

**HUBUNGAN KADAR 25-HIDROKSI-VITAMIN D TERHADAP CAROTID
INTIMA-MEDIA THICKNESS (CIMT) DAN FLOW-MEDIATED DILATION
(FMD) SEBAGAI PARAMETER ATEROSKLEROSIS SUBKLINIS PADA
ANAK DIABETES MELITUS TIPE 1**

TESIS



Oleh :

Yuni Fitriana

158070900111005

Pembimbing :

dr. Harjoedi Adji Tjahjono, Sp.A (K)

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS
ILMU KESEHATAN ANAK**

FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS BRAWIJAYA MALANG

RSUD DR. SAIFUL ANWAR MALANG

2019

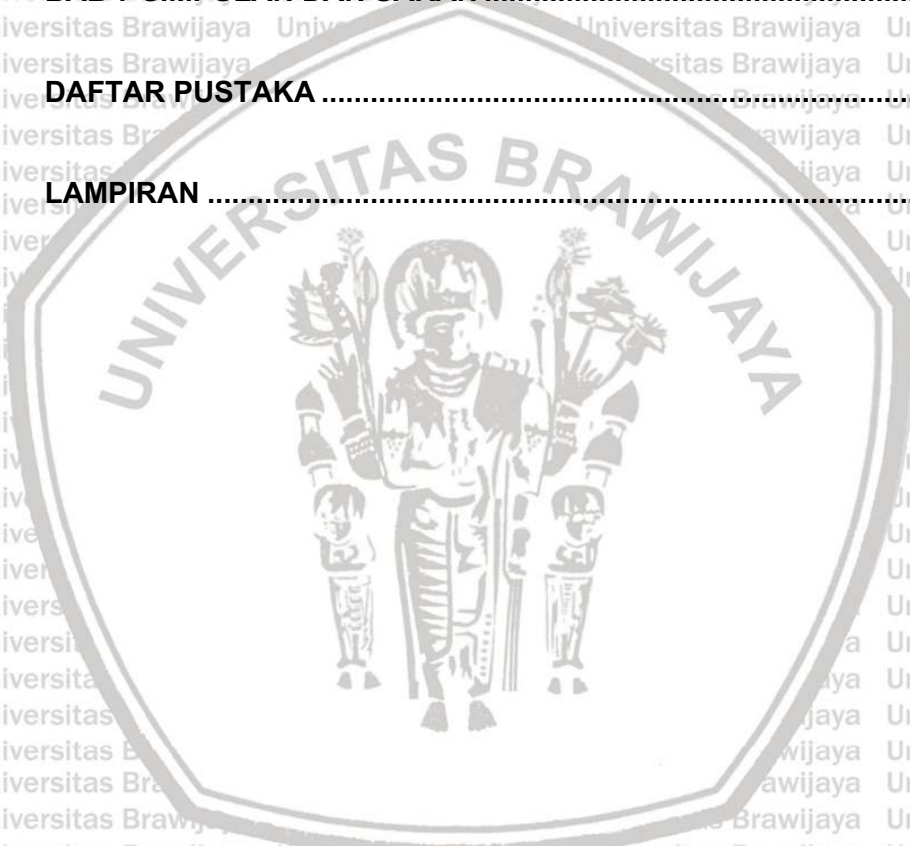
DAFTAR ISI

Judul.....	i
Lembar Persetujuan Tesis.....	ii
Identitas Tim Penguji.....	iii
Pernyataan Orisinalitas Tesis.....	iv
Kata Pengantar.....	v
Ringkasan.....	vii
Summary.....	ix
Daftar Isi.....	xi
Daftar Tabel.....	xiv
Daftar Gambar.....	xv
Daftar Lampiran.....	xvii
Daftar Singkatan.....	xviii
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	5
BAB 2 TINJAUAN KEPUSTAKAAN	6
2.1 Diabetes Melitus Tipe 1	6
2.1.1 Definisi	6
2.1.2 Epidemiologi.....	6
2.1.3 Patofisiologi.....	8
2.1.4 Diagnosis	15
2.2 Vitamin D	15
2.2.1 Definisi	15
2.2.2 Metabolisme Vitamin D.....	16
2.2.3 Mekanisme Aksi Vitamin D	20
2.2.4 Peran Vitamin D.....	23

