin D 400.000 IU dosis tunggal, selama 4 minggu dan 3 bulan. *Follow up* keamanan menunjukkan adanya peningkatan kadar kreatinin serum pasca 4 minggu suplementasi pada kelompok plasebo dan kelompok vitamin D serta peningkatan kadar kalsium bebas pada kelompok plasebo tetapi hal ini semuanya kembali seperti semula dalam 6 bulan dan tidak ada implikasi klinis yang berarti.

Penelitian Pittas dkk.¹⁷¹ yang menganalisis keamanan suplementasi vitamin D terhadap penyandang DM tipe 2 yang diberikan vitamin D 4.000 IU setiap hari selama 24 bulan menunjukkan tidak ada perbedaan bermakna efek samping (hiperkalsemia, laju filtrasi glomerulus rendah, nefrolitiasis) antara kedua kelompok.

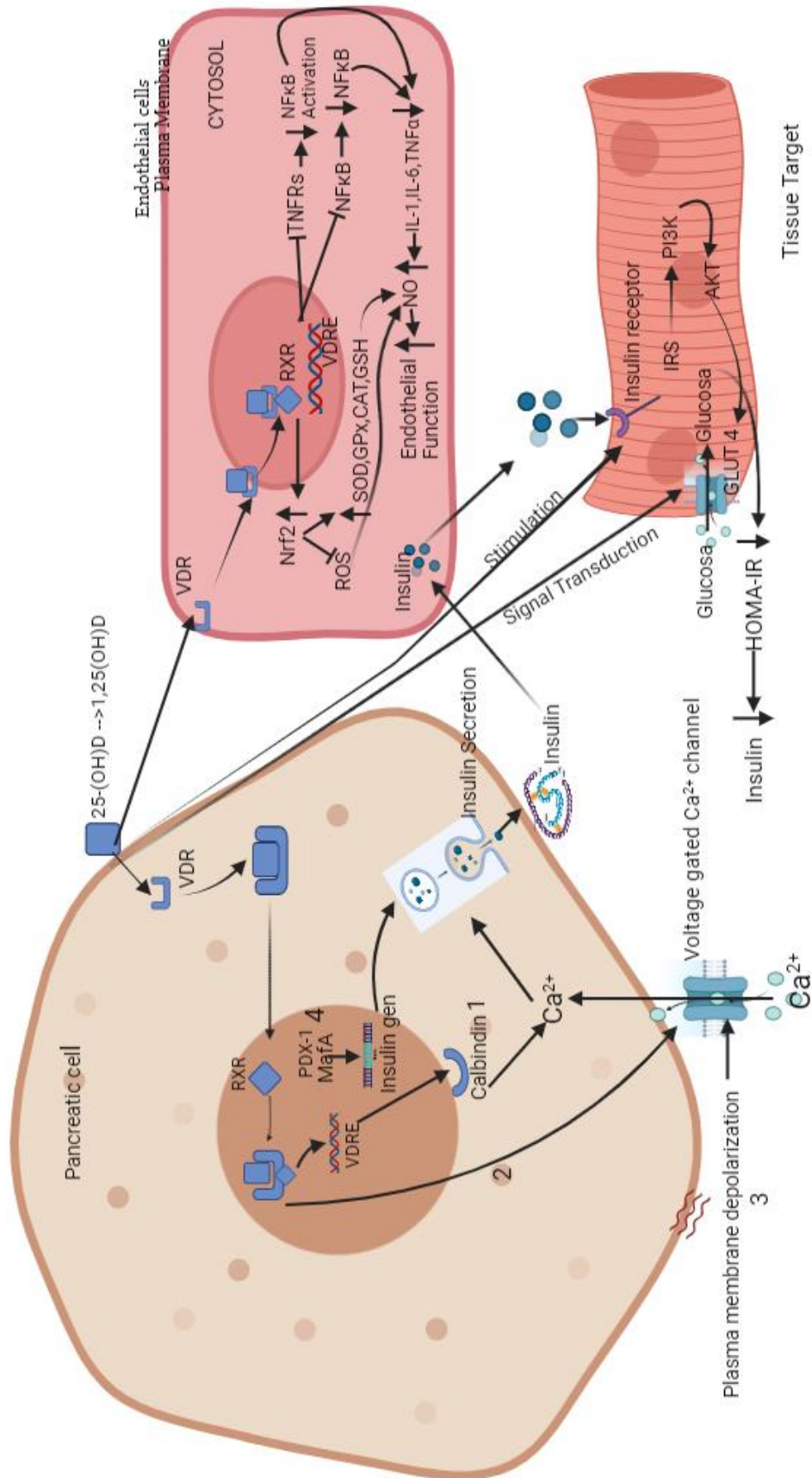
Terdapat bukti uji klinis yang menunjukkan bahwa asupan vitamin D 10.000 IU setiap hari secara berkepanjangan tidak menimbulkan efek samping pada hampir semua individu populasi umum sehingga dosis tersebut dianggap sebagai kriteria untuk tingkat asupan batas atas yang dapat ditoleransi.⁹⁵

Penurunan fungsi ginjal berperan pada terjadinya toksisitas. Terdapatnya hiperkalsemia merupakan kriteria bahaya untuk vitamin D. Pada kasus toksisitas vitamin D didapatkan rata-rata kadar 25-(OH)D 214 ng/mL.¹⁷² Terdapat mekanisme tubuh dalam menjaga keamanan vitamin D sehingga tidak menyebabkan toksisitas yaitu kapasitas VDBP yang bersirkulasi dan kemampuan untuk menekan 25-(OH)D-1- α -hydroxylase.⁹⁵

Pada penelitian ini *adverse event* hanya untuk memantau dan melihat kejadian yang tidak diinginkan yang terjadi selama pemberian suplementasi bukan untuk menilai efek keamanan pemberian suplementasi pada populasi. Untuk menilai keamanan pemberian suatu suplementasi pada populasi diperlukan jumlah sampel yang sangat banyak sedangkan pada penelitian ini jumlah sampel yang diperhitungkan hanya untuk menilai efektivitas pemberian suplementasi.

5.10 Proposed Mechanism Efek Vitamin D terhadap Fungsi Pankreas

Mekanisme efek vitamin D terhadap fungsi pankreas berdasarkan hasil penelitian ini dapat dilihat pada Gambar 5.1.



Gambar 5.1. Proposed Mechanism Efek Vitamin D terhadap Fungsi Pankreas

(menggunakan aplikasi Biorender)

Pada sel pankreas, vitamin D yang sudah diubah menjadi bentuk aktif 1,25(OH)₂D berikatan dengan VDR. (1) Ikatan 1,25(OH)₂D dan VDR bertranslokasi ke dalam nukleus untuk berikatan dengan RXR (*retinoid acid X receptor*) membentuk kompleks 1,25(OH)₂D-VDR-RXR yang selanjutnya berikatan dengan VDRE (*vitamin D receptor element*) untuk menstimulasi transkripsi kalbindin (protein pengikat kalsium sitosolik). Kalbindin mengatur kalsium sitosolik dan secara tidak langsung memodulasi sekresi insulin yang tergantung kalsium. (2) Vitamin D secara tidak langsung juga meningkatkan *voltage gated calcium channel* yang dapat membantu meningkatkan masuknya kalsium melalui *voltage gated calcium channel*. (3) Metabolisme glukosa menyebabkan rasio ATP:ADP tinggi, menyebabkan terdapatnya depolarisasi membran plasma yang dapat menstimulasi *voltage gated calcium channel* sehingga terjadi influks kalsium. Masuknya kalsium menyebabkan kadar kalsium intraselular meningkat yang dapat menginduksi sekresi insulin. (4) PDX-1 dan MafA juga merupakan salah satu faktor transkripsi sel beta pankreas yang berfungsi sebagai aktivator transkripsi gen insulin yang dapat menyebabkan terjadinya sintesis dan sekresi insulin.

Pada sel endotel, vitamin D memicu ekspresi Nrf2 yaitu faktor transkripsi yang menekan ROS dan meningkatkan ekspresi antioksidan, selanjutnya akan menekan stres oksidatif sehingga meningkatkan NO dan pada akhirnya meningkatkan fungsi sel endotel. Vitamin D juga dapat menghambat ekspresi NFκB sehingga menurunkan ekspresi NFκB serta dapat menghambat *tumor necrosis factor α receptor 2* dan 4 (TNFRs) yang dapat menurunkan aktivasi NFκB. Penurunan aktivasi dan ekspresi NFκB akan menurunkan inflamasi sehingga meningkatkan NO yang akhirnya akan meningkatkan fungsi sel endotel. Sel endotel yang berfungsi dengan baik akan dapat menangkap insulin yang dihasilkan oleh sel beta pankreas. Terdapatnya peningkatan konsentrasi insulin interstitial menyebabkan insulin dapat ditransfer ke jaringan target (misal otot skeletal).

Pada jaringan target, vitamin D dapat menstimulasi reseptor insulin. Ikatan insulin dengan reseptor insulin merangsang proses kaskade yang melibatkan *receptor insulin substrat 1* (IRS-1) dan PI3K. Aktivasi protein kinase B (Akt) akan menstimulasi translokasi GLUT 4 ke membran sel dan memfasilitasi penyerapan glukosa ke dalam sel. Vitamin D juga memberikan transduksi sinyal yang

menyebabkan translokasi *glucose transporter type 4* (GLUT) 4 ke membran sel, yang dapat memfasilitasi penyerapan glukosa ke dalam sel.

5.11 Kontribusi Penelitian

Penelitian menggunakan suplementasi vitamin D 5.000 IU dengan rancangan *double blind randomized controlled trial* dapat membuktikan bahwa penyandang DM tipe 2 dengan defisiensi vitamin D memperoleh manfaat dari asupan suplemen tersebut yang dibuktikan dengan adanya peningkatan kadar 25-(OH)D pada kelompok vitamin D dibandingkan kelompok kontrol pasca suplementasi 3 dan 6 bulan. Data ini konsisten dengan penelitian lainnya yang meneliti *adverse event* pada penggunaan suplementasi vitamin D.

5.12 Keunggulan Dan Keterbatasan Penelitian

Keunggulan pada penelitian ini adalah menggunakan desain uji klinis secara acak tersamar ganda, terdapat kelompok kontrol. Pada semua subjek penelitian dilakukan randomisasi. Daftar randomisasi dibuat dan disimpan bukan oleh peneliti serta anggota tim peneliti, sehingga mengurangi bias yang dapat terjadi. Suplementasi yang diberikan tidak dapat dibedakan antara vitamin D dan plasebo baik bentuk, warna, bau dan kemasan, sehingga meminimalkan bias pada kedua kelompok. Pada penelitian ini juga dilakukan pemantauan asupan makanan yang mengandung vitamin D pada awal penelitian, pasca suplementasi 3 bulan dan akhir penelitian 6 bulan untuk melihat apakah kadar 25-(OH)D yang ada hanya berasal dari suplementasi yang diberikan atau apakah ada pengaruh dari asupan makanan yang mengandung vitamin D. Pada penelitian ini juga dilakukan pemeriksaan kadar 25-(OH)D serum pasca suplementasi 3 bulan dan 6 bulan untuk mengetahui adanya kenaikan kadar 25-(OH)D yang menunjukkan bahwa suplementasi benar dikonsumsi oleh subjek dan kepatuhan subjek dalam mengonsumsi suplementasi dapat diukur secara objektif.

Jumlah subjek pada penelitian ini sampai akhir penelitian 6 bulan berjumlah 94 subjek dari jumlah awal 114 subjek. Jumlah ini masih memenuhi jumlah minimal subjek yaitu 90 berdasarkan perhitungan rumus besar sampel. Terdapat 20 subjek *drop out* (17%). Angka *drop out* 17% masih merupakan angka yang cukup baik dan

diperbolehkan untuk penelitian suatu intervensi (*randomized controlled trials*) karena masih dibawah 20%.¹⁷³

Kelemahan pada penelitian ini adalah subjek penelitian tidak tinggal dalam satu tempat yang mudah untuk dilakukan pengawasan (subjek penelitian tinggal di rumah masing-masing) walaupun tetap dilakukan pengawasan secara teratur selama 6 bulan dalam mengonsumsi tablet tersebut, ada kalanya subjek pergi keluar kota karena suatu tugas dan lupa membawa botol tablet.

Adverse event yang dinilai pada penelitian ini hanya berdasarkan keluhan subjektif dari subjek penelitian selama masa suplementasi 6 bulan. *Adverse event* objektif hanya dilakukan pemeriksaan untuk melihat fungsi hati yaitu SGPT dan albumin, fungsi ginjal yaitu kreatinin serta melihat kejadian hiperkalsemia yaitu kalsium darah.

BAB 6

SIMPULAN DAN SARAN

6.1 Simpulan

1. Suplementasi vitamin D 5.000 IU/hari selama 3 dan 6 bulan tidak terbukti meningkatkan ekspresi SOD pada kelompok vitamin D.
2. Suplementasi vitamin D 5.000 IU/hari selama 3 dan 6 bulan tidak terbukti menurunkan ekspresi IL-6 pada kelompok vitamin D.
3. Suplementasi vitamin D 5.000 IU/hari selama 3 dan 6 bulan tidak terbukti meningkatkan ekspresi PDX-1 pada kelompok vitamin D.
4. Suplementasi vitamin D 5.000 IU/hari selama 3 dan 6 bulan terbukti meningkatkan sekresi insulin pada kelompok vitamin D tetapi kadar insulin kelompok vitamin D lebih rendah dibanding kontrol yang menunjukkan terdapatnya perbaikan resistensi insulin.
5. Suplementasi vitamin D 5.000 IU/hari selama 3 dan 6 bulan tidak terbukti menurunkan resistensi insulin dan HbA1c pada kelompok vitamin D walaupun terdapat perbedaan bermakna HOMA-IR antara kelompok kontrol dan kelompok vitamin D. HOMA-IR pasca suplementasi 3 dan 6 bulan pada kedua kelompok mengalami peningkatan tetapi peningkatan HOMA-IR pada kelompok kontrol lebih tinggi sehingga dapat diambil kesimpulan bahwa suplementasi vitamin D 5.000 IU kemungkinan dapat memperbaiki resistensi insulin.
6. Suplementasi vitamin D 5.000 IU/hari selama 3 dan 6 bulan terbukti aman terlihat dari peningkatan kadar 25-(OH)D masih dalam batas normal namun keamanan dilihat dari ekspresi VDR tidak terbukti.

6.2 Saran

6.2.1 Untuk Kebijakan Kesehatan

Pada penelitian ini didapatkan suplementasi vitamin D 5.000 IU/hari selama 3 dan 6 bulan dapat memperbaiki resistensi insulin sehingga diharapkan terdapat perbaikan dalam tatalaksana dan panduan nutrisi vitamin D bagi penyandang DM tipe 2.

6.2.2 Untuk Bidang Akademik dan Penelitian

Pada penelitian ini kemungkinan didapatkan adanya peran kalsium dan sel endotel sehingga perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai peran kalsium dalam sekresi insulin dan metabolisme glukosa serta peran sel endotel dalam memperbaiki resistensi insulin.

RINGKASAN

PENDAHULUAN

Diabetes melitus (DM) merupakan penyakit metabolik kronik yang ditandai adanya hiperglikemia disebabkan berkurangnya sekresi hormon insulin, menurunnya sensitivitas insulin atau kombinasi keduanya. Sebanyak 90% dari total kasus DM adalah tipe 2, sehingga DM tipe 2 merupakan salah satu masalah kesehatan dunia. Indonesia menempati urutan keempat terbesar di dunia untuk penyandang DM.