2.2.5 Defisiensi Vitamin D pada Diabetes Melitus	27
2.3 Aterosklerosis.....	28
2.3.1 Definisi Aterosklerosis	28
2.3.2 Faktor Resiko Aterosklerosis	30
2.3.3 Patogenesis Aterosklerosis.....	31
2.3.4 Pemeriksaan Aterosklerosis.....	36
2.3.5 Aterosklerosis pada Diabetes Melitus Tipe 1	42
2.4 Kerangka Teori.....	47
BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS.....	50
3.1 Kerangka Konsep	50
3.2 Keterangan Kerangka Konsep	51
3.3 Hipotesis	52
BAB 4 METODE PENELITIAN.....	53
4.1 Desain Penelitian	53
4.2 Tempat dan Waktu Penelitian.....	53
4.3 Persetujuan Penelitian	53
4.4 Subjek Penelitian	53
4.5 Kriteria Inklusi dan Eksklusi	55
4.6 Variabel Penelitian	56
4.7 Definisi Operasional	56
4.8 Metode Pemeriksaan	58
4.9 Analisis Statistik.....	60
4.10 Alur Penelitian	61
BAB 5 HASIL PENELITIAN.....	62
5.1 Karakteristik Subjek Penelitian.....	62
5.2 Kadar Vitamin D pada Pasien DM tipe 1 dan Kontrol	63
5.3 Hasil CIMT pada Pasien DM tipe 1 dan Kontrol.....	64
5.4 Hasil FMD pada Pasien DM tipe 1 dan Kontrol.....	66
5.5 Korelasi antara Kadar 25(OH)D dengan CIMT pada Anak dengan DM tipe 1	67
5.6 Korelasi antara Kadar 25(OH)D dengan FMD pada Anak	



dengan DM tipe 1	67
5.7 Korelasi antara Kadar 25(OH)D dengan Karakteristik Pasien Anak DM tipe 1	71
5.8 Analisis Bivariat Berbagai Data Penelitian	73
BAB 6 PEMBAHASAN	74
BAB 7 SIMPULAN DAN SARAN	85
DAFTAR PUSTAKA	87
LAMPIRAN	93



RINGKASAN

Yuni Fitriana, NIM. 158070900111005. Program Pendidikan Dokter Spesialis Ilmu Kesehatan Anak, Rumah Sakit Umum Dr. Saiful Anwar, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang, September 2019. Hubungan Kadar 25-Hidroksi-Vitamin D terhadap *Carotid Intima-Media Thickness* (CIMT) dan *Flow-Mediated Dilation* (FMD) sebagai Parameter Aterosklerosis Subklinis pada Anak Diabetes Melitus Tipe 1. Pembimbing: Dr. Harjoedi Adji Tjahjono, SpA (K).

Diabetes melitus tipe 1 (DMT1) merupakan penyakit kronis yang ditandai oleh defisiensi insulin absolut yang disebabkan oleh destruksi sel beta pankreas yang dimediasi oleh sel T. Banyak kemajuan terapi DMT1 yang telah dicapai tetapi angka komplikasi penyakit ini baik mikrovaskular maupun makrovaskular masih tinggi. Komplikasi makrovaskular berhubungan dengan penyakit kardiovaskular dengan angka kejadian sebesar 69% pada pasien DMT1, walaupun keadaan ini juga dipengaruhi oleh faktor hiperglikemia, hipertensi, *low density lipoprotein* (LDL) dan *triglyceride* (TG) yang tinggi, peningkatan *body mass index* (BMI) dan status proinflamasi. Vitamin D merupakan salah satu faktor penting dalam proses inflamasi kronis yang mempengaruhi destruksi sel beta pankreas pada DMT1. Selain itu defisiensi vitamin D juga memicu terbentuk radikal bebas dalam bentuk *reactive oxygen species* (ROS). Destruksi sel beta pankreas akan menyebabkan insufisiensi insulin sehingga terjadi lipolisis dan sekresi lipoprotein aterogenik selain juga dipicu oleh ROS. Inflamasi kronis karena defisiensi vitamin D juga merangsang peningkatan sitokin inflamasi proaterogenik dan memicu terjadinya disfungsi endotel dan peningkatan *nitric oxide* (NO). Proses inilah yang memicu agregasi dan adhesi trombosit, proliferasi otot polos dan peningkatan matriks ekstraseluler sehingga terjadi aterosklerosis. Aterosklerosis subklinis dimulai sejak masa anak-anak ditandai dengan penebalan intima media pembuluh darah yang dapat dideteksi secara dini dengan pemeriksaan *carotid intima media thickness* (CIMT) dan disfungsi endotel pembuluh darah yang dapat dideteksi dengan *flow mediated dilation* (FMD).

Penelitian ini adalah analitik observasional dengan desain *cross sectional* dan melibatkan 40 subjek DMT1 dan 40 kontrol sehat. Kriteria inklusi untuk subjek DMT1 meliputi: didiagnosis DMT1, usia antara 10-18 tahun, orang tua pasien mengizinkan anaknya (*informed consent*). Kriteria eksklusi kelompok DMT1 yaitu infeksi lokal atau sistemik, gangguan hati dan ginjal, konsumsi vitamin D minimal selama 3 minggu. Sedangkan kriteria inklusi kelompok kontrol adalah tidak menderita diabetes, usia 10-18 tahun, diijinkan oleh orang tua (*informed consent*). Kriteria eksklusi kelompok kontrol yaitu infeksi lokal atau sistemik, gangguan hati dan ginjal, konsumsi vitamin D minimal selama 3 minggu dan adanya sindrom metabolik. Kadar vitamin D diukur dengan metode ELISA (ng/ml), CIMT diukur dengan *duplex ultrasonography* (DUS) pada arteri karotis di bagian arteri karotis komunis, arteri bulbus karotis dan arteri karotis interna (mm) sedangkan FMD juga diukur dengan *duplex ultrasonography* (DUS) pada arteri brakialis (%).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar vitamin D (25(OH)D) pada kelompok DMT1 lebih tinggi tidak bermakna dibandingkan dengan kelompok