Faktor yang terkait dengan progresivitas pengurangan fungsi sel beta pankreas antara lain adalah glukotoksisitas, lipotoksisitas dan inflamasi. Inflamasi derajat ringan di pankreas merupakan faktor penting dalam perkembangan DM tipe 2. Pada DM stres oksidatif juga meningkat karena adanya glukotoksisitas dan lipotoksisitas sehingga menyebabkan terjadinya disfungsi sel beta pankreas yang disertai oleh penurunan ekspresi *pancreatic duodenal homeobox factor-1* (PDX-1), penurunan produksi dan sekresi insulin. PDX-1 merupakan faktor transkripsi yang penting untuk maturasi dan perkembangan sel beta serta berperan dalam transkripsi beberapa gen yang penting untuk sintesis insulin.

Superoksida dismutase (SOD) merupakan enzim antioksidan penting dalam pengaturan stres oksidatif pada DM. Beberapa zat gizi diketahui mempunyai efek penghambatan terhadap inflamasi dan efek antioksidan, salah satunya vitamin D. Vitamin D merupakan salah satu vitamin yang berpotensi untuk memperbaiki sintesis dan sekresi insulin karena sel beta mempunyai reseptor vitamin D tetapi efek vitamin D dalam menjaga kelangsungan hidup dan fungsi sel beta pankreas belum pernah dilaporkan.

Penelitian *in vivo* mengenai sifat antioksidan vitamin D3 pada manusia dengan DM belum jelas. Masih ada pro kontra efek vitamin D terhadap IL-6, sehingga perlu dilakukan studi eksperimental secara *in vivo* untuk melihat efek vitamin D sebagai antiinflamasi melalui pengukuran kadar IL-6, sebagai antioksidan melalui pengukuran kadar SOD, serta untuk viabilitas sel beta pankreas melalui ekspresi PDX-1.

Tujuan penelitian ini adalah untuk menilai pengaruh suplementasi vitamin D 5.000 IU/hari selama 3 dan 6 bulan terhadap fungsi sel beta pankreas yang ditinjau dari

ekspresi SOD, IL-6, PDX-1, kadar insulin, perbaikan resistensi insulin yang ditinjau dari HOMA-IR, perbaikan HbA1c serta mengevaluasi keamanan pemberian suplementasi vitamin D 5.000 IU/hari selama 3 dan 6 bulan dengan pemeriksaan kadar 25-(OH)D dan ekspresi VDR pada penyandang DM tipe 2.

METODE

Studi merupakan studi eksperimental dengan desain *randomized double blind controlled trial* yang dilakukan di wilayah Puskesmas Kecamatan Mampang Jakarta Selatan mulai bulan Januari–Desember 2022. Sebanyak 114 subjek ikut dalam penelitian ini adalah penyandang DM tipe 2 kurang atau sama dengan 3 tahun. Skrining dilakukan dengan wawancara menggunakan kuesioner. Semua subjek yang ikut dalam penelitian setelah mendapatkan penjelasan tentang tujuan penelitian selanjutnya menandatangani *informed consent*. Kelompok vitamin D mendapat tablet plasebo yang ditambahkan vitamin D 5.000 IU sedangkan kelompok kontrol mendapatkan tablet plasebo yang berisi *microcrystalline cellulose, calcium carbonate, sodium starch glycolate, magnesium stearate* selama 6 bulan. Tidak ada perbedaan antara kedua tablet tersebut baik dalam hal warna, bentuk, bau, dan kemasan yang dapat diketahui oleh peneliti dan subjek penelitian.

Subjek yang lolos skrining awal selanjutnya dilakukan pemeriksaan laboratorium skrining awal yang terdiri dari pemeriksaan SGPT, albumin, kreatinin, dan kalsium darah. Selanjutnya subjek yang lolos skrining pemeriksaan laboratorium dan memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi diikutkan dalam randomisasi. Pengambilan sampel darah dilakukan sebanyak 3 kali yaitu pada sebelum suplementasi, pasca suplementasi 3 bulan dan pasca suplementasi 6 bulan untuk dilakukan pemeriksaan laboratorium meliputi pemeriksaan 25-(OH)D, HbA1c, glukosa darah puasa, insulin puasa, HOMA-IR, IL-6, SOD, VDR, dan ekspresi PDX-1 serta pemeriksaan laboratorium SGPT, albumin, kreatinin, dan kalsium darah untuk memantau *adverse event*. Selama penelitian dilakukan pencatatan semikuantitatif *food frequency* pada awal penelitian, pasca suplementasi 3 dan 6 bulan.

Kepatuhan subjek dalam meminum tablet suplementasi diawasi oleh kader dan dilakukan pencatatan melalui pengisian *form check list* pemantauan minum tablet serta menghitung sisa tablet suplementasi didalam botol setiap bulan. Pemantauan

adverse event dilakukan oleh kader dengan mengisi *form adverse event* dan peneliti melakukan pengecekan kembali untuk menilai kepatuhan subjek dan memantau *adverse event* dengan turun ke lapangan seminggu sekali setiap hari Selasa dan menanyakan kepada subjek penelitian secara acak.

Analisis statistik dilakukan dengan menggunakan uji Mann Whitney dan ANOVA *multivariate general linear model (GLM) repeated measurement*. Analisis statistik menggunakan SPSS 20 dengan tingkat kemaknaan $p < 0,05$.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penyandang DM tipe 2 yang berusia di atas 18 tahun sebanyak 195 subjek bersedia ikut dalam penelitian, sebanyak 183 subjek yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi dilakukan pemeriksaan skrining laboratorium, sebanyak 114 subjek lolos skrining pemeriksaan laboratorium dan diikutkan dalam randomisasi kelompok kontrol dan kelompok vitamin D masing-masing 57 subjek untuk tiap kelompok. Sampai selesai suplementasi bulan ke-6, responden yang ikut dalam penelitian ini sebanyak 94 subjek, 47 subjek kelompok vitamin D dan 47 subjek kelompok kontrol.

Karakteristik subjek pada awal penelitian menunjukkan tidak terdapat perbedaan bermakna pada sebaran jenis kelamin, usia, tingkat pendidikan, riwayat pekerjaan, IMT, lama menderita DM, obat antidiabetik oral yang dikonsumsi, kebiasaan berjemur dan kebiasaan menggunakan baju lengan panjang. Pada hasil pemeriksaan laboratorium awal pada kedua kelompok untuk semua parameter juga tidak terdapat perbedaan yang bermakna. Untuk asupan makanan dan nutrisi juga menunjukkan tidak ada perbedaan bermakna antara kedua kelompok. Hal ini menunjukkan bahwa randomisasi yang dilakukan berhasil menyebarkan variabel secara merata pada kedua kelompok.

Angka kepatuhan minum tablet pasca suplementasi 3 bulan untuk kelompok vitamin D (51 subjek) adalah 99,8% (4582/4590) dan untuk kelompok kontrol (50 subjek) adalah 99,7% (4489/4500). Angka kepatuhan minum tablet pasca suplementasi 3 bulan sampai 6 bulan untuk kelompok perlakuan (47 subjek) adalah 99,8% (4225/4230) dan untuk kelompok kontrol (47 subjek) adalah 99,9% (4227/4230).

Pengukuran kadar 25-(OH)D pasca suplementasi 3 dan 6 bulan juga untuk menilai kepatuhan subjek dalam meminum tablet suplementasi. Pasca suplementasi vitamin D selama 3 dan 6 bulan, kadar 25-(OH)D pada kelompok kontrol dan kelompok vitamin D menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p = 0,000$). Terdapatnya peningkatan kadar 25-(OH)D pasca suplementasi 3 bulan menunjukkan adanya kepatuhan subjek dalam mengonsumsi tablet suplementasi. Respons 25-(OH)D yang kuat terhadap suplementasi vitamin D ketika konsentrasi 25-(OH)D awal rendah. Peningkatan kadar 25-(OH)D dalam darah selama suplementasi mengikuti kurva bifasik yaitu peningkatan respons yang cepat pada keadaan konsentrasi 25-(OH)D yang sangat kurang dan respons menjadi lambat ketika konsentrasi 25-(OH)D sudah lebih tinggi.

Pada penelitian terdapat peningkatan ekspresi SOD pada kelompok vitamin D dan kelompok kontrol pasca suplementasi 3 bulan, sedangkan pasca suplementasi 6 bulan terdapat penurunan ekspresi SOD pada kelompok kontrol dan kelompok vitamin D. Adanya peningkatan ekspresi SOD pada kelompok vitamin D pasca suplementasi 3 bulan menunjukkan vitamin D dapat meningkatkan SOD karena vitamin D dapat menginduksi ekspresi beberapa molekul yang terlibat dalam sistem pertahanan antioksidan termasuk SOD, sedangkan peningkatan SOD pada kelompok kontrol mekanismenya belum diketahui. Menurunnya ekspresi SOD pasca suplementasi 6 bulan pada kelompok vitamin D kemungkinan disebabkan ekspresi SOD yang cukup pasca suplementasi 3 bulan.

Pada DM tipe 2 tahap awal, pertahanan antioksidan dapat melawan efek peningkatan radikal bebas sehingga kemungkinan aktivitas enzim antioksidan meningkat sebagai reaksi kompensasi terhadap adanya stres oksidatif, tetapi pada tahap lanjut keseimbangan antara radikal bebas dan pertahanan antioksidan menurun akibat penurunan aktivitas antioksidan karena terjadi deplesi. SOD merupakan garis pertahanan pertama dalam melawan radikal bebas sehingga diharapkan aktivitas enzim SOD dapat melawan stres oksidatif lebih dahulu sebelum aktivitas enzim antioksidan yang lain. Ada beberapa hal yang menyebabkan kapasitas antioksidan di serum atau jaringan pada penyandang DM tipe 2 tidak konsisten yaitu sulit untuk menilai kapasitas antioksidan pada jaringan yang sensitif insulin seperti jaringan adiposa, obat antidiabetik oral sudah

mempunyai efek antioksidan sehingga bisa menutupi efek pemberian vitamin dan antioksidan alami pada penyandang DM tipe 2.

Pada penelitian didapatkan ekspresi IL-6 pada awal, pasca suplementasi 3 dan 6 bulan terlihat hampir sama antara kelompok kontrol dan kelompok vitamin D. Pasca suplementasi 3 bulan terdapat peningkatan ekspresi IL-6 pada kelompok vitamin D dan kelompok kontrol, sedangkan pasca suplementasi 6 bulan dapat penurunan ekspresi IL-6 pada kelompok vitamin D dan kelompok kontrol. Hal ini menunjukkan vitamin D memberikan efek terhadap IL-6 pasca suplementasi 6 bulan. Kurangnya efektivitas vitamin D terhadap IL-6 kemungkinan karena DM tipe 2 merupakan suatu peradangan sistemik tingkat rendah sehingga efek vitamin D kurang menonjol. Vitamin D juga mengaktifkan protein penghambat NF κ B, yang berperan pada penurunan kadar CRP dan proinflamasi lainnya, serta mungkin menekan produksi IL-6.

Pada penelitian didapatkan ekspresi PDX-1 awal penelitian tidak terdapat perbedaan bermakna pada kelompok kontrol dan kelompok vitamin D. Pasca suplementasi 3 dan 6 bulan terdapat penurunan ekspresi PDX-1 pada kelompok kontrol dan kelompok vitamin D. Menurunnya ekspresi PDX-1 pada kelompok kontrol kemungkinan disebabkan pemberian plasebo yang tidak mempunyai efek antioksidan dan enzim antioksidan pada sel beta pankreas yang jumlahnya sedikit. Menurunnya ekspresi PDX-1 pada kelompok vitamin D kemungkinan disebabkan efek antioksidan vitamin D belum cukup. Tetapi bila dilihat antara kelompok kontrol dan kelompok vitamin D pasca suplementasi 3 dan 6 bulan terdapat peningkatan ekspresi PDX-1 pada kelompok vitamin D dibandingkan kelompok kontrol. Hal ini menunjukkan adanya efek vitamin D walaupun belum optimal dalam memperbaiki ekspresi PDX-1.

Pada penelitian didapatkan tidak ada perbedaan bermakna kadar glukosa darah dan HbA1c pada kelompok kontrol dan kelompok vitamin D pasca suplementasi 3 dan 6 bulan. Vitamin D memengaruhi sekresi insulin secara tidak langsung melalui pengaturan homeostasis kalsium intraselular sehingga efek vitamin D terhadap kadar glukosa juga dipengaruhi oleh kadar kalsium serum seseorang. Kalsium berperan penting dalam pengaturan kadar glukosa di darah. Kadar kalsium juga

memengaruhi HbA1c. Konsentrasi kalsium yang bersirkulasi dikontrol oleh hormon paratiroid dan vitamin D. Penurunan kadar kalsium serum pada penyandang DM tipe 2 mengakibatkan hiperkalsiuria. Adanya hiperkalsiuria merangsang hormon paratiroid untuk mempertahankan kadar kalsium serum. Hormon paratiroid juga memediasi metabolisme glukosa. Pada penelitian, kelompok kontrol mendapatkan plasebo berisi kalsium yang kemungkinan dapat memengaruhi kadar glukosa darah dan HbA1c sehingga kadar glukosa darah dan HbA1c pada kelompok kontrol dan kelompok vitamin D tidak ada perbedaan.

Pada penelitian didapatkan adanya perbedaan bermakna untuk kadar insulin dan HOMA-IR pada kelompok kontrol dan kelompok vitamin D pasca suplementasi 3 dan 6 bulan. Kadar insulin dan HOMA-IR menurun pada kelompok vitamin D dibandingkan kelompok kontrol pasca suplementasi 3 dan 6 bulan, tetapi bila dibandingkan dengan keadaan awal maka HOMA-IR pada kelompok vitamin D dan kelompok kontrol meningkat pasca suplementasi 3 dan 6 bulan, meskipun begitu HOMA-IR pada kelompok vitamin D lebih rendah dibandingkan kelompok kontrol. Hal ini menunjukkan adanya perbaikan terhadap resistensi insulin pada kelompok vitamin D.

HOMA-IR meningkat pada kelompok vitamin D dan kelompok kontrol kemungkinan disebabkan adanya perubahan kadar glukosa darah dan insulin setelah intervensi. HOMA-IR merupakan suatu teknik yang murah dan sederhana untuk menilai resistensi insulin dari keadaan kadar glukosa darah puasa dan kadar insulin. Pada penelitian ini kadar glukosa dan insulin mengalami peningkatan pasca suplementasi 3 dan 6 bulan pada kelompok vitamin D dan kelompok kontrol.

Pada penelitian didapatkan kadar insulin kelompok vitamin D lebih rendah dibandingkan kelompok kontrol pasca suplementasi 3 dan 6 bulan. Hal ini kemungkinan disebabkan adanya peningkatan kadar 25-(OH)D pada kelompok vitamin D sehingga terjadi perbaikan resistensi insulin yang diikuti oleh penurunan sekresi insulin. Peningkatan kadar 25-(OH)D serum menyebabkan perbaikan resistensi insulin, peningkatan sensitivitas insulin, dan penurunan kadar insulin puasa. Sekresi insulin juga dipengaruhi oleh kadar kalsium. Pada penelitian didapatkan peningkatan kadar insulin pada kelompok kontrol, hal ini kemungkinan

disebabkan kalsium yang ada dalam tablet plasebo dapat memengaruhi sekresi insulin. Pada penelitian semua subjek menderita diabetes kurang dari 3 tahun dan belum mencapai hiperglikemia kronik, kemungkinan sel beta pankreas masih berfungsi dengan baik sehingga dapat tetap menyekresi insulin, hal ini kemungkinan juga bisa menyebabkan adanya peningkatan kadar insulin pada kelompok kontrol.

Pada penelitian didapatkan peningkatan ekspresi VDR pasca suplementasi 3 bulan pada kelompok kontrol dan kelompok vitamin D tetapi ekspresi VDR mengalami penurunan pasca suplementasi 6 bulan pada kedua kelompok. Ekspresi VDR yang meningkat pasca suplementasi 3 bulan pada kedua kelompok kemungkinan disebabkan adanya perbedaan genetik dan juga paparan lingkungan pada populasi subjek penelitian sehingga pada kelompok kontrol dapat tetap meningkat ekspresi VDR walaupun tidak mendapat suplementasi vitamin D yang belum dapat ditentukan pada penelitian ini dan memerlukan penelitian lebih lanjut. Terdapatnya penurunan ekspresi VDR pada kelompok vitamin D pasca suplementasi 6 bulan kemungkinan karena kadar vitamin D pada kelompok ini sudah cukup pasca suplementasi 3 bulan sehingga VDR sebagai perantara aksi biologis vitamin D mengalami penurunan pasca suplementasi 3 bulan, sedangkan menurunnya ekspresi VDR pada kelompok kontrol kemungkinan karena asupan vitamin D dari makanan atau suplementasi tidak ada sedangkan paparan lingkungan mungkin sudah mulai berkurang sehingga ekspresi VDR mengalami penurunan yang juga belum dapat dibuktikan dalam penelitian ini sehingga memerlukan penelitian lebih lanjut.

Respons masing-masing individu terhadap suplementasi vitamin D bisa berbeda yang disebabkan adanya variasi genetik gen VDR. Polimorfisme gen VDR menyebabkan modifikasi aktivitas VDR dalam merespons suplementasi vitamin D. Aktivitas VDR lebih besar dikaitkan dengan respons yang lebih baik terhadap suplementasi vitamin D.

SIMPULAN DAN SARAN

Suplementasi vitamin D 5.000 IU/hari selama 3 dan 6 bulan tidak terbukti meningkatkan ekspresi SOD, menurunkan ekspresi IL-6, dan meningkatkan ekspresi PDX-1. Suplementasi vitamin D 5.000 IU/hari selama 3 dan 6 bulan

terbukti meningkatkan sekresi insulin pada kelompok vitamin D tetapi kadar insulin kelompok vitamin D lebih rendah dibanding kontrol yang menunjukkan terdapatnya perbaikan resistensi insulin. Suplementasi vitamin D 5.000 IU/hari selama 3 dan 6 bulan tidak terbukti menurunkan resistensi insulin dan HbA1c pada kelompok vitamin D walaupun terdapat perbedaan bermakna HOMA-IR antara kelompok kontrol dan kelompok vitamin D. HOMA-IR pasca suplementasi 3 dan 6 bulan pada kedua kelompok mengalami peningkatan tetapi peningkatan HOMA-IR pada kelompok kontrol lebih tinggi sehingga dapat diambil kesimpulan bahwa suplementasi vitamin D 5.000 IU kemungkinan dapat memperbaiki resistensi insulin. Suplementasi vitamin D 5.000 IU/hari selama 3 dan 6 bulan terbukti aman terlihat dari peningkatan kadar 25-(OH)D masih dalam batas normal namun keamanan dilihat dari ekspresi VDR tidak terbukti.

Pada penelitian ini didapatkan suplementasi vitamin D 5.000 IU/hari selama 3 dan 6 bulan dapat memperbaiki resistensi insulin sehingga diharapkan terdapat perbaikan dalam tatalaksana dan panduan nutrisi vitamin D bagi penyandang DM tipe 2. Pada penelitian ini kemungkinan didapatkan adanya peran kalsium dan sel endotel sehingga perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai peran kalsium dalam sekresi insulin dan metabolisme glukosa serta peran sel endotel dalam memperbaiki resistensi insulin.

SUMMARY

INTRODUCTION

Diabetes mellitus (DM) is a chronic metabolic disease that is marked by hyperglycemia caused by reduced insulin secretion, decreased insulin sensitivity or a combination of the two. As much as 90% of the total cases of DM are of type 2, such that type 2 DM constitutes one of the problems in global health. Indonesia occupies the fourth rank in the world with regard to patients with DM.

The factors that are associated with the progressivity of the decreased functions of the pancreatic beta cells are among other things glucotoxicity, lipotoxicity, and inflammation. Inflammation of mild degree in the pancreas is an important factor in the development of type 2 DM. In DM, there is also increased oxidative stress because of the glucotoxicity and lipotoxicity, thereby resulting in dysfunction of the pancreatic beta cells that is accompanied by reduced expression of the pancreatic duodenal homeobox factor-1 (PDX-1) and by reduced insulin production and secretion. PDX-1 is an important transcription factor in the maturation and development of the beta cells and plays a role in the transcription of several genes that are important for insulin synthesis.

Superoxide dismutase (SOD) is an important antioxidant enzyme in the regulation of oxidative stress in DM. Several nutrients are known to have an inhibitory effect on inflammation and an antioxidant effect, one of these nutrients being vitamin D. Vitamin D is one of the vitamins with the potential to improve insulin production and secretion because the beta cells possess vitamin D receptors, but the effects of vitamin D in maintaining the survival and function of the pancreatic beta cells have never been reported.

In vivo studies on the antioxidant properties of vitamin D in persons with DM have been inconclusive. There are still pros and cons of the effects of vitamin D on IL-6, such that in vivo experimental studies need to be conducted to determine the effects of vitamin D as an anti-inflammatory agent by the measurement of IL-6 concentrations, as an antioxidant by the measurement of SOD concentrations, and on the viability of the pancreatic beta cells through determination of PDX-1 expression.

The aim of the present study was to evaluate the effect of vitamin D supplementation at a dose of 5.000 IU/day for 3 and 6 months on the functions of the pancreatic beta cells, as viewed from the expression of SOD, IL-6, PDX-1, and insulin concentrations, from the improvement in insulin resistance as viewed from the HOMA-IR values and the improvement in HbA1c concentration, as well as to evaluate the safety of vitamin D supplementation at a dose of 5.000 IU/day for 3 and 6 months by determining the 25-(OH)D concentration and VDR expression in patients with type 2 DM.

METHODS

This study was an experimental study designed as a randomized double blind controlled trial that was conducted in the catchment area of the Mampang District Public Health Center, South Jakarta from January to December 2022. A total of 114 subjects participated in this study, consisting of patients with type 2 DM of less than or equal to 3 years duration. Screening was performed through questionnaire-based interviews. All subjects participated in this study after receiving clarification on the aims of the study and subsequently signing an informed consent form. For 6 months the vitamin D group received placebo tablets with added vitamin D at a dose of 5.000 IU, whereas the control group received the actual placebo tablets containing microcrystalline cellulose, calcium carbonate, sodium starch glycolate, and magnesium stearate. There were no differences between the vitamin D and the placebo tablets in color, form, smell, and packaging that were detectable by the investigator and the study subjects.

The subjects who passed the initial screening underwent baseline laboratory examinations consisting of determination of SGPT, albumin, creatinine, and calcium in the blood. Afterwards the subjects who passed the baseline laboratory screening and met the inclusion and exclusion criteria were included in the randomization. The blood samples were collected 3 times, namely before supplementation, after supplementation for 3 months and after supplementation for 6 months, to be subjected to laboratory examinations comprising 25-(OH)D, HbA1c, fasting blood glucose, fasting insulin, HOMA-IR, IL-6, SOD, VDR, and PDX-1 expression as well as SGPT, albumin, creatinine, and calcium for the

monitoring of adverse events. During the study notes were made on semi-quantitative food frequency at baseline and after supplementation for 3 and 6 months.

Subject compliance in taking the supplement tablets was supervised by the cadres and was recorded in the check list form for monitoring the taking of the tablets and by counting the tablets that remained in the bottles at the end of each month. Monitoring of adverse events was done by the cadres by filling in the adverse events form, while the investigator rechecked the data to evaluate the compliance of the subjects and to monitor any adverse events by performing weekly field visits every Tuesday and interviewing the study subjects at random.

Statistical analysis was performed with the Mann-Whitney test and the ANOVA multivariate general linear model (GLM) repeated measurements test. For the statistical analysis the SPSS 20 program was used at the significance level of $p < 0.05$.

RESULTS AND DISCUSSION

A total of 195 patients with type 2 DM who were more than 18 years old agreed to participate in the study, 183 subjects who met the inclusion and exclusion criteria underwent laboratory screening, and 114 subjects passed the laboratory screening and were included in the randomization of the control and vitamin D groups of 57 subjects for each group. Until the completion of the 6 months of supplementation, the respondents participating in this study totalled 94 subjects, consisting of 47 subjects in the vitamin D group and 47 subjects in the control group.

The subject characteristics at baseline showed no significant differences in the distribution of gender, age, educational level, employment history, BMI, DM duration, consumption of oral antidiabetics, sunbathing habit and habitual wearing of long-sleeved clothing. Baseline laboratory results in both groups for all parameters also did not show significant differences. Dietary and nutrient intakes also did not show significant differences between the two groups. This indicates that the performed randomization succeeded in uniformly distributing the variables between the two groups.

Compliance in taking the tablets after 3 months of supplementation in the vitamin D group (51 subjects) was 99.8% (4582/4590) and in the control group (50 subjects) was 99.7% (4489/4500). Compliance in taking the tablets after 3 to 6 months of supplementation in the intervention group (47 subjects) was 99.8% (4225/4230) and in the control group (47 subjects) was 99.9% (4227/4230).

Measurement of 25-(OH)D concentration after 3 and 6 months of supplementation was also meant to evaluate subject compliance in taking the supplement tablets. After 3 and 6 months of supplementation, the 25-(OH)D concentration in the control and vitamin D groups showed significant differences ($p = 0.000$). The increase in 25-(OH)D concentration after 3 months of supplementation showed the presence of subject compliance in consuming the supplement tablets. The strong 25-(OH)D response to vitamin D supplementation occurred after a low baseline 25-(OH)D concentration. The increase in 25-(OH)D concentration in the blood during the supplementation followed a biphasic curve, i.e. there was a rapid increase at extremely low 25-(OH)D concentrations and a slow response when the 25-(OH)D concentration had increased.

In this study there was increased SOD expression in the vitamin D and control groups after supplementation for 3 months, whereas after supplementation for 6 months there was decreased SOD expression in the control and vitamin D groups. The increased SOD expression in the vitamin D group after supplementation for 3 months showed that vitamin D was able to increase SOD because vitamin D can induce the expression of several molecules that are involved in the antioxidant defense system, including SOD, whereas the mechanism of the increase in SOD in the control group is as yet unclear. The decrease in SOD expression after supplementation for 6 months in the vitamin D group may have been caused by the adequate SOD expression after supplementation for 3 months.

In the initial stage of type 2 DM, the antioxidant defense is able to counteract the effect of increased free radicals such that presumably the antioxidant enzyme activity increases as a compensatory reaction against oxidative stress. However, in the later stages the balance between free radicals and antioxidant defense is reduced because of the reduced antioxidant activity due to depletion. SOD is the first line of

defense in combating free radicals such that hopefully SOD activity may counteract the oxidative stress at an earlier stage before the activity of other antioxidant enzymes. There are several factors that are causing the inconsistent serum or tissue antioxidant capacity in patients with type 2 DM, namely the difficulty in evaluating the antioxidant capacity in tissues that are sensitive to insulin, such as adipose tissue, and the use of oral antidiabetics with an antioxidant effect, such that these may mask the effect of the administration of vitamins and natural antioxidants in patients with type 2 DM.

In this study there was IL-6 expression at baseline, and after supplementation for 3 and 6 months IL-6 expression was almost identical in the control and vitamin D groups. After supplementation for 3 months there was increased IL-6 expression in the vitamin D and control groups, whereas after supplementation for 6 months there was reduced IL-6 expression in the vitamin D and control groups. This indicates that vitamin D exerted an effect on IL-6 after supplementation for 6 months. The inadequate effectiveness of vitamin D on IL-6 may have been due to the fact that type 2 DM constitutes a low-grade systemic inflammation, such that the effect of vitamin D was less pronounced. Vitamin D also activates the NF κ B inhibitory protein that plays a role in reducing the concentration of CRP and other proinflammatory molecules and may suppress IL-6 production.

In this study the expression of PDX-1 at baseline was not significantly different in the control and vitamin D groups. After supplementation for 3 and 6 months there was reduced PDX-1 expression in the control and vitamin D groups. The reduction in PDX-1 expression in the control group may have been caused by the administration of the placebo tablets that had no antioxidant effect and the low amount of antioxidant enzymes in the pancreatic beta cells. The reduction in PDX-1 expression in the vitamin D group may have been due to the inadequate antioxidant effect of the vitamin D. However, in the control and vitamin D groups after supplementation for 3 and 6 months there was increased PDX-1 expression in the vitamin D group as compared with the control group, showing an effect of vitamin D although not yet optimal in improving PDX-1 expression.

In this study there were no significant differences in blood glucose and HbA1c concentrations in the control and vitamin D groups after supplementation for 3 and

6 months. Vitamin D indirectly influences insulin secretion by the regulation of intracellular calcium homeostasis, such that the effect of vitamin D on glucose concentration may also have been affected by the serum calcium concentration. Calcium plays an important role in the regulation of the blood glucose concentration and affects the HbA1c concentration. The circulating calcium concentration is controlled by the parathyroid hormones and vitamin D. Reduced serum calcium concentrations in patients with type 2 DM lead to hypercalciuria, which stimulates the parathyroid hormones to maintain the serum calcium concentration. The parathyroid hormones also mediate glucose metabolism. In this study, the control group received placebo tablets containing calcium, which may have affected the blood glucose and HbA1c concentrations, such that they did not differ in the control and vitamin D groups.

In this study significant differences were found between the insulin concentrations and HOMA-IR values in the control and vitamin D groups after supplementation for 3 and 6 months. Insulin concentrations and HOMA-IR values decreased more in the vitamin D group than in the control group after supplementation for 3 and 6 months, but when compared to the baseline values, HOMA-IR values in the vitamin D and control groups were increased after supplementation for 3 and 6 months. Nevertheless, HOMA-IR values in the vitamin D group were lower than in the control group, showing an improvement in insulin resistance in the vitamin D group.

The increase in HOMA-IR values in the vitamin D and control groups may have been caused by alterations in blood glucose and insulin concentrations after the intervention. The HOMA-IR method is an inexpensive and simple technique for determining insulin resistance from fasting blood glucose and insulin concentrations. In this study the glucose and insulin concentrations were increased after supplementation for 3 and 6 months in the vitamin D and control groups.

In the present study it was found that the insulin concentration in the vitamin D group was lower than in the control group after supplementation for 3 and 6 months. This may have been caused by the increased 25-(OH)D concentrations in the vitamin D group, such that there was improved insulin resistance followed by

reduced insulin secretion. The increase in serum 25-(OH)D concentrations resulted in improved insulin resistance, increased insulin sensitivity, and reduced fasting insulin concentration. Insulin secretion is also influenced by the calcium concentration. In this study an increased insulin concentration was found in the control group, which may have been due to fact that the calcium present in the placebo tablets was able to affect insulin secretion. In this study all subjects had suffered from diabetes for less than 3 years and did not have chronic hyperglycemia. It is possible that the pancreatic beta cells were still well-functioning, such that they could maintain insulin secretion, which may have possibly resulted in raising the insulin concentration in the control group.