kontrol (*Mann Whitney test*, $p > 0.05$). Analisis selanjutnya menunjukkan bahwa hasil CIMT pada kelompok DMT1 secara signifikan lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol (*Mann Whitney test*, $p < 0.05$) walaupun hasil FMD pada kelompok DMT1 lebih rendah tetapi tidak bermakna dibandingkan dengan kelompok kontrol (*Mann Whitney test*, $p > 0.05$). Uji korelasi pada kelompok DMT1 menunjukkan bahwa penurunan kadar 25(OH)D tidak berhubungan bermakna dengan peningkatan hasil CIMT ($p > 0.05$) sedangkan penurunan kadar 25(OH)D juga tidak berhubungan secara bermakna dengan penurunan persentase FMD.

Kami menyimpulkan bahwa hasil CIMT pada DMT1 secara signifikan lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol tetapi tidak berhubungan bermakna dengan rendahnya kadar vitamin D sedangkan hasil FMD pada DMT1 lebih rendah dibanding dengan kelompok kontrol tetapi secara statistik tidak bermakna dan tidak berhubungan dengan rendahnya kadar vitamin D.

Kata Kunci: diabetes melitus tipe 1, vitamin D, aterosklerosis subklinis, FMD, CIMT



SUMMARY

Yuni Fitriana, NIM. 158070900111005. Specialist Education Program of Pediatrics Medicine, General Hospital Dr. Saiful Anwar, Medical Faculty of Universitas Brawijaya Malang, September 2019. Associations between 25-Hydroxy-Vitamin D Levels to Carotid Intima-Media Thickness (CIMT) and Flow-Mediated Dilation (FMD) as Parameters of Subclinical Atherosclerosis in Children with Type 1 Diabetes Mellitus. Supervisor: Harjoedi Adji Tjahjono, MD., Pediatric Consultant.

Type 1 diabetes mellitus (DMT1) is a chronic disease characterized by absolute insulin deficiency caused by destruction of pancreatic beta cells mediated by T cells. Many advances in DMT1 therapy have been achieved but the rate of complications of this disease both microvascular and macrovascular is still high. Macrovascular complications are associated with cardiovascular disease with an incidence rate of 69% in DMT1 patients, although this condition is also influenced by hyperglycemia, hypertension, low density lipoprotein (LDL) and triglyceride (TG), increased body mass index (BMI) and status of proinflammation. Vitamin D is an important factor in the chronic inflammatory process that affects the destruction of pancreatic beta cells in DMT1. Vitamin D deficiency also triggers the formation of free radicals in the form of reactive oxygen species (ROS). Destruction of pancreatic beta cells will cause insulin insufficiency resulting in atherogenic lipolysis and secretion of lipoproteins while also being triggered by ROS. Chronic inflammation due to vitamin D deficiency also stimulates an increase of proatherogenic inflammatory cytokines and triggers endothelial dysfunction and increased nitric oxide (NO). This process triggers platelet aggregation and adhesion, smooth muscle proliferation and increase extracellular matrix resulting in atherosclerosis. Subclinical atherosclerosis begins in childhood characterized by thickening of the intimal media of blood vessels that can be detected early by examining carotid intima media thickness (CIMT) and endothelial dysfunction of blood vessels that can be detected by flow mediated dilation (FMD).