There was an increased VDR expression after supplementation for 3 months in the control and the vitamin D groups, but the VDR expression was reduced in both groups after supplementation for 6 months. The increased VDR expression after supplementation for 3 months in both groups may have been caused by genetic differences and also differences in environmental exposure of the study population, such that in the control group the VDR expression was able to rise although the group did not receive vitamin D supplementation, but this could not be determined in the present study and needs further studies. The reduced VDR expression in the vitamin D group after supplementation for 6 months, may have been due to the fact that the vitamin D concentration in this group was already adequate after supplementation for 3 months, such that the expression of VDR as the mediator of the biological action of vitamin D was reduced after supplementation for 3 months. In contrast, the reduction in VDR expression in the control group may have been due to lack of vitamin D intake from the diet or from supplementation, whereas environmental exposure may have diminished, such that the VDR expression was reduced, which also could not yet be proven in this study and as such needs further study.

The individual responses to vitamin D supplementation may differ due to variations in the VDR gene. VDR gene polymorphisms lead to modifications in VDR activity in response to vitamin D supplementation. The greater VDR activity is associated with a better response to vitamin D supplementation.

CONCLUSIONS AND RECOMMENDATIONS

Supplementation of vitamin D at a dose of 5.000 IU/day for 3 and 6 months was not proven to increase SOD expression, reduce IL-6 expression, and increase PDX-1 expression. Supplementation of vitamin D at a dose of 5.000 IU/day for 3 and 6 months was proven to increase insulin secretion in the vitamin D group but insulin concentrations in the vitamin D group was lower than the controls which indicated improve insulin resistance. Supplementation of vitamin D at a dose of 5.000 IU/day for 3 and 6 months was not proven to reduce insulin resistance and HbA1c concentration in the vitamin D group although there were significant differences in HOMA-IR values between the control group and the vitamin D group. HOMA-IR after supplementation for 3 and 6 months increased in both groups, but the increase in HOMA-IR in the control group was higher, such that it may be concluded that supplementation with 5.000 IU of vitamin D may improve insulin resistance. Supplementation of vitamin D at a dose of 5.000 IU/day for 3 and 6 months was proven to be safe, as seen from the increase in 25-(OH)D concentrations that were within normal limits, but the safety from the viewpoint of VDR expression was not proven.

In this study it was found that supplementation of vitamin D at a dose of 5.000 IU/day for 3 and 6 months can improve insulin resistance, such that it is expected that there is improvement in the nutritional management and guidance of vitamin D for patients with type 2 DM. In this study a role of calcium and endothelial cells may have been found, such that further studies should be conducted on the role of calcium in insulin secretion and glucose metabolism and the role of endothelial cells in improving insulin resistance.

DAFTAR PUSTAKA

1. Mihardja L, Soetrisno U, Soegondo S. Prevalence and clinical profile of diabetes mellitus in productive aged urban Indonesians. *J Diabetes Investig.* 2014;5(5):507–12.
2. Direktorat Pencegahan dan Pengendalian Penyakit Tidak Menular Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Lindungi keluarga dari DM.(Online). 2014 (cited 2021 Feb 12). Available from:URL: <http://p2ptm.kemkes.go.id/post/lindungi-keluarga-dari-DM>.
3. Wild S, Roglic G, Green A, Sicree R, King H. Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes Care.* 2004;27(5):1047–53.
4. Shaw JE, Sicree RA, Zimmet PZ. Global estimates of the prevalence of diabetes for 2010 and 2030. *Diabetes Res Clin Pract.* 2010;87(1):4–14.
5. Tetap produktif, cegah dan atasi DM melitus. Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan Republik Indonesia 2020. ISSN 2442–7659
6. Pittas AG, Lau J, Hu FB, Dawson-Hughes B. The role of vitamin D and calcium in type 2 diabetes. A systematic review and meta-analysis. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007;92(6):2017–29.
7. Rehman K, Akash MSH, Liaqat A, Kamal S, Qadir MI, Rasul A. Role of Interleukin-6 in development of insulin resistance and type 2 diabetes mellitus. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr.* 2017;27(3):229–36.
8. Akash MS, Rehman K, Chen S. Role of inflammatory mechanisms in pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. *J Cell Biochem.* 2013;114(3):525–31.
9. Lehrskov LL, Christensen RH. The role of interleukin-6 in glucose homeostasis and lipid metabolism. *Semin Immunopathol.* 2019;41(4):491–9.
10. Badawi A, Klip A, Haddad P, Cole DE, Bailo BG, El-Sohemy A, dkk. Type 2 diabetes mellitus and inflammation: prospects for biomarkers of risk and nutritional intervention. *Diabetes Metab Syndr Obes.* 2010;3:173–86.
11. Cernea S, Dobreanu M. Diabetes and beta cell function: from mechanisms to evaluation and clinical implications. *Biochem Med (Zagreb).* 2013;23(3):266–80.
12. Liang C, Hao F, Yao X, Qiu Y, Liu L, Wang S, dkk. Hypericin maintains PDX1 expression via the Erk pathway and protects islet beta-cells against glucotoxicity and lipotoxicity. *Int J Biol Sci.* 2019;15(7):1472–87.
13. Mustofa MS. Pemendekan telomer pada penderita diabetes melitus. *J Kedokt Yars.* 2015;23(3):197–211.
14. Fujimoto K, Polonsky KS. Pdx1 and other factors that regulate pancreatic beta-cell survival. *Diabetes Obes Metab.* 2009;11 Suppl 4:30–7.
15. Al-Quobaili F, Montenarh M. Pancreatic duodenal homeobox factor-1 and diabetes mellitus type 2 (review). *Int J Mol Med.* 2008;21(4):399–404.

16. Kaneto H, Matsuoka TA, Kimura T, Obata A, Shimoda M, Kamei S, dkk. Appropriate therapy for type 2 diabetes mellitus in view of pancreatic beta-cell glucose toxicity: "the earlier, the better". *J Diabetes*. 2016;8(2):183–9.
17. Nugroho FA, Ginting RMS, Nurdiana. Kadar NF- K β pankreas tikus model type 2 diabetes mellitus dengan pemberian tepung susu sapi. *IJHN*. 2015;2(2):91–100.
18. Mousa A, Naderpoor N, Johnson J, Sourris K, de Courten MPJ, Wilson K, dkk. Effect of vitamin D supplementation on inflammation and nuclear factor kappa-B activity in overweight/obese adults: a randomized placebo-controlled trial. *Sci Rep*. 2017;7(1):1–11.
19. Alfonso B, Liao E, Busta A, Poretsky L. Vitamin D in diabetes mellitus-a new field of knowledge poised for development. *Diabetes Metab Res Rev*. 2009;25(5):417–9.
20. Mansournia MA, Ostadmohammadi V, Doosti-Irani A, Ghayour-Mobarhan M, Ferns G, Akbari H, dkk. The effects of vitamin D supplementation on biomarkers of inflammation and oxidative stress in diabetic patients: a systematic review and meta-Analysis of randomized controlled trials. *Horm Metab Res*. 2018;50(6):429–40.
21. Yu Y, Tian L, Xiao Y, Huang G, Zhang M. Effect of vitamin D supplementation on some inflammatory biomarkers in type 2 diabetes mellitus subjects: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Ann Nutr Metab*. 2018;73(1):62–73.
22. Lee WC, Mokhtar SS, Munisamy S, Yahaya S, Rasool AHG. Vitamin D status and oxidative stress in diabetes mellitus. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)*. 2018;64(7):60–9.
23. Kaneto H, Katakami N, Matsuhisa M, Matsuoka TA. Role of reactive oxygen species in the progression of type 2 diabetes and atherosclerosis. *Mediators Inflamm*. 2010;2010:453892.
24. Mokhtari Z, Hekmatdoost A, Nourian M. Antioxidant efficacy of vitamin D. *J Parathyroid Dis*. 2017;5(1):11–6.
25. Ajabshir S. The effect of vitamin D3 supplementation on biomarkers of oxidative stress and glycemic status in adults with type 2 diabetes. Miami, Florida: Florida International University (Dissertation); 2018.
26. Harinarayan CV. Vitamin D and diabetes mellitus. *Hormones (Athens)*. 2014;13(2):163–81.
27. Pludowski P, Holick MF, Grant WB, Konstantynowicz J, Mascarenhas MR, Haq A, dkk. Vitamin D supplementation guidelines. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2018;175:125–35.
28. Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, Gordon CM, Hanley DA, Heaney RP, dkk. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an endocrine society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011;96(7):1911–30.

29. Dudenkov DV, Yawn BP, Oberhelman SS, Fischer PR, Singh RJ, Cha SS, dkk. Changing incidence of serum 25-hydroxyvitamin D values above 50 ng/mL: A 10-year population-based study. *Mayo Clin Proc.* 2015;90(5):577–86.
30. Pietras SM, Obayan BK, Cai MH, Holick MF. Vitamin D2 treatment for vitamin D deficiency and insufficiency for up to 6 years. *Arch Intern Med.* 2009;169(19):1806–8.
31. Ekwaru JP, Zwicker JD, Holick MF, Giovannucci E, Veugelers PJ. The importance of body weight for the dose response relationship of oral vitamin D supplementation and serum 25-hydroxyvitamin D in healthy volunteers. *PLoS One.* 2014;9(11):e111265.
32. Al-Sofiani ME, Jammah A, Racz M, Khawaja RA, Hasanato R, El-Fawal HA, dkk. Effect of vitamin D supplementation on glucose control and inflammatory response in type II diabetes: a double blind, randomized clinical trial. *Int J Endocrinol Metab.* 2015;13(1):e22604.
33. Fagundes GE, Macan TP, Rohr P, Damiani AP, Da Rocha FR, Pereira M, dkk. Vitamin D3 as adjuvant in the treatment of type 2 diabetes mellitus: modulation of genomic and biochemical instability. *Mutagenesis.* 2019;34(2):135–45.
34. Von Hurst PR, Stonehouse W, Coad J. Vitamin D supplementation reduces insulin resistance in South Asian women living in New Zealand who are insulin resistant and vitamin D deficient - a randomised, placebo-controlled trial. *Br J Nutr.* 2010;103(4):549–55.
35. Das G. Vitamin D and type 2 diabetes. *Practical Diabetes.* 2017;34(1):19–24.
36. Borissova AM, Tankova T, Kirilov G, Dakovska L, Kovacheva R. The effect of vitamin D3 on insulin secretion and peripheral insulin sensitivity in type 2 diabetic patients. *Int J Clin Pract.* 2003;57(4):258–61.
37. Talaie A, Mohamadi M, Adgi Z. The effect of vitamin D on insulin resistance in patients with type 2 diabetes. *Diabetol Metab Syndr.* 2013;5(8):1–5.
38. Dimitriadis G, Maratou E, Boutati E, Psarra K, Papasteriades C, Raptis SA. Evaluation of glucose transport and its regulation by insulin in human monocytes using flow cytometry. *Cytometry A.* 2005;64(1):27–33.
39. Nandy D, Janardhanan R, Mukhopadhyay D, Basu A. Effect of hyperglycemia on human monocyte activation. *J Investig Med.* 2011;59(4):661–7.
40. Zlatkina OKV, Yarmish N, Shalimova A. Trigger mechanisms in insulin resistance and diabetes mellitus development. *Vessel Plus.* 2019;3(7):1–11.
41. Suyono S. Diabetes Melitus di Indonesia. In: Sudoyo AW, Setiyohadi B, Alwi I, Simadibrata M, Setiati S, editor. *Buku ajar Ilmu Penyakit Dalam 3.* Jakarta: Pusat Penerbitan Departemen Ilmu Penyakit Dalam FKUI; 2006. p. 1852–6.
42. Banjarnahor E, Wangko S. Sel Beta Pankreas Sintesis Dan Sekresi Insulin. *JBM.* 2012;4(3):156–162.

43. Weir GC, Bonner-Weir S. Islet beta cell mass in diabetes and how it relates to function, birth, and death. *Ann N Y Acad Sci.* 2013;1281:92–105.
44. Wilcox G. Insulin and insulin resistance. *Clin Biochem Rev.* 2005;26(2):19–39.
45. Fu Z, Gilbert ER, Liu D. Regulation of insulin synthesis and secretion and pancreatic Beta-cell dysfunction in diabetes. *Curr Diabetes Rev.* 2013;9(1):25–53.
46. Liu M, Weiss MA, Arunagiri A, Yong J, Rege N, Sun J, dkk. Biosynthesis, structure, and folding of the insulin precursor protein. *Diabetes Obes Metab.* 2018;20 Suppl 2:28–50.
47. Szymczak-Pajor I, Sliwinska A. Analysis of association between vitamin D deficiency and insulin resistance. *Nutrients.* 2019;11(4):1–28.
48. Najwa N, Khaza'ai H. Review on potential vitamin D mechanism with type 2 diabetes mellitus pathophysiology in Malaysia. *Current Research in Nutrition and Food Science.* 2018;6(1):1–11.
49. Ozkan GO. The effects of vitamin D on obesity, insulin resistance and type 2 diabetes. *J Obes Overweig.* 2019;5(1):101–8.
50. Guadarrama-Lopez AL, Valdes-Ramos R, Martinez-Carrillo BE. Type 2 diabetes, PUFAs, and vitamin D: their relation to inflammation. *J Immunol Res.* 2014;2014:860703.
51. Cieslak M, Wojtczak A, Cieslak M. Role of pro-inflammatory cytokines of pancreatic islets and prospects of elaboration of new methods for the diabetes treatment. *Acta Biochim Pol.* 2015;62(1):15–21.
52. Yaribeygi H, Sathyapalan T, Atkin SL, Sahebkar A. Molecular mechanisms linking oxidative stress and diabetes mellitus. *Oxid Med Cell Longev.* 2020;2020:8609213.
53. Maedler K, Dharmadhikari G, Schumann DM, Storling J. Interleukin-1 beta targeted therapy for type 2 diabetes. *Expert Opin Biol Ther.* 2009;9(9):1177–88.
54. Wang C, Guan Y, Yang J. Cytokines in the progression of pancreatic β -cell dysfunction. *Int J Endocrinol.* 2010;2010:1–10.
55. Cristina M. Sena, Pereira P, Marques F, Seica aR. Diabetes mellitus: new challenges and innovative therapies. Springer Science+Business Media Dordrecht. 2013:29–87.
56. Rona Kartika HW. Vitamin D suppresses inflammatory responses in insulin resistance. *J Med Sci.* 2020;52(2):171–80.
57. Serasanambati M, Chilakapati SR. Function of Nuclear Factor Kappa B (NF- κ B) in human diseases-a review. *SIJBS.* 2016;2(4):368–87.
58. Suryavanshi SV, Kulkarni YA. NF-kappabeta: A potential target in the management of vascular complications of diabetes. *Front Pharmacol.* 2017;8:798.

59. Meyerovich K, Ortis F, Cardozo AK. The non-canonical NF-kappaB pathway and its contribution to beta-cell failure in diabetes. *J Mol Endocrinol*. 2018;61(2):F1–F6.
60. Rehman K, Akash MS. Mechanisms of inflammatory responses and development of insulin resistance: how are they interlinked? *J Biomed Sci*. 2016;23(1):1–18.
61. Tanaka T, Narazaki M, Kishimoto T. IL-6 in inflammation, immunity, and disease. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2014;6(10):a016295.
62. Akbari M, Hassan-Zadeh V. IL-6 signalling pathways and the development of type 2 diabetes. *Inflammopharmacology*. 2018;26(3):685–98.
63. Lainampetch J, Panprathip P, Phosat C, Chumpathat N, Prangthip P, Soonthornworasiri N, dkk. Association of tumor necrosis factor alpha, interleukin 6, and C-Reactive Protein with the risk of developing type 2 diabetes: a retrospective cohort study of rural Thais. *J Diabetes Res*. 2019;2019:9051929.
64. Marchetti P, Bugliani M, De Tata V, Suleiman M, Marselli L. Pancreatic Beta Cell Identity in Humans and the Role of Type 2 Diabetes. *Front Cell Dev Biol*. 2017;5(55):1–8.
65. Zhang Y, Fang X, Wei J, Miao R, Wu H, Ma K, dkk. PDX-1: A Promising Therapeutic Target to Reverse Diabetes. *Biomolecules*. 2022;12(12):1–23.
66. Yu J, Liu SH, Sanchez R, Nemunaitis J, Rozengurt E, Brunnicardi FC. PDX1 associated therapy in translational medicine. *Ann Transl Med*. 2016;4(11):1–6.
67. Spaeth JM, Walker EM, Stein R. Impact of Pdx1-associated chromatin modifiers on islet beta-cells. *Diabetes Obes Metab*. 2016;18 Suppl 1:123–7.
68. Chang YC, Chuang LM. The role of oxidative stress in the pathogenesis of type 2 diabetes: from molecular mechanism to clinical implication. *Am J Transl Res*. 2010;2(3):316–31.
69. Kaneto H, Matsuoka TA, Miyatsuka T, Kawamori D, Katakami N, Yamasaki Y, dkk. PDX-1 functions as a master factor in the pancreas. *Front Biosci*. 2008;13:6406–20.
70. Kaneto H, Xu G, Fujii N, Kim S, Bonner-Weir S, Weir GC. Involvement of c-Jun N-terminal kinase in oxidative stress-mediated suppression of insulin gene expression. *J Biol Chem*. 2002;277(33):30010–8.
71. Herawati L, Wigati KW, Rejeki PS, Widjiati W, Irawan R. Increased apoptosis, but not PDX-1 expression in pancreatic islets is associated with intermittent glucose loads in mice. *Diabetes mellitus*. 2018;21(6):497–505.
72. Isabella ARS. Transcriptional regulation of insulin gene expression. (Online). 2008 (cited 2020 Nov 26). Available from: URL: <https://www.researchgate.net/publication/265160044>
73. Brereton MF, Rohm M, Ashcroft FM. beta-cell dysfunction in diabetes: a crisis of identity? *Diabetes Obes Metab*. 2016;18 Suppl 1:102–9.

74. Li Z, Yalan W, Yanhong L, Li L, Xiaohong W, Yan L. miR-765 Impairs pancreatic beta-cell function by targeting PDX1 in type 2 DM. 2020 (cited 2021 Feb 25). Available from: URL: <https://www.researchsquare.com/article/rs-44969/v1>
75. Seshadri KG, Rajendran A. Role of vitamin D in diabetes. *J Endocrinol Metab.* 2011;1(2):47–56.
76. Dewi YP. An Overview: Vitamin D. (Online). 2017 (cited 2019 Feb 24). Available from: URL: <https://www.researchgate.net/publication/319997190>
77. Jacob TNA, Siswati AS, Budiyo A, Triwahyudi D, Sirait SAP, Mawardi P, dkk. Pengaruh sinar ultraviolet terhadap kesehatan kajian terhadap berjemur (Sun exposures). Jakarta: PERDOSKI; 2020. p. 1–15
78. Holick MF. Biological effects of sunlight, ultraviolet radiation, visible light, infrared radiation and vitamin D for health. *Anticancer Res.* 2016;36(3):1345–56.
79. Rimahardika SH, Wijayanti HS. Asupan vitamin D dan paparan sinar matahari pada orang yang bekerja di dalam ruangan dan di luar ruangan. *JNC.* 2017;6(4):333–42.
80. Setiati S. Pengaruh pajanan sinar ultraviolet B bersumber dari sinar matahari terhadap konsentrasi vitamin D (25(OH)D) dan hormon paratiroid pada perempuan usia lanjut Indonesia. *Kesmas.* 2008;2(4):147–53.
81. Battault S, Whiting SJ, Peltier SL, Sadrin S, Gerber G, Maixent JM. Vitamin D metabolism, functions and needs: from science to health claims. *Eur J Nutr.* 2013;52(2):429–41.
82. Jones G. Pharmacokinetics of vitamin D toxicity. *Am J Clin Nutr.* 2008;88(2):582S–6S.
83. El-Fakhri N, McDevitt H, Shaikh MG, Halsey C, Ahmed SF. Vitamin D and its effects on glucose homeostasis, cardiovascular function and immune function. *Horm Res Paediatr.* 2014;81(6):363–78.
84. Souza CLe, de Sá LBPC, Rocha DRTW, Arbex AK. Vitamin D and diabetes mellitus: a review. *OJEMD.* 2016;6:1–7.
85. Bikle D, Adams J, Christakos S. Vitamin D: Production, metabolism, mechanism of action, and clinical requirements. *Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism: Seventh Edition* 2009. p. 141–9.
86. Ozfirat Z, Chowdhury TA. Vitamin D deficiency and type 2 diabetes. *Postgrad Med J.* 2010;86(1011):18–25.
87. Pusparini. Defisiensi vitamin D terhadap penyakit. *IJCPML.* 2014;21(1):90–5.
88. Hossein-nezhad A, Holick MF. Vitamin D for health: a global perspective. *Mayo Clin Proc.* 2013;88(7):720–55.
89. Setiati S. Vitamin D status among Indonesian elderly women living in institutionalized care units. *Acta Med Indones.* 2008;40(2):78–83.

90. Hidayat R, Setiati S, Soewondo P. The association between vitamin D deficiency and type 2 diabetes mellitus in elderly patients. *Acta Med Indones.* 2010;42(3):123–9.
91. Kanakaraju RSR, Shankar R. Correlation of vitamin D3 levels and the blood sugar parameters among the patients with type 2 diabetes mellitus. *IJCMR.* 2017;4(4):844–7.
92. Tuomainen TP, Virtanen JK, Voutilainen S, Nurmi T, Mursu J, de Mello VD, dkk. Glucose metabolism effects of vitamin D in prediabetes: randomized placebo-controlled supplementation study. *J Diabetes Res.* 2015;2015:672653.
93. Tripkovic L, Lambert H, Hart K, Smith CP, Bucca G, Penson S, dkk. Comparison of vitamin D2 and vitamin D3 supplementation in raising serum 25-hydroxyvitamin D status: a systematic review and meta-analysis. *Am J Clin Nutr.* 2012;95(6):1357–64.
94. Orwoll E, Riddle M, Prince M. Effects of vitamin D on insulin and glucagon secretion in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Am J Clin Nutr.* 1994;59(5):1083–7.
95. Vieth R. Vitamin D toxicity, policy, and science. *J Bone Miner Res.* 2007;22 Suppl 2:V64–8.
96. Afrozul H, Chareles S. Vitamin D deficiency, metabolism and routine measurement of its metabolites [25(OH)D2 and 25(OH)D3]. *J Chromatogr Sep Tech.* 2015;6(4):1–5.
97. Azlin A, Syafril S, Ganie RA. The difference of vitamin D levels between controlled and uncontrolled type 2 diabetes mellitus patients. *IJCPML.* 2019;26(1):18–22.
98. Sanda A, Bahrin U, Pakasi RDN, Aman AM. Analysis of vitamin D in patients with type 2 diabetes mellitus. *IJCPML.* 2019;25(2):150–4.
99. Kostoglou-Athanassiou I, Athanassiou P, Gkountouvas A, Kaldrymides P. Vitamin D and glycemic control in diabetes mellitus type 2. *Ther Adv Endocrinol Metab.* 2013;4(4):122–8.
100. Harris SS, Pittas AG, Palermo NJ. A randomized, placebo-controlled trial of vitamin D supplementation to improve glycaemia in overweight and obese African Americans. *Diabetes Obes Metab.* 2012;14(9):789–94.
101. Davidson MB, Duran P, Lee ML, Friedman TC. High-dose vitamin D supplementation in people with prediabetes and hypovitaminosis D. *Diabetes Care.* 2013;36(2):260–6.
102. Jiffri EH. Vitamin D status and glucose hemostasis among Saudi type 2 diabetic patients. *J Diabetes Metab Disord Control.* 2017;4(4):110–4.
103. Mirhosseini N, Vatanparast H, Mazidi M, Kimball SM. The effect of improved serum 25-Hydroxyvitamin D status on glycemic control in diabetic patients: a meta-analysis. *J Clin Endocrinol Metab.* 2017;102(9):3097–110.

104. Wu C, Qiu S, Zhu X, Li L. Vitamin D supplementation and glycemic control in type 2 diabetes patients: a systematic review and meta-analysis. *Metabolism*. 2017;73:67–76.
105. Eftekhari MH, Akbarzadeh M, Dabbaghmanesh MH, Hasanzadeh J. Impact of treatment with oral calcitriol on glucose indices in type 2 diabetes mellitus patients. *Asia Pac J Clin Nutr*. 2011;20(4):521–6.
106. Nigil Haroon N, Anton A, John J, Mittal M. Effect of vitamin D supplementation on glycemic control in patients with type 2 diabetes: a systematic review of interventional studies. *J Diabetes Metab Disord*. 2015;14(3):1–11.
107. Ravneet K. Sandhu GS, Satya BN, Meenakshi G. To study the efficacy and safety of Vitamin D as an add-on therapy in patients of type 2 diabetes mellitus on oral antidiabetic drugs. *Int J Basic Clin Pharmacol*. 2015;4(6):1276–80.
108. El Hajj C, Walrand S, Helou M, Yammine K. Effect of vitamin D supplementation on inflammatory markers in non-obese Lebanese patients with type 2 diabetes: a randomized controlled trial. *Nutrients*. 2020;12(7):1–12.
109. Wang W, Zhang J, Wang H, Wang X, Liu S. Vitamin D deficiency enhances insulin resistance by promoting inflammation in type 2 diabetes. *Int J Clin Exp Pathol*. 2019;12(5):1859–67.
110. Kawamori D, Kajimoto Y, Kaneto H, Umayahara Y, Fujitani Y, Miyatsuka T, dkk. Oxidative stress induces nucleo-cytoplasmic translocation of pancreatic transcription factor PDX-1 through activation of c-Jun NH(2)-terminal kinase. *Diabetes*. 2003;52(12):2896–904.
111. Tiwari BK, Pandey KB, Abidi AB, Rizvi SI. Markers of oxidative stress during diabetes mellitus. *J Biomark*. 2013;2013:378790.
112. Shab-Bidar S, Neyestani TR, Djazayeri A. The interactive effect of improvement of vitamin D status and VDR FokI variants on oxidative stress in type 2 diabetic subjects: a randomized controlled trial. *Eur J Clin Nutr*. 2015;69(2):216–22.
113. Anandabaskar N, Selvarajan S, Dkhar SA, Kamalanathan SK, Tamilarasu K, Bobby Z. Effect of vitamin D supplementation on vascular functions and oxidative stress in type 2 diabetic patients with vitamin D deficiency. *Indian J Endocrinol Metab*. 2017;21(4):555–63.
114. Alamir TH, Al Adwani SO. Antioxidant role of vitamin D and its correlation with vitamin D deficiency in adults: a systematic review. *IJMDC*. 2021;5(3):948–53.
115. Saif-Elnasr M, Ibrahim IM, Alkady MM. Role of Vitamin D on glycemic control and oxidative stress in type 2 diabetes mellitus. *J Res Med Sci*. 2017;22(22):1–5.
116. Safarpour P, Vafa MR, Amiri F, Janani L, Noorbakhsh M, Rajabpour Nikoo E, dkk. A double blind randomized clinical trial to investigate the effect of

- vitamin D supplementation on metabolic and hepato-renal markers in type 2 diabetes and obesity. *Med J Islam Repub Iran*. 2018;32(34):1–8.
117. Calton EK, Keane KN, Newsholme P, Soares MJ. The impact of vitamin D levels on inflammatory status: a systematic review of immune cell studies. *PLoS One*. 2015;10(11):e0141770.
 118. Al Dubayee MS, Alayed H, Almansour R, Alqaoud N, Alnamlah R, Obeid D, dkk. Differential expression of human peripheral mononuclear cells phenotype markers in type 2 diabetic patients and type 2 diabetic patients on metformin. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2018;9:537.
 119. Mokgalaboni K, Dlodla PV, Nyambuya TM, Yakobi SH, Mxinwa V, Nkambule BB. Monocyte-mediated inflammation and cardiovascular risk factors in type 2 diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis of pre-clinical and clinical studies. *JRSM Cardiovasc Dis*. 2020;9:2048004019900748.
 120. Kim M, Kim M, Han JY, Lee SH, Jee SH, Lee JH. The metabolites in peripheral blood mononuclear cells showed greater differences between patients with impaired fasting glucose or type 2 diabetes and healthy controls than those in plasma. *Diab Vasc Dis Res*. 2017;14(2):130–8.
 121. Younis M. Autologous peripheral blood mononuclear cells can lead to pancreatic beta cell regeneration. *Internal Medicine: Open Access*. 2019;9(1):1–8.
 122. Kyventidis A, Tzimagiorgis G, Didangelos T. Peripheral blood monocytes can differentiate into efficient insulin-producing cells in vitro. *Hippokratia*. 2015;19(4):344–51.
 123. Ogunkolade WB, Boucher BJ, Bustin SA, Burrin JM, Noonan K, Mannan N, dkk. Vitamin D metabolism in peripheral blood mononuclear cells is influenced by chewing "betel nut" (*Areca catechu*) and vitamin D status. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006;91(7):2612–7.
 124. Giulietti A, Van Etten E, Overbergh L, Stoffels K, Bouillon R, Mathieu C. Monocytes from type 2 diabetic patients have a pro-inflammatory profile. 1,25-Dihydroxyvitamin D(3) works as anti-inflammatory. *Diabetes Res Clin Pract*. 2007;77(1):47–57.
 125. Meireles MS, Kamimura MA, Dalboni MA, Giffoni de Carvalho JT, Aoike DT, Cuppari L. Effect of cholecalciferol on vitamin D-regulatory proteins in monocytes and on inflammatory markers in dialysis patients: A randomized controlled trial. *Clin Nutr*. 2016;35(6):1251–8.
 126. Monserrat-Mesquida M, Quetglas-Llabres M, Bouzas C, Capo X, Mateos D, Ugariza L, dkk. Peripheral blood mononuclear cells oxidative stress and plasma inflammatory biomarkers in adults with normal weight, overweight and obesity. *Antioxidants (Basel)*. 2021;10(5):1–12.
 127. Zeng Y, David J, Remond D, Dardevet D, Savary-Auzeloux I, Polakof S. Peripheral blood mononuclear cell metabolism acutely adapted to