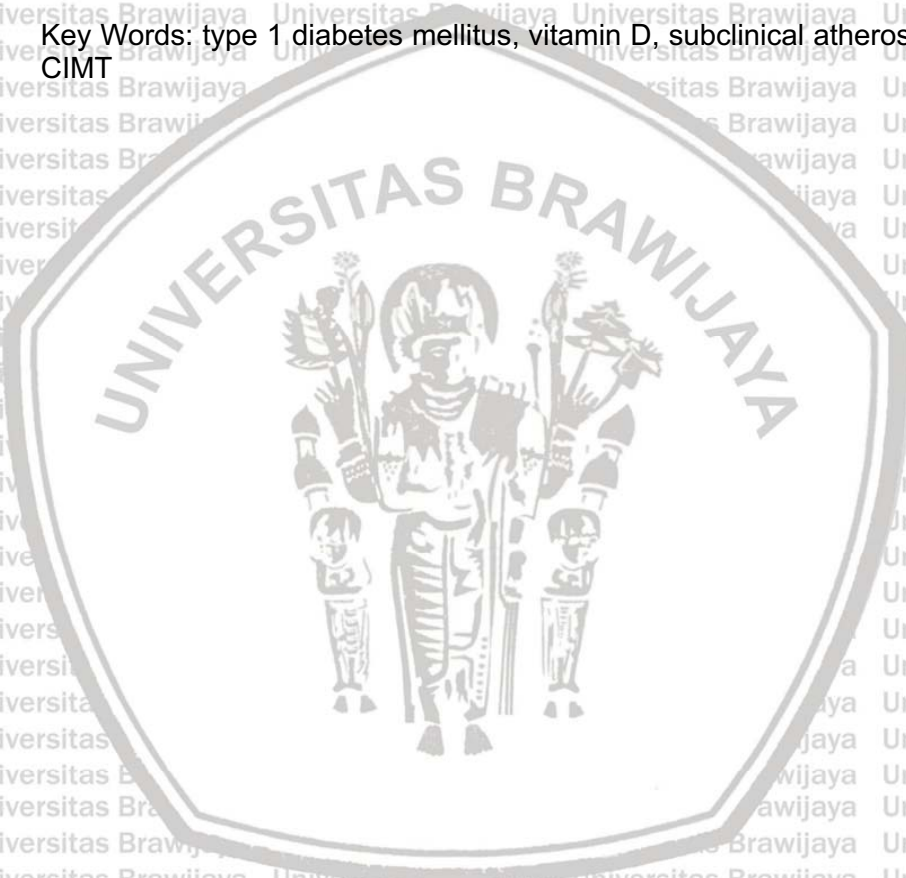
This study was an observational analytic cross sectional design and involved 40 DMT1 subjects and 40 healthy controls. Inclusion criteria for DMT1 subjects included: diagnosed DMT1, aged between 10-18 years, the patient's parents allowed their children (informed consent). The exclusion criteria for the DMT1 group were local or systemic infection, liver and kidney disorders, consumption of vitamin D for at least 3 weeks. While the inclusion criteria of the control group were not suffering from diabetes, aged 10-18 years, permitted by parents (informed consent). Criteria for exclusion of the control group were local or systemic infection, liver and kidney disorders, consumption of vitamin D for at least 3 weeks and the presence of metabolic syndrome. Vitamin D levels were measured by the ELISA method (ng / ml), CIMT was measured by duplex ultrasonography (DUS) of the carotid artery in the communal carotid artery, carotid bulb artery and internal carotid artery (mm) while FMD was also measured by duplex ultrasonography (DUS) in the brachial artery (%).

The results showed that the levels of vitamin D (25 (OH) D) in the DMT1 group were not significantly higher compared to the control group (Mann Whitney test, $p > 0.05$). Subsequent analysis showed that the CIMT results in the DMT1 group were significantly higher compared to the control group (Mann Whitney

test, $p < 0.05$) although the FMD results in the DMT1 group were lower but not significant compared to the control group (Mann Whitney test, $p > 0.05$). The correlation test in the DMT1 group showed that a decrease in 25 (OH) D levels was not significantly associated with an increase in CIMT results ($p > 0.05$) while a decrease in 25 (OH) D levels was also not significantly related to a decrease in the percentage of FMD.

We conclude that the CIMT results in DMT1 are significantly higher than in the control group but not significantly related to low vitamin D levels while the FMD results in DMT1 are lower than in the control group but are statistically not significant and not related to low levels of vitamin D.

Key Words: type 1 diabetes mellitus, vitamin D, subclinical atherosclerosis, FMD, CIMT





BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Diabetes merupakan salah satu penyakit tidak menular yang banyak diderita masyarakat dunia, termasuk Indonesia. Diabetes dibagi menjadi dua jenis yaitu diabetes melitus tipe 1 dan tipe 2. Diabetes melitus tipe 1 (DMT1) merupakan penyakit kronis yang ditandai oleh defisiensi insulin absolut yang disebabkan oleh destruksi sel beta pankreas yang dimediasi oleh sel T. Pada tahun 2017, berdasarkan *international diabetes federation* (IDF) sekitar 425 juta orang di dunia menderita diabetes, dan sekitar 5-10% atau 42.5 sampai 95 juta orang diperkirakan menderita diabetes melitus tipe 1 dan lebih sering terjadi pada keturunan Afrika dan Asia. Diabetes melitus tipe 1 adalah bentuk diabetes yang paling umum pada anak-anak (< 15 tahun) dan lebih dari 500.000 anak-anak saat ini dengan DM tipe 1. Insiden DM tipe 1 meningkat di seluruh dunia dan diperkirakan bahwa hampir 90.000 anak didiagnosis setiap tahunnya (Ferranti *et al.*, 2014; Katsarou *et al.*, 2017; Iqbal *et al.*, 2018).