- postprandial transition and mainly reflected metabolic adipose tissue adaptations to a high-fat diet in minipigs. *Nutrients*. 2018;10(11):1–20.
128. Wenclewska S, Szymczak-Pajor I, Drzewoski J, Bunk M, Sliwinska A. Vitamin D supplementation reduces both oxidative DNA damage and insulin resistance in the elderly with metabolic disorders. *Int J Mol Sci*. 2019;20(12):1–17.
 129. Ren Q, Xie H, Chen YQ, Wu CF, Li H, Lu YW, dkk. Effect of micronutrient pack on micronutrient status and antioxidant capacities among institutional older adults in Shanghai, China. *Asia Pac J Clin Nutr*. 2019;28(3):457–66.
 130. Anonymous. Leaflet Human Insulin. Roche.
 131. Anonymous. Leaflet Glucose. Roche.
 132. Anonymous. Leaflet 25-OH Vitamin D. Abbott.
 133. Akobeng AK. Assessing the validity of clinical trials. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2008;47:277–82.
 134. Arabi A, El Rassi R, El-Hajj Fuleihan G. Hypovitaminosis D in developing countries-prevalence, risk factors and outcomes. *Nat Rev Endocrinol*. 2010;6(10):550–61.
 135. Chandler PD, Giovannucci EL, Scott JB, Bennett GG, Ng K, Chan AT, dkk. Effects of vitamin D supplementation on C-peptide and 25-hydroxyvitamin D concentrations at 3 and 6 months. *Sci Rep*. 2015;5:1–9.
 136. Luttmann-Gibson H, Mora S, Camargo CA, Cook NR, Demler OV, Ghoshal A, dkk. Serum 25-hydroxyvitamin D in the vitamin D and omega-3 trial (VITAL): clinical and demographic characteristics associated with baseline and change with randomized vitamin D treatment. *Contemp Clin Trials*. 2019;87:1–22.
 137. Best CM, Zelnick LR, Thummel KE, Hsu S, Limonte C, Thadhani R, dkk. Serum vitamin D: correlates of baseline concentration and response to supplementation in VITAL-DKD. *J Clin Endocrinol Metab*. 2022;107(2):525–37.
 138. Heaney RP, Armas LA, Shary JR, Bell NH, Binkley N, Hollis BW. 25-Hydroxylation of vitamin D3: relation to circulating vitamin D3 under various input conditions. *Am J Clin Nutr*. 2008;87(6):1738–42.
 139. Rahme M, Sharara SL, Baddoura R, Habib RH, Halaby G, Arabi A, dkk. Impact of calcium and two doses of vitamin D on bone metabolism in the elderly: a randomized controlled trial. *J Bone Miner Res*. 2017;32(7):1486–95.
 140. Simoliunas E, Rinkunaite I, Bukelskiene Z, Bukelskiene V. Bioavailability of different vitamin D oral supplements in laboratory animal model. *Medicina (Kaunas)*. 2019;55(6):1–7.
 141. Jehle S, Lardi A, Felix B, Hulter HN, Stettler C, Krapf R. Effect of large doses of parenteral vitamin D on glycaemic control and calcium/phosphate metabolism in patients with stable type 2 diabetes mellitus: a randomised,

- placebo-controlled, prospective pilot study. *Swiss Med Wkly*. 2014;144:w13942.
142. Saedisomeolia A, Tahari E, Djalali M, Djazayeri A, Qorbani M, Rajab A, dkk. Vitamin D status and its association with antioxidant profiles in diabetic patients: a cross-sectional study in Iran. *Indian J Med Sci* 2013;67:29–37.
 143. Abdel Ati MI, Pasha HF, El-Gayar AM, El-Shishtawy MM. Anti-inflammatory and anti-oxidative effects of vitamin D supplementation in type 2 diabetic rats' model. *Annals of RSCB*. 2021;25(4):4082–99.
 144. Nikooyeh B, Neyestani TR, Tayebinejad N, Alavi-Majd H, Shariatzadeh N, Kalayi A, dkk. Daily intake of vitamin D or calcium vitamin D fortified Persian yogurt drink (doogh) attenuates diabetes induced oxidative stress: evidence for antioxidative properties of vitamin D. *J Hum Nutr Diet*. 2014;27 Suppl 2:276–83.
 145. Yiu YF, Yiu KH, Siu CW, Chan YH, Li SW, Wong LY, dkk. Randomized controlled trial of vitamin D supplement on endothelial function in patients with type 2 diabetes. *Atherosclerosis*. 2013;227(1):140–6.
 146. Barzegari M, Sarbakhsh P, Mobasser M, Noshad H, Esfandiari A, Khodadadi B, dkk. The effects of vitamin D supplementation on lipid profiles and oxidative indices among diabetic nephropathy patients with marginal vitamin D status. *Diabetes Metab Syndr*. 2019;13(1):542–7.
 147. Cojic M, Kocic R, Klisic A, Cvejanov-Kezunovic L, Kavacic N, Kocic G. A novel mechanism of vitamin D anti-inflammatory/antioxidative potential in type 2 diabetic patients on metformin therapy. *Arch Med Sci*. 2020;16(5):1004–12.
 148. Soyoung Park. Can antioxidants be effective therapeutics for type 2 diabetes? *Yeungnam Univ J Med*. 2021;38(2):83–94.
 149. Tagliaferri S, Porri D, De Giuseppe R, Manuelli M, Alessio F, Cena H. The controversial role of vitamin D as an antioxidant: results from randomised controlled trials. *Nutr Res Rev*. 2019;32(1):99–105.
 150. Akbarzadeh M, Eftekhari MH, Dabbaghmanesh MH, Hasanzadeh J, Bakhshayeshkaram M. Serum IL-18 and hsCRP correlate with insulin resistance without effect of calcitriol treatment on type 2 diabetes. *Iran J Immunol*. 2013;10(3):167–76.
 151. Pasupuleti P, Suchitra MM, Bitla AR, Sachan A. Attenuation of oxidative stress, Interleukin-6, high-sensitivity C-reactive protein, plasminogen activator inhibitor-1, and fibrinogen with oral vitamin D supplementation in patients with T2DM having vitamin D deficiency. *J Lab Physicians*. 2022;14(2):190–6.
 152. Sinha-Hikim I, Duran P, Shen R, Lee M, Friedman TC, Davidson MB. Effect of long term vitamin D supplementation on biomarkers of inflammation in Latino and African-American subjects with pre-diabetes and hypovitaminosis D. *Horm Metab Res*. 2015;47(4):280–3.

153. Santana AG, Cortes JMR, Barrera LJR, Juárez ACH, Riaño DJA, Zerón HM. Pancreatic Duodenal Homeobox Factor-1 and Neurogenin-3 serum expression in gestational diabetes. *Global Journal of Medical, Pharmaceutical, and Biomedical Update*. 2020;15(6):1–7.
154. Wang N, Tong R, Xu J, Tian Y, Pan J, Cui J, dkk. PDX1 and MC4R genetic polymorphisms are associated with type 2 diabetes mellitus risk in the Chinese Han population. *BMC Med Genomics*. 2021;14(1):1–15.
155. Cnop M, Welsh N, Jonas JC, Jorns A, Lenzen S, Eizirik DL. Mechanisms of pancreatic beta-cell death in type 1 and type 2 diabetes: many differences, few similarities. *Diabetes*. 2005;54 Suppl 2:S97–107.
156. Bhosle DS, Mubeen MF. Evaluation of effect of vitamin D supplementation on glycemic control in patients of type 2 diabetes mellitus. *J Diabetes Metab Disord*. 2018;9(10):1–12.
157. Ibrahim DE, Abd el Wahed HA, Abdo HA, Soltan EM. Effect of cholecalciferol supplementation on glycemic control, beta cell function and insulin resistance among type 2 diabetics attending the family medicine outpatient clinic affiliated to Suez Canal University Hospital, Ismailia City, Egypt. *Med J Cairo Univ*. 2019;87(1):435–43.
158. Hasan SAE, Elsheikh WAR, Rahman NIA, ElBagir NM. Serum calcium levels in correlation with glycated hemoglobin in type 2 diabetic Sudanese patients. *Advances in Diabetes and Metabolism*. 2016;4(4):59–64.
159. Kumar G, Laghari J, Memon S, Qazi N, Shahani MY, Jamali S. Effect of vitamin D supplementation on glycosylated hemoglobin in patients of type 2 diabetes mellitus taking oral antidiabetic drug:metformin. *Professional Med J* 2019;11:1925–30.
160. Randhawa FA, Mustafa S, Khan DM, Hamid S. effect of vitamin D supplementation on reduction in levels of HbA1 in patients recently diagnosed with type 2 diabetes mellitus having asymptomatic vitamin D deficiency. *Pak J Med Sci*. 2017;33(4):881–5.
161. Al-Daghri NM, Alkharfy KM, Al-Othman A, El-Kholie E, Moharram O, Alokail MS, dkk. Vitamin D supplementation as an adjuvant therapy for patients with T2DM: an 18-month prospective interventional study. *Cardiovasc Diabetol*. 2012;11:1–7.
162. Kos E, Liszek MJ, Emanuele MA, Durazo-Arvizu R, Camacho P. Effect of metformin therapy on vitamin D and vitamin B 12 levels in patients with type 2 diabetes mellitus. *Endocr Pract*. 2012;18(2):179–84.
163. Rojas LB, Gomes MB. Metformin: an old but still the best treatment for type 2 diabetes. *Diabetol Metab Syndr*. 2013;5(6):1–15.
164. Sola D, Rossi L, Schianca GP, Maffioli P, Bigliocca M, Mella R, dkk. Sulfonylureas and their use in clinical practice. *Arch Med Sci*. 2015;11(4):840–8.

165. Li X, Liu Y, Zheng Y, Wang P, Zhang Y. The effect of vitamin D supplementation on glycemic control in type 2 diabetes patients: a systematic review and meta-analysis. *Nutrients*. 2018;10(3):1–15.
166. Saccone D, Asani F, Bornman L. Regulation of the vitamin D receptor gene by environment, genetics and epigenetics. *Gene*. 2015;561(2):171–80.
167. Erasmus R, Maepa S, Machingura I, Davids S, Raghubeer S, Matsha T. Vitamin D, vitamin D-binding proteins, and VDR polymorphisms in individuals with hyperglycaemia. *Nutrients*. 2022;14(15):1–16.
168. Al-Hazmi AS. Association of vitamin D deficiency and vitamin D receptor gene polymorphisms with type 2 diabetes mellitus Saudi patients. *Afri Health Sci*. 2019;19(4):2812–8.
169. Usategui-Martin R, De Luis-Roman DA, Fernandez-Gomez JM, Ruiz-Mambrilla M, Perez-Castrillon JL. Vitamin D Receptor (VDR) gene polymorphisms modify the response to vitamin D supplementation: a systematic review and meta-analysis. *Nutrients*. 2022;14(2):1–9.
170. Gulseth HL, Wium C, Angel K, Eriksen EF, Birkeland KI. Effects of vitamin D supplementation on insulin sensitivity and insulin secretion in subjects with type 2 diabetes and vitamin D deficiency: a randomized controlled Trial. *Diabetes Care*. 2017;40(7):872–8.
171. Pittas AG, Dawson-Hughes B, Sheehan P, Ware JH, Knowler WC, Aroda VR, dkk. Vitamin D supplementation and prevention of type 2 diabetes. *N Engl J Med*. 2019;381(6):520–30.
172. Vieth R, Chan PR, MacFarlane GD. Efficacy and safety of vitamin D3 intake exceeding the lowest observed adverse effect level 1–3. *Am J Clin Nutr*. 2001;73:288–94.
173. Ferreira JC, Patino CM. Loss to follow-up and missing data: important issues that can affect your study results. *J Bras Pneumol*. 2019;45(2):e20190091.
174. Rimahardika R. Asupan vitamin D dan paparan sinar matahari pada orang yang bekerja di dalam ruangan dan di luar ruangan. Semarang: Universitas Diponegoro (Thesis); 2016.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Lembar persetujuan penelitian

Formulir persetujuan mengikuti penelitian	
Peneliti utama:	dr Alvina, SpPK
Pemberi informasi:	
Penerima informasi: Nama Subjek: Alamat: No telp/HP: Tanggal lahir: Jenis kelamin:	

No	Jenis informasi	Isi informasi	Tandai (Sudah mengerti)
1	Judul penelitian	PENGARUH SUPLEMENTASI VITAMIN D TERHADAP PERBAIKAN FUNGSI SEL BETA PANKREAS PADA DIABETES MELITUS TIPE 2 (KAJIAN TERHADAP EKSPRESI PDX-1, IL-6, SOD DAN RESISTENSI INSULIN)	
2	Tujuan penelitian	Mengetahui peran vitamin D3 sebagai antiinflamasi dan antioksidan terhadap kelangsungan hidup dan fungsi sel beta pankreas pada DM tipe 2 sehingga dapat memperbaiki resistensi insulin. Mengetahui pengaruh suplementasi vitamin D3 terhadap PDX-1, SOD, IL-6, resistensi insulin	
3	Peranan anda	Jika anda seorang penyandang DM tipe 2, maka kami harapkan anda dapat berpartisipasi dalam penelitian ini. Anda tetap dapat mengonsumsi obat diabetes yang diberikan oleh dokter anda serta dapat menjalankan kegiatan sehari-hari seperti biasa. Anda hanya akan diminta untuk minum obat yang diberikan setiap hari selama jangka waktu 6 bulan.	
4	Persyaratan mengikuti penelitian	Laki-laki maupun perempuan berusia >18 tahun Lama menderita DM ≤ 3 tahun, HbA1c >6,5% Menggunakan obat antidiabetik tunggal (monoterapi)	

5	Anda tidak dapat ikut serta dalam penelitian ini bila	1.Mendapatkan terapi insulin 2.Mempunyai penyakit ginjal (dilakukan pemeriksaan laboratorium pendahuluan) 3.Mempunyai penyakit hati (dilakukan pemeriksaan laboratorium pendahuluan) 4. Hamil dan menyusui 5. Mempunyai riwayat alergi 6 Mempunyai riwayat hiperkalsemia (dilakukan pemeriksaan laboratorium pendahuluan) 7. mengonsumsi vitamin D3 setiap hari	
6	Anda akan dikeluarkan dari penelitian bila	1.Tidak melakukan follow up sesuai protokol penelitian 2.Mengonsumsi vitamin D3 kurang dari 80% dari dosis yang ditetapkan 3.Mengalami kejadian yang tidak diharapkan seperti mual, muntah, konstipasi, sakit kepala	
6	Cara dan prosedur penelitian	Penyandang DM tipe 2 berusia > 18 tahun yang berobat ke puskesmas kecamatan Mampang dilakukan wawancara, pengisian kuesioner, pemberian <i>informed consent</i>, pengukuran tinggi badan dan berat badan, kemudian dilakukan pemeriksaan skrining awal yang meliputi pemeriksaan SGPT, albumin, kreatinin, Ca darah. Bila sesuai kriteria pemilihan subjek, akan diikutsertakan dalam randomisasi, selanjutnya dibagi menjadi dua kelompok yaitu kelompok yang mendapatkan suplementasi vitamin D3 5.000 IU sehari dan kelompok yang mendapatkan plasebo. Kode jenis suplementasi (vitamin D atau plasebo) diketahui oleh pabrik obat yang mempersiapkan tablet vitamin D dan plasebo yang digunakan dalam penelitian ini. Baik peneliti, dokter penanggung jawab penyandang dan subjek penelitian (penyandang sendiri) tidak mengetahui jenis suplementasi yang diberikan (<i>double blind</i>). semua penyandang yang terlibat dalam penelitian diberikan pelayanan sesuai standard oleh dokter penanggung jawab penyandang. Selama penelitian penyandang akan dipantau kondisi klinisnya (keluhan mual, muntah). Pengamatan dilakukan 3 bulan sampai 6 bulan sejak pertama kali pemberian suplementasi. Pengamatan penyandang dipantau melalui telepon atau <i>google form</i> kepada penyandang atau keluarganya Setelah anda menyetujui dan menandatangani surat persetujuan untuk mengikuti penelitian ini, maka anda akan diwawancara, ditimbang berat badan, diukur tinggi badan dan diambil darahnya sebanyak kurang lebih 15 mL atau kira-kira 2	

		sendok makan atau 4 tabung. Selama proses pengambilan darah, anda akan diawasi dan dipantau oleh dokter. Pada saat diambil darah akan timbul rasa nyeri sedikit tapi tidak akan lama, jumlah darah yang diambil tidak akan membahayakan kesehatan anda. Kandungan obat yang diberikan juga tidak akan membahayakan kesehatan anda.	
7	Kerahasiaan data	Semua data pada penelitian ini akan dirahaskan oleh peneliti dan laporan yang disampaikan tidak mencantumkan identitas subjek penelitian	
8	Jumlah subjek	112 orang	
9	Waktu penelitian	Januari 2022– Desember 2022	
10	Manfaat penelitian bagi subjek penelitian	Mengetahui kadar vit D (25–(OH)D), kadar insulin, glukosa darah, HbA1c. Peningkatan kadar vit D akan memperbaiki inflamasi dan stres oksidatif sehingga fungsi sel beta pankreas dan sekresi insulin menjadi baik dan akan memperbaiki kadar glukosa darah.	
11	Risiko & efek samping dalam penelitian	Gangguan pencernaan seperti rasa mual, muntah, konstipasi, sakit kepala, hiperkalsemia	
12	Kompensasi bila terjadi efek samping	Pengobatan	
13	Alternatif penanganan (bila ada)	Perawatan	
14	Insentif bagi subjek	Uang pengganti transport saat kunjungan untuk pemeriksaan darah, mendapatkan hasil pemeriksaan laboratorium	
15	Nama dan no HP peneliti yang dapat dihubungi	Bila masih ada informasi yang kurang jelas dapat menghubungi: dr Alvina, SpPK (083820779986) di Fakultas Kedokteran Universitas Trisakti	

Setelah mendengar penjelasan mengenai penelitian yang akan dilakukan oleh dr Alvina, SpPK dengan judul Pengaruh suplementasi vitamin D3 terhadap perbaikan fungsi sel beta pankreas pada DM tipe 2, informasi tersebut telah saya pahami dan dimengerti dengan baik.

Dengan menandatangani formulir ini, saya menyetujui untuk ikut serta dalam penelitian tersebut diatas secara sukarela tanpa paksaan dari pihak manapun. Saya berhak membatalkan persetujuan ini dan berhak untuk berhenti mengikuti penelitian ini ditengah–tengah apabila saya merasa dirugikan dalam bentuk apapun.

Tanda tangan/cap jempol subjek

Tanggal

Nama subjek

Tanda tangan saksi

Nama saksi

Ket: Tanda tangan saksi diperlukan bila subjek tidak bisa membaca dan menulis

Saya telah menjelaskan kepada subjek secara benar dan jujur mengenai maksud penelitian, manfaat penelitian, prosedur penelitian, risiko dan ketidaknyamanan yang mungkin dapat timbul. Saya juga telah menjawab pertanyaan terkait penelitian dengan baik.

Nama&tanda tangan peneliti

Tanggal

Lampiran 2. Kuesioner Skrining Subjek Penelitian

Tanggal pengambilan data:	
Nama:	
Jenis kelamin:	
Tanggal lahir:	
Alamat:	
Agama:	
No telp/HP yang dapat dihubungi:	
Lama menderita DM:	
Obat DM yang dikonsumsi saat ini:	
Kadar HbA1c:	
Apakah konsumsi vit D dalam 3 bulan terakhir?	Ya/tidak
Apakah mendapatkan terapi insulin?	Ya/tidak
Apakah mempunyai riwayat penyakit ginjal?	Ya/tidak
Apakah mempunyai riwayat penyakit hati?	Ya/tidak
Apakah mempunyai riwayat alergi?	Ya/tidak

Lampiran 3. Kuesioner Suplementasi Vitamin D

Tanggal pengambilan data:	
Nama:	
Jenis kelamin:	
Tanggal lahir:	
Agama:	
Alamat:	
No telp/HP yang dapat dihubungi:	
Pendidikan terakhir:	Universitas/Akademik/SMA/SMP/SD/tidak sekolah
Riwayat Pekerjaan:	IRT/bekerja/tidak bekerja
Status pernikahan:	Menikah Tidak menikah Janda / duda meninggal Janda/ duda cerai
Jenis obat diabetes yang dikonsumsi:	
Apakah anda suka mengonsumsi makanan mengandung vitamin D?	Ya /Tidak
Apakah anda suka berjemur untuk terpajan sinar matahari setiap hari?	Ya /Tidak

Lampiran 4. Semi Quantitative Food Frequency Questionnaire Vitamin D

(mengonsumsi makanan mengandung vitamin D dalam 3 bulan terakhir) ¹⁷⁴

No responden :

Nama :

Usia :

Enumerator :

Tanggal :

Nama makanan & minuman	Merk	Ukuran Rumah Tangga	Berat (g)	Frekuensi				Porsi			Rata-rata	Berat
				x/hr	x/mgg	x/bln	x/thn	kecil	sedang	besar		
Sumber karbohidrat												
Sereal												
Roti bakar												
Kue kering												
Mie kering												
Kue bolu												
Donat												
Kentang												
Quaker oat												
Sumber Protein hewani												
Ikan pindang												
Ikan mas												
Ikan mujair												
Ikan kembung												
Ikan lele												
Ikan bandeng												
Ikan gabus												
Ikan tongkol												
Teri												
udang												
Telur ayam												
Daging ayam												

Daging sapi												
Daging kambing												
Sarden												
Protein Nabati												
Tahu												
Tempe												
Kacang-kacangan												
Sayur												
Bayam												
Kacang panjang												
Jamur kancing												
Jamur tiram												
Jamur putih												
Jamur shitake												
Lemak dan minyak												
Mentega												
margarin												
Minyak ikan												
Susu dan produk												
Susu bubuk												
Susu kaleng												
Susu skim												
Keju												
Yoghurt												
Es krim												

Lampiran 5. Kuesioner pajanan sinar matahari

1. Apakah anda sering berjemur di luar ruangan untuk mendapat sinar matahari?
Ya/Tidak
2. Apakah anda sering menggunakan baju lengan panjang dan celana panjang di luar rumah? Ya/Tidak
3. Apakah anda pernah menggunakan tabir surya/*sunblock*? Ya /Tidak

Lampiran 6. Jadwal Pengambilan Data dan Pemeriksaan Laboratorium

Jadwal Pengambilan Data dan Pemeriksaan Laboratorium Penelitian Pengaruh Vitamin D Pada Penyandang DM Tipe 2 Di Puskesmas Kecamatan Mampang Jakarta Selatan

KELURAHAN	KEGIATAN			
	Kuesioner skrining/kriteria inklusi dan eklusi	Pengambilan data awal (0 bulan) & mulai suplementasi	Pengambilan data bulan ke 3	Pengambilan data bulan ke 6
Pela Mampang	28 Januari 2022 s/d 28 Mei 2022	4 Juni 2022	3 September 2022	3 Desember 2022
Kuningan Barat	28 Januari 2022 s/d 28 Mei 2022	11 Juni 2022	10 September 2022	10 Desember 2022
Tegal Parang	28 Januari 2022 s/d 28 Mei 2022	18 Juni 2022	17 September 2022	17 Desember 2022
Mampang Prapatan dan Bangka	28 Januari 2022 s/d 28 Mei 2022	25 Juni 2022	24 September 2022	24 Desember 2022

Lampiran 7. Kode Randomisasi

Alokasi random dengan besar block = 4 (n=114), total 28 blok, setiap blok ada 2A dan 2 B

1.B	33. B	65. A	97. B
2. A	34. B	66. B	98. B
3. B	35. A	67. A	99.A
4. A	36. A	68. B	100.A
5. A	37. B	69. B	101.B
6. A	38. A	70. B	102. A
7. B	39. A	71. A	103. B
8. B	40. B	72. A	104. A
9. A	41. B	73. A	105. B
10.B	42. A	74. B	106. A
11.B.	43. B	75.B	107. A
12.A.	44. A	76. A	108. B
13. A	45. A	77. A	109. A
14. A	46.B	78. B	110. A
15.B	47.B	79. B	111. B
16.B	48. A	80. A	112. B
17. A	49. A	81. A	113. A
18. A	50. A	82.B	114. B
19, B	51. B	83. B	
20. B	52. B	84. A	
21. A	53. B	85. A	
22. A	54. A	86. B	
23. B	55. A	87. A	
24. B	56. B	88. B	
25. A	57. B	89. A	
26. B	58. A	90. A	
27. A	59. B	91. B	
28. B	60. A	92. B	
29. B	61. A	93. B	
30. B	62, A	94. B	
31. A	63. B	95. A	
32. A	64. B	96. A	

Lampiran 8. Berita Acara Pembukaan Kode Randomisasi

BERITA ACARA PENETAPAN AKHIR UJI KLINIS DAN PEMBUKAAN KODE RANDOMISASI

BERITA ACARA PENETAPAN AKHIR UJI KLINIS DAN PEMBUKAAN KODE RANDOMISASI

Pada hari ini, tanggal 30 bulan Maret tahun 2023 pukul 10.00 WIB, di Jakarta ditetapkan bahwa penelitian berjudul:

PENGARUH SUPLEMENTASI VITAMIN D3 TERHADAP PERBAIKAN FUNGSI SEL BETA PANKREAS PADA DIABETES MELITUS TIPE 2:

KAJIAN TERHADAP SOD, IL-6, EKSPRESI PDX-1, dan RESISTENSI INSULIN

Yang telah dilaksanakan pada:

Tempat : Puskesmas Kecamatan Mampang Prapatan, Jakarta Selatan

Tanggal mulai : 4 Juni 2022

Subjek : Awal 114 penderita DM tipe 2

Akhir 94 penderita DM tipe 2

Dinyatakan telah selesai dan seluruh prosedur pada penelitian ini dihentikan dan dilakukan pembukaan amplop tersegel berisi kode randomisasi sebagai berikut:

Kode A : Tablet tidak mengandung vitamin D 5000 IU

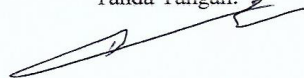
Kode B : Tablet mengandung vitamin D 5000 IU

Ditetapkan oleh:

Prof.dr.Suzanna Immanuel,SpPK(K)

(Promotor)

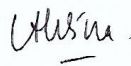
Tanda Tangan:



Dihadiri oleh:

dr.Alvina,SpPK

(Peneliti Utama)



Lampiran 9. Form Pencatatan Suplementasi

Nama Subjek :

ID No :

HARI	TANGGAL	SUPLEMENTASI		KELUHAN	KETERANGAN
		YA	TIDAK		
Minggu 1, Minggu 2, Minggu 3, Minggu 4 (Lingkari minggu beberapa)					
Senin					
Selasa					
Rabu					
Kamis					
Jumat					
Sabtu					
Minggu					

HARI	TANGGAL	SUPLEMENTASI		KELUHAN	KETERANGAN
		YA	TIDAK		
Minggu 5, Minggu 6, Minggu 7, Minggu 8 (Lingkari minggu beberapa)					
Senin					
Selasa					
Rabu					
Kamis					
Jumat					
Sabtu					
Minggu					

HARI	TANGGAL	SUPLEMENTASI		KELUHAN	KETERANGAN
		YA	TIDAK		
Minggu 9, Minggu 10, Minggu 11, Minggu 12 (Lingkari minggu beberapa)					
Senin					
Selasa					
Rabu					
Kamis					
Jumat					
Sabtu					
Minggu					

HARI	TANGGAL	SUPLEMENTASI		KELUHAN	KETERANGAN
		YA	TIDAK		
Minggu 13, Minggu 14, Minggu 15, Minggu 16 (Lingkari minggu keberapa)					
Senin					
Selasa					
Rabu					
Kamis					
Jumat					
Sabtu					
Minggu					

HARI	TANGGAL	SUPLEMENTASI		KELUHAN	KETERANGAN
		YA	TIDAK		
Minggu 17, Minggu 18, Minggu 19, Minggu 20 (Lingkari minggu keberapa)					
Senin					
Selasa					
Rabu					
Kamis					
Jumat					
Sabtu					
Minggu					

HARI	TANGGAL	SUPLEMENTASI		KELUHAN	KETERANGAN
		YA	TIDAK		
Minggu 21, Minggu 22, Minggu 23, Minggu 24 (Lingkari minggu keberapa)					
Senin					
Selasa					
Rabu					
Kamis					
Jumat					
Sabtu					
Minggu					

Lampiran 10. Form Kejadian Tidak Diinginkan (KTD) Suplementasi vitamin D

Nama Subjek :

No ID :

Apakah subjek mengalami kejadian tidak diinginkan (KTD) selama penelitian ini?

YA TIDAK (Lingkari pilihan)

(Kalau YA, catat semua KTD dibawah ini)

Kejadian Tidak Diinginkan selama suplementasi vitamin D seperti : mual, muntah, konstipasi, sakit kepala.

Derajat:

1 = Ringan 2 = Sedang 3 = Berat

Hubungan dengan studi intervensi:

1 = Jelas ada 2 = Mungkin ada 3 = Tidak ada

Tindakan yang dilakukan terkait studi intervensi:

1 = Tidak ada

3 = Dihentikan total

4 = Dihentikan sementara

5 = Menurunkan dosis

6 = Meningkatkan dosis

7 = *Delayed dose*

Keluaran KTD:

1 = Sudah teratasi, tidak ada gejala sisa

2 = KTD masih ada, tidak diobati

3 = KTD masih ada, sedang diobati

4 = Efek sisa masih ada, tidak diobati

5 = Efek sisa masih ada, sedang diobati

6 = Kematian

7 = Tidak diketahui

Diperkirakan:

1 = Ya

2 = Tidak

Berbahaya:

1 = Ya (Kalau YA, isi Formulir SAE)

2 = Tidak

KTD	Tanggal mulai	Tanggal berakhir	Derajat	Hubungan dengan studi intervensi	Tindakan	Keluaran KTD	Diperkirakan?	KTD Berbahaya	Paraf

Lampiran 11. Surat Keterangan Lolos Kaji Etik



UNIVERSITAS INDONESIA FAKULTAS KEDOKTERAN

Gedung Fakultas Kedokteran UI
Jl. Salemba Raya No.6, Jakarta 10430
PO.Box 1358
T. 62.21.3912477, 31930371, 31930373,
3922977, 3927360, 3153236,
F 62 21 3912477, 31930372, 3157288,
E. humas@fk.ui.ac.id, office@fk.ui.ac.id
fk.ui.ac.id

Nomor : KET- 139 /UN2.F1/ETIK/PPM.00.02/2021

KETERANGAN LOLOS KAJI ETIK ETHICAL APPROVAL

Komite Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia – RSUPN Dr. Cipto Mangunkusumo dalam upaya melindungi hak asasi dan kesejahteraan subjek penelitian kedokteran, telah mengkaji dengan teliti protokol penelitian yang berjudul:

The Ethics Committee of the Faculty of Medicine, University of Indonesia – Cipto Mangunkusumo Hospital with regards of the Protection of human rights and welfare in medical research, has carefully reviewed the research entitled:

“Pengaruh Suplementasi Vitamin D3 terhadap Perbaikan Fungsi Sel Beta Pankreas pada Diabetes Melitus Tipe 2: Kajian terhadap SOD, IL-6, Ekspresi PDX-1, dan Resistensi Insulin”

Protocol Number : 21-11-1154

Peneliti Utama : dr Alvina, SpPK
Principal Investigator

Nama Institusi : S3 Ilmu Kedokteran FKUI
Name of the Institution

Lokasi Penelitian : Puskesmas Kecamatan mampang, Jakarta Selatan
Site

Tanggal Persetujuan : 22 NOV 2021
Date of Approval (valid for one year beginning from the date of approval)

Dokumen Disetujui : Proposal Penelitian, Version 0.2 tanggal 06 November 2021
Document Approved Lembar Penjelasan kepada Calon Subjek, Version 0.2 tanggal 06 November 2021

dan telah menyetujui protokol berikut dokumen terlampir.
and approves the above mentioned protocol including the attached document.