Banyak kemajuan terapi diabetes melitus tipe 1 yang telah dicapai dalam dekade terakhir seperti penggunaan pompa insulin, sensor glukosa, insulin analog, edukasi intensif tentang diabetes dan dukungan psikososial. Walaupun telah banyak meningkatkan pengelolaan diabetes tetapi angka komplikasi penyakit ini baik mikrovaskular maupun makrovaskular masih tinggi yang pada akhirnya akan meningkatkan morbiditas, kecacatan dan mortalitas. Komplikasi makrovaskular berhubungan dengan penyakit kardiovaskular dengan angka kejadian sebesar 69% pada pasien diabetes melitus tipe 1, walaupun keadaan ini

juga dipengaruhi oleh faktor hiperglikemia, hipertensi, *low density lipoprotein* (LDL) dan *triglyceride* (TG) yang tinggi, peningkatan *body mass index* (BMI) dan status proinflamasi. Diabetes melitus sendiri pada usia 0-26 tahun merupakan faktor resiko penyakit kardiovaskular dimana resiko ini 10 kali lipat dibandingkan dengan anak normal dan akan meningkat seiring dengan bertambahnya usia (Aguilera *et al.*, 2014; Atwa *et al.*, 2018; Tonnie *et al.*, 2018).

Vitamin D merupakan salah satu faktor penting dalam sistem kekebalan tubuh, respon inflamasi, sistem kardiovaskuler dan fibrogenesis.

Defisiensi vitamin D dihubungkan dengan peningkatan marker inflamasi pada penderita diabetes dan dapat sebagai prediktor peningkatan komplikasi mikro maupun makrovaskuler. Diketahui bahwa penderita diabetes melitus tipe 1 beresiko untuk terjadinya komplikasi penyakit kardiovaskular aterosklerosis atau *atherosclerotic cardiovascular disease* (ASCVD) yang lebih tinggi. Penelitian *national diabetes register* (NDR) Swedia menyebutkan bahwa dari 3661 penderita diabetes melitus tipe 1, 197 penderita mengalami ASCVD setelah 5 tahun dimana > 90% penderita tidak mempunyai riwayat penyakit kardiovaskuler.

Insiden penyakit kardiovaskular meningkat pada kadar *25-hidroxyvitamin D* (25(OH)D) yang rendah pada populasi umum tetapi hasil ini belum secara khusus dipelajari pada penderita diabetes. Pada populasi umum, individu dengan defisiensi *25-hidroxyvitamin D* (< 20 ng/ml) beresiko tinggi terjadi penyakit kardiovaskuler dibandingkan dengan individu yang cukup (25(OH)D) (≥ 30 ng/ml) (Chakhtoura & Azar, 2013; Ranganathan *et al.*, 2013; Toujani *et al.*, 2017).

Penyakit kardiovaskular pada diabetes melitus tipe 1 ditandai oleh perubahan struktur vaskular seperti penebalan tunika intima arteri koroner, kekakuan pembuluh darah arteri dan disfungsi endotel yang merupakan tanda

dari aterosklerosis. Aterosklerosis ini dimulai pada masa anak-anak yaitu adanya akumulasi lipid di tunika intima arteri sejak usia 3 tahun dan semakin meningkat setelah usia 8 tahun. Pengukuran *carotid intima-media thickness* (CIMT) dengan ekokardiografi vaskular untuk mengetahui penebalan intima media dan pemeriksaan *flow-mediated dilation* (FMD) untuk mengetahui kekakuan atau elastisitas pembuluh darah memungkinkan deteksi dini aterosklerosis pembuluh darah. Hal ini dianggap sebagai prediktor yang kuat kelainan vaskular dan direkomendasikan untuk deteksi adanya aterosklerosis subklinis pada penderita diabetes melitus tipe 1 (Margeisdottir *et al.*, 2010; Sabry *et al.*, 2018).

Beberapa mekanisme telah diteliti untuk menjelaskan hubungan defisiensi vitamin D dengan proses inflamasi sistemik dan terjadinya penyakit kardiovaskuler termasuk aterosklerosis. *Vitamin D receptor* (VDR) terdapat di semua sel yang terlibat dalam aterosklerosis, termasuk *endothelial cells* (ECs), *vascular smooth muscle cells* (VSMCs) dan sel kekebalan (Kassi *et al.*, 2013; Eckel & Hokanson, 2016).

Saat ini penelitian tentang komplikasi mikrovaskular dan makrovaskular penderita diabetes mellitus tipe 1 yang berhubungan dengan defisiensi vitamin D masih terbatas di Indonesia. Hal ini mendorong peneliti untuk melakukan penelitian ini. Oleh karena itu sangatlah penting dilakukan penelitian tentang pengaruh defisiensi vitamin D terhadap timbulnya aterosklerosis subklinis melalui pemeriksaan CIMT dan FMD pada anak diabetes melitus tipe 1.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah terdapat hubungan antara kadar vitamin D dengan tanda-tanda aterosklerosis subklinis pada anak diabetes melitus tipe 1?