Ditetapkan di : Jakarta
Specified in



Prof. dr. Rita Sita Sitorus, Ph.D., Sp.M(K)

** Peneliti berkewajiban

1. Menjaga kerahasiaan identitas subjek penelitian.
2. Memberitahukan status penelitian apabila:
 - a. Setelah masa berlakunya keterangan lolos kaji etik, penelitian masih belum selesai, dalam hal ini *ethical approval* harus diperpanjang. Harap pengajuan perpanjangan etik dilakukan 2 minggu sebelum masa aktif lolos kaji etik habis.
 - b. Penelitian berhenti ditengah jalan.
3. Melaporkan kejadian serius yang tidak diinginkan (*serious adverse events*).
4. Peneliti tidak boleh melakukan tindakan apapun pada subjek sebelum protokol penelitian mendapat lolos kaji etik dan sebelum memperoleh *informed consent* dari subjek penelitian.
5. Menyampaikan laporan akhir, bila penelitian sudah selesai.
6. Cantumkan nomor protokol ID pada setiap komunikasi dengan KEPK FKUI-RSCM.

Semua prosedur persetujuan dilakukan sesuai dengan standar ICH-GCP.
All procedure of Ethical Approval are performed in accordance with ICH-GCP standard procedure.



UNIVERSITAS INDONESIA

FAKULTAS KEDOKTERAN

Gedung Fakultas Kedokteran UI
Jl. Salemba Raya No.6, Jakarta 10430
PO.Box 1358
T. 62.21.3912477, 31930371, 31930373,
3922977, 3927360, 3153236,
F 62 21 3912477, 31930372, 3157288.
E. humas@fk.ui.ac.id, office@fk.ui.ac.id
fk.ui.ac.id

NOTA DINAS
Nomor: ND-~~764~~/UN2.F1/ETIK/PPM.00.02/2022

Kepada : dr. Alvina, Sp.PK
Institusi : S3 Ilmu Kedokteran FKUI
Dari : Komite Etik Penelitian Kesehatan FKUI-RSCM
Hal : Perpanjangan *Ethical Approval*

Sehubungan dengan protokol penelitian berikut:

Judul : **"Pengaruh Suplementasi Vitamin D3 terhadap Perbaikan Fungsi Sel Beta Pankreas pada Diabetes Melitus Tipe 2: Kajian terhadap SOD, IL-6, Ekspresi PDX-1, dan Resistensi Insulin"**

Peneliti Utama : dr. Alvina, Sp.PK

No. Protokol Etik : 21-11-1154

No. Surat Lolos Etik : KET-1139/UN2.F1/ETIK/PPM.00.02/2021, tanggal 22 November 2021

Komite Etik Penelitian Kesehatan FKUI-RSCM telah menerima dan meninjau surat Sejawat:

Tanggal	No. Surat	Perihal	Dokumen
26 Agustus 2022	-	Permohonan Perpanjangan <i>Ethical Approval</i>	1. Formulir Perpanjangan, 1 <i>copy</i> 2. Surat Lolos Kaji Etik, 1 <i>copy</i> 3. Proposal, 1 <i>copy</i>

Komite Etik Penelitian Kesehatan FKUI-RSCM memberikan perpanjangan Surat Keterangan Lolos Kaji Etik/*Ethical Approval* untuk pelaksanaan penelitian yang dimaksud terhitung dari **22 November 2022 sampai dengan 21 November 2023**.

Atas laporan dan kerjasamanya, kami ucapkan terima kasih.

22 Agustus 2022

Ketua KEPK FKUI-RSCM



Prof. dr. Rita Sita Sitorus, Ph.D., Sp.M(K)

Lampiran 12. Persetujuan Penelitian dari Dinkes DKI Jakarta



PEMERINTAH PROVINSI DAERAH KHUSUS IBUKOTA JAKARTA
DINAS KESEHATAN

Jalan Kesehatan Nomor 10 Telepon 3451338 Faksimile 3451341
website www.dinkes.jakarta.go.id E-mail dinkes@jakarta.go.id
J A K A R T A

Kode Pos : 10160

Nomor : 12537 / -1.299.3
Sifat : Biasa
Lampiran : 1 (satu) berkas
Hal : Persetujuan Penelitian

13 - 12 - 2021

Kepada
Yth. Kepala Suku Dinas Kesehatan
Kota Adm. Jakarta Selatan
di
Jakarta

Sehubungan dengan surat dari Dekan Fakultas Kedokteran
Universitas Indonesia nomor : S-13510/UN2.F1.D/PDP.01/2021 perihal
Permohonan Izin Penelitian, bersama ini diharapkan agar Saudara dapat
memfasilitasi kepada:

Nama : dr. Alvina Sp.PK
NIK : 3171054503780004
Nama Instansi : Fakultas Kedokteran
Universitas Indonesia
No. Telepon : 083820779986

Untuk melakukan penelitian dengan judul "Pengaruh Suplementasi
Vitamin D3 Terhadap Perbaikan Fungsi Sel Beta Pankreas Pada Diabetes
Mellitus Tipe 2: Kajian Terhadap SOD, IL-6, Ekspresi PDX-1, dan
Resistensi Insulin)".

Atas perhatian dan kerja samanya kami ucapkan terima kasih.

Wakil Kepala Dinas Kesehatan Provinsi
Daerah Khusus Ibu Kota Jakarta



drg. Ani Ruspitawati, MM
NIP. 196705081992122001

Tembusan :

- Kepala Puskesmas Kecamatan Mampang Prapatan

Lampiran 13. Tabel Validasi Internal antara Kelompok yang Ikut Penelitian Sampai Selesai dan Kelompok *Drop Out* (DO)

Tabel 13.1. Karakteristik Subjek Penelitian

Karakteristik	Non DO (n=94)	DO (n=20)	p
Obat DM			
Metformin	82	20	0,086*
Obat lain	12	0	
Pendidikan			
Rendah	32	9	0,070 [#]
Menengah	22	8	
Tinggi	40	3	
Pekerjaan			
Bekerja	12	5	0,294 [#]
Tidak bekerja	82	15	
Berjemur diri			
Ya	15	1	0,180*
Tidak	79	19	
Baju lengan Panjang			
Setiap hari	74	16	0,585*
Kadang-kadang	20	4	

*Uji Fisher, [#]Uji Chi square.

DO:Drop out

Tabel 13.2. Distribusi Pengukuran Laboratorium

Parameter Laboratorium	Non DO (n=94)	DO (n=20)	p
SGPT (U/L) ^{##}	18 (6–52)	15 (6–39)	0,553**
Kreatinin (mg/dL) ^{##}	0,7 (0,5–1,1)	0,8 (0,5–1,1)	0,238**
Albumin (g/dL) ^{##}	4,4 (3,5–5,2)	4,4 (3,4–4,9)	0,840**
Kalsium (mg/dL) ^{##}	9 (7,9–9,8)	9 (8,5–9,9)	0,961**
HbA1c (%) [#]	8,8 (2,8)	8,5 (2,1)	0,949*
25-(OH)D (ng/mL) [#]	12,78 (5,21)	13,28 (7,47)	0,774*
Glukosa (mg/dL) [#]	161 (77,9)	151 (70,8)	0,718*
Insulin (μIU/mL) ^{##}	2,35 (0,1–53,9)	1,25 (0,1–25,4)	0,470**
HOMA-IR ^{##}	1,09 (0,03–25,9)	0,36 (0,02–8,2)	0,070**

[#] rerata (simpang baku), ^{##}median (rentang antar kuartil). *Uji T Independent, **uji Mann Whitney.

Tabel 13.3. Distribusi Asupan Nutrien per Hari

Jenis nutrisi	Non DO (n=94)	DO (n=20)	p
Vitamin D (μg)	2,01 (0,0–30,7)	1,64 (0,09–5,67)	0,486
Karbohidrat (g)	30,2 (1,29–169)	32,8 (7,36–150,1)	0,430
Lemak (g)	33,5 (2,11–187,3)	28,2 (6,7–142,1)	0,522
Protein (g)	28,1 (3,0–111,2)	30,5 (9,4–88,6)	0,707

Nilai adalah median (rentang antar kuartil). Nilai p dihitung menggunakan uji Mann Whitney.

Lampiran 14. Analisis

Tabel 14.1. Korelasi Ekspresi PDX-1 dan Kadar Insulin Pasca Suplementasi 3 dan 6 Bulan Pada Kelompok Vitamin D

	Ekspresi PDX-1		Waktu suplementasi
	r	p	
Kadar Insulin	0,060	0,888	Pasca 3 bulan
	0,471	0,220	Pasca 6 bulan

Nilai r dan p dihitung menggunakan korelasi Spearman, $p < 0,05$ korelasi bermakna

Tabel 14.2. Korelasi Ekspresi PDX-1 dan Kadar Glukosa Pasca Suplementasi 3 dan 6 Bulan Pada Kelompok Vitamin D

	Ekspresi PDX-1		Waktu suplementasi
	r	p	
Kadar Glukosa	-0,143	0,736	Pasca 3 bulan
	-0,253	0,405	Pasca 6 bulan

Nilai r dan p dihitung menggunakan korelasi Spearman, $p < 0,05$ korelasi bermakna

DAFTAR RIWAYAT HIDUP

Data Pribadi

Nama : dr Alvina, SpPK
 Tempat& tanggal lahir : Jakarta, 5 Maret 1978
 Agama : Katolik
 Kepangkatan : III-D
 Jabatan Fungsional : Lektor
 NIDN : 0305037801
 Alamat rumah : Jl. Rawasari Timur V/10, Jakarta Pusat
 Institusi : FK. TRISAKTI
 Alamat institusi : Jl. Kyai Tapa, Grogol, Jakarta Barat
 Alamat email : dr.alvina@trisakti.ac.id

Riwayat Pendidikan Formal

- 1996–2003 : Program Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Trisakti Jakarta
 2005–2009 : Program Pendidikan Dokter Spesialis Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia Jakarta
 2020–2023 : Program Studi S3 Ilmu Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia Jakarta

Riwayat Pekerjaan

- 2003–sekarang : Staf Dosen Bagian Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Trisakti, Jakarta
 2009–sekarang : Dokter Penanggung Jawab Laboratorium RS Sumber Waras, Jakarta
 2009–sekarang : Dokter Penanggung Jawab Laboratorium Klinik Mata Nusantara, Kebon Jeruk, Jakarta
 2017–sekarang : Dokter Penanggung Jawab Laboratorium Klinik Prodia Metro Medika, Tangerang

Karya Ilmiah yang dipublikasi

1. **Alvina**. Hepatic enzyme concentrations as indicators of nonalcoholic fatty liver disease. *Univ Med* 2009;28(3):139-45.
2. **Alvina**. Type IV collagen as marker of fibrosis in nonalcoholic liver disease. *Univ Med* 2010;29(2):114-22.
3. **Alvina**. Idiopathic thrombocytopenic purpura: laboratory diagnosis and management. *Univ Med* 2011;30(2):126-34.
4. Puspardini, Lie T Merijanti, **Alvina**, Meiyanti. Decreased adiponectin level in adults with central obesity and low 25-hydroxy vitamin D level. *Univ Med* 2017;36(3):205-13.

5. Meiyanti, Eveline Margo, Pusparini, Lie T Merijanti, **Alvina**. Hypoglycemic effect of Phaleria macrocarpa (Scheff.) Boerl dry extract in healthy adults. Univ Med 2018;37(3):195-202.
6. Lie T Merijanti, Pusparini, Meiyanti, **Alvina**, Novia Sudharma, Muljadi Tjahjadi. Heavy mental workload increase poor sleep quality in informal garment workers. Univ Med 2019;38(3):202-8.
7. **Alvina**, Pusparini, Meiyanti, Lie T Merijanti. Glycated albumin is a better indicator for glucose levels than glycated hemoglobin in patients with diabetes mellitus on insulin therapy. Univ Med 2020;39(1):27-33
8. Lie T Merijanti, Pusparini, Meiyanti, **Alvina**, M Tjahjadi. Diastolic Blood Pressure Related to ABI Values Use for Peripheral Arterial Disease Screening in Women Over 50 Years Old. IJPR 2020;12(4):2713-23
9. Pusparini, **Alvina**, Lie T Merijanti, Meiyanti. Cobalamin and Methylmalonic Acid as Biomarkers of Vitamin B12 Deficiency in Elderly. IJPR 2020; 12(4):2724-30
10. Pusparini, **Alvina**. Performance Comparison of Dymind DH-76 and Sysmex Xn-1000 Automated Hematology Analyzers. IJCP 2022;28(3):257-62.
11. Lie T Merijanti, Pusparini, Meiyanti, **Alvina**, MD Hartanti, M Tjahjadi. Career Development and Psychopathological Symptoms on Female Workers. JDDT 2023;13(4):28-32.
12. Danny Wiradharma, Pusparini, **Alvina**. Buku Konsep Dasar Imunologi. Sagung Seto 2017.
13. **Alvina**, Danny Wiradharma, Pusparini. Buku Teori dan Praktikum Urinalisis. Sagung Seto 2019

Sebagai pembicara dalam forum ilmiah

1. Persatuan Ahli Teknologi Laboratorium Medik Indonesia 2018: Update Imunohematologi
2. Rasio Lingkar Pinggang Panggul Berhubungan dengan Kadar Kolesterol Total pada Dewasa. Dipresentasikan pada Pertemuan Ilmiah Tahunan XVII dan Konferensi Kerja IX Perhimpunan Dokter Spesialis Patologi Klinik dan Kedokteran Laboratorium Indonesia tahun 2018 (Presentasi poster).
3. Workshop Trisakti AMPM 2019: Case Discussion of Pulmonary Tuberculosis from Many Aspects
4. Hubungan Kadar Asam Urat dengan Fungsi Kognitif pada Lansia. Dipresentasikan pada Kongres Nasional X dan Pertemuan Ilmiah Tahunan XVIII Perhimpunan Dokter Spesialis Patologi Klinik dan Kedokteran Laboratorium Indonesia tahun 2019 (Presentasi poster).

Keanggotaan Profesi

1. Anggota IDI Jakarta
2. Anggota PDS PatKlin Jakarta