1.2.1 Sub Masalah

1. Apakah kadar vitamin D pada anak diabetes melitus tipe 1 lebih rendah dibandingkan dengan kelompok kontrol?
2. Apakah hasil CIMT pada anak diabetes melitus tipe 1 lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol?
3. Apakah hasil FMD pada anak diabetes melitus tipe 1 lebih rendah dibandingkan dengan kelompok kontrol?
4. Apakah terdapat hubungan antara kadar vitamin D dengan hasil CIMT pada anak diabetes melitus tipe 1?
5. Apakah terdapat hubungan antara kadar vitamin D dengan hasil FMD pada anak diabetes melitus tipe 1?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Membuktikan bahwa terdapat hubungan antara kadar vitamin D serum dengan tanda-tanda aterosklerosis subklinis pada anak diabetes melitus tipe 1.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Membuktikan bahwa kadar vitamin D pada anak diabetes melitus tipe 1 lebih rendah dibandingkan dengan kelompok kontrol
2. Membuktikan bahwa hasil CIMT pada anak diabetes melitus tipe 1 lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol

3. Membuktikan bahwa hasil FMD pada anak diabetes melitus tipe 1 lebih rendah dibandingkan dengan kelompok kontrol

4. Membuktikan bahwa terdapat hubungan antara kadar vitamin D dengan hasil CIMT pada anak diabetes melitus tipe 1

5. Membuktikan bahwa terdapat hubungan antara kadar vitamin D dengan hasil FMD pada anak diabetes melitus tipe 1

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Dalam Bidang Ilmu Pengetahuan

1. Memberikan pengetahuan dan gambaran mengenai kadar vitamin D pada anak diabetes melitus tipe 1
2. Menambah pengetahuan dan gambaran mengenai hubungan kadar vitamin D dengan aterosklerosis subklinis pada anak diabetes melitus tipe 1

1.4.2 Dalam Bidang Pelayanan Kesehatan

Temuan ini dapat memberikan pengembangan deteksi dini penyakit aterosklerosis subklinis pada anak diabetes melitus tipe 1

BAB 2

TINJAUAN KEPUSTAKAAN

2.1 Diabetes Melitus Tipe 1

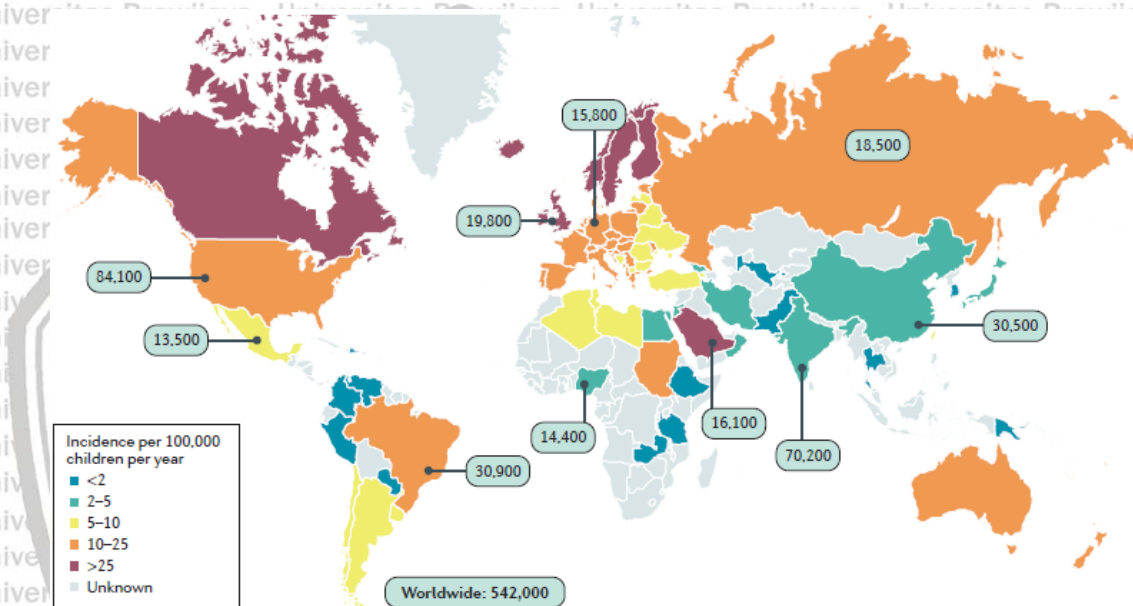
2.1.1 Definisi

Diabetes melitus tipe 1 merupakan penyakit kronis yang ditandai oleh defisiensi insulin absolut yang disebabkan oleh destruksi sel beta pankreas yang dimediasi oleh sel T. Diabetes melitus tipe 1 merupakan tipe diabetes yang banyak terjadi pada anak-anak dan remaja, walaupun dapat terjadi pada masa dewasa dengan gejala khas poliuria, polidipsia, hiperglikemia dan penurunan berat badan. Pada sebagian besar pasien (70-90%), disebabkan oleh menurunnya atau hilangnya sel beta pankreas yang disebabkan oleh proses autoimun. Pada sebagian kecil yang lain, kerusakan sel beta pankreas tidak diketahui dan tidak ada keterlibatan autoimun (DM tipe 1 idiopatik) dan tipe ini memiliki pengaruh genetik yang kuat (Katsarou *et al.*, 2017; Iqbal *et al.*, 2018).

2.1.2 Epidemiologi

Pada tahun 2017, berdasarkan *international diabetes federation* (IDF) sekitar 425 juta orang di dunia menderita diabetes, dan sekitar 5-10% atau 42.5 sampai 95 juta orang diperkirakan menderita diabetes melitus tipe 1. Diabetes melitus tipe 1 adalah bentuk diabetes yang paling umum pada anak-anak (< 15 tahun) dan > 500.000 anak-anak saat ini dengan DM tipe 1. Insiden DM tipe 1 meningkat di seluruh dunia dan diperkirakan bahwa hampir 90.000 anak didiagnosis setiap tahunnya. Di Amerika Serikat prevalensi DM tipe 1 meningkat seiring meningkatnya kejadian obesitas terutama pada anak-anak. Tingkat insiden sangat bervariasi antar negara, seperti pada gambar 2.1, insiden tertinggi

di negara-negara Skandinavia, diikuti oleh negara-negara di Eropa (seperti Inggris), Amerika Utara dan Australia. Di negara-negara Asia seperti Cina, Korea dan Jepang, diabetes melitus merupakan penyakit yang jarang. Hal ini mungkin berhubungan dengan genetik (HLA), faktor lingkungan, gaya hidup, tingkat kebersihan dan infeksi (Ferranti *et al.*, 2014; Katsarou *et al.*, 2017; Iqbal *et al.*, 2018).



Gambar 2.1 Insiden dan Prevalensi Diabetes Melitus Tipe 1 pada Anak.

Perkiraan jumlah kasus diabetes melitus tipe 1 pada anak (< 15 tahun) per 100.000 individu pada tahun 2015. Prevalensi DMT1 di 10 negara yang paling banyak.

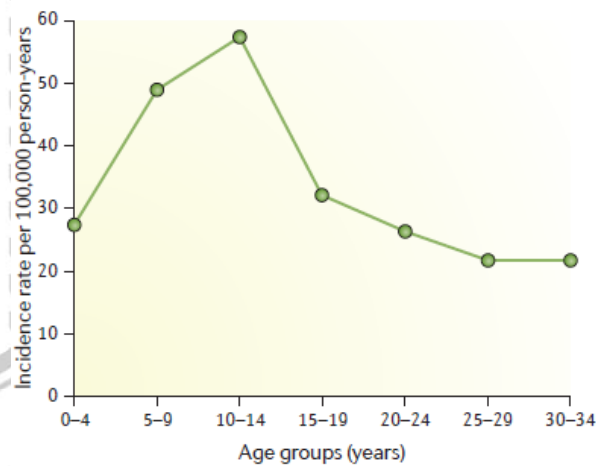
Dikutip dari: Katsarou *et al.*, 2017

Genotipe HLA-DR-DQ bervariasi antar negara. Genotipe diabetes melitus tipe 1 ini banyak terdapat di Skandinavia dan sedikit di negara-negara Asia.

Pemicu autoimunitas pada sel beta pankreas juga bervariasi antar negara. Di

Rusia, anak-anak yang memiliki riwayat sering terkena infeksi memiliki risiko lebih rendah untuk berkembang menjadi penyakit autoimun dengan target sel beta pankreas dibandingkan dengan anak dengan faktor risiko genetik yang

sama tetapi dengan riwayat infeksi yang lebih rendah. Insiden diabetes melitus tipe 1 tertinggi pada usia 12-14 tahun (Gambar 2.2) (Katsarou *et al.*, 2017).



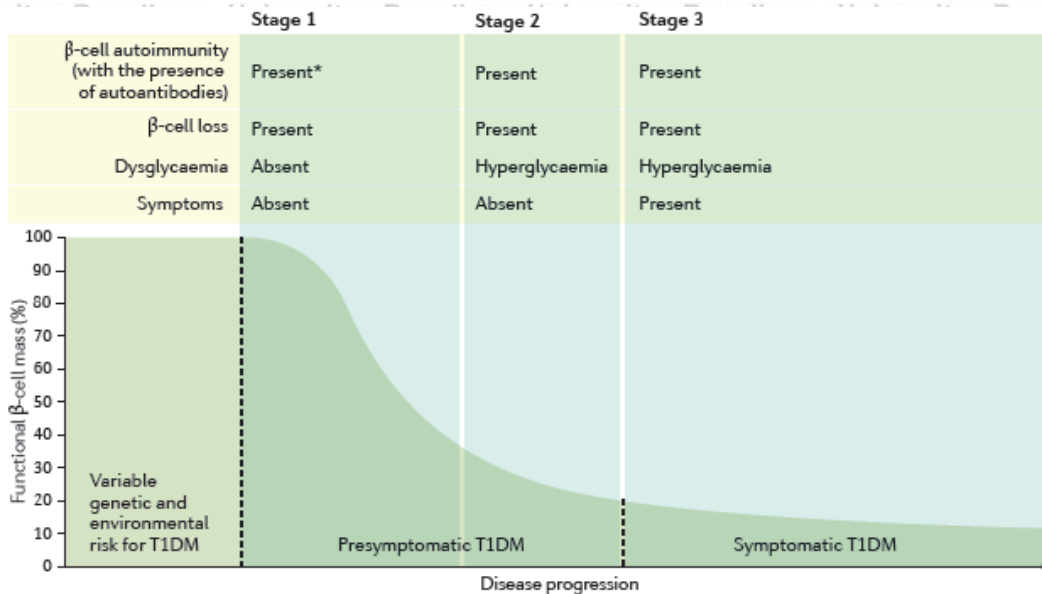
Gambar 2.2 Tingkat Kejadian Diabetes Melitus Tipe 1 Sesuai Usia.

Tingkat kejadian DMT1 per 100.000 orang-tahun di Swedia berdasarkan kelompok usia. Grafik menunjukkan kejadian DM tipe 1 pada pria dan wanita yang telah digabungkan. Dikutip dari: Katsarou *et al.*, 2017

2.1.3 Patofisiologi

Tingkat kerusakan sel beta pankreas bervariasi, umumnya terjadi lebih cepat pada usia yang muda. Namun, DM tipe 1 juga bisa terjadi pada orang dewasa, karena beberapa individu memiliki sisa sel beta pankreas yang cukup sehingga tidak tergantung pada insulin sampai bertahun-tahun kemudian. Saat didapatkan adanya keterlibatan autoantibodi maka disebut sebagai diabetes autoimun laten saat dewasa. DM tipe 1 sangat jarang terjadi tanpa keterlibatan autoimunitas dan umumnya disertai dengan ketoasidosis dan kebutuhan insulin yang intermiten (Ferranti *et al.*, 2014).

Patogenesis DM tipe 1 dibagi menjadi beberapa tahap yang berhubungan dengan deteksi autoantibodi dan proses kerusakan sel beta pankreas, dislipidemi dan gejala-gejala yang berhubungan dengan hiperglikemia (Gambar 2.3).



Gambar 2.3 Tahap Patogenesis Diabetes Melitus Tipe 1.

Diabetes melitus tipe 1 diklasifikasikan menjadi 3 tahap. Tahap 1 ditandai dengan adanya proses autoantibodi dan belum muncul adanya disglukemia; tahap 2 ditandai dengan adanya autoantibodi dan disglukemia; tahap 3 telah muncul gejala diabetes melitus berupa poliuri, polifagi, polidipsi dan penurunan berat badan.

Dikutip dari: Katsarou *et al.*, 2017

DM tipe 1 ini terdapat sedikit atau tidak sama sekali sekresi insulin yang dapat ditentukan dengan level protein C-peptida yang jumlahnya sedikit atau tidak terdeteksi sama sekali. Karena penurunan masa sel beta, sekresi insulin menurun sampai insulin yang tersedia tidak lagi cukup untuk mempertahankan kadar glukosa normal. Setelah 80-90% dari sel-sel beta hancur, hiperglikemia akan muncul dan diabetes biasanya baru terdiagnosis (Khardori & Pauza, 2003).

Kekurangan insulin menyebabkan lipolisis yang tidak terkendali dan peningkatan kadar asam lemak bebas dalam plasma, yang menekan metabolisme glukosa di jaringan perifer seperti otot skeletal. Hal ini mengganggu pemanfaatan glukosa, kekurangan insulin juga menurunkan ekspresi dari sejumlah gen yang diperlukan untuk jaringan target agar merespon insulin secara normal seperti glukokinase di hati dan *glucose transporter 4* (GLUT 4) dalam jaringan adiposa. Pasien perlu insulin eksogen untuk mengembalikan kondisi

katabolik ini, mencegah ketosis, menurunkan hiperglukagonemia, dan menormalkan lipid serta metabolisme protein (Khardori & Pauza, 2003; Ozougwu *et al.*, 2013).

2.1.3.1 Komponen Genetik

Aspek genetik pada DM tipe 1 sangatlah kompleks dengan keterlibatan banyak gen. Anak dari orang tua dengan DM tipe 1 memiliki risiko yang bervariasi tergantung dari apakah ibu atau ayah yang terkena diabetes. Anak dengan ibu DM tipe 1 memiliki risiko diabetes meningkat 2-3%, sedangkan anak dengan ayah DM tipe 1 berisiko diabetes 5-6%. Namun, apabila kedua orang tua menderita DM tipe 1, risiko pada anak akan meningkat hingga 30%. Lebih lanjut, risiko pada anak dengan orang tua penderita DM tipe 1 lebih tinggi jika onset diabetes terjadi sebelum usia 11 tahun dan lebih rendah jika onset penyakit terjadi setelah usia 11 tahun (Gillespie, 2006; Gallagher *et al.*, 2009; Bluestone *et al.*, 2011).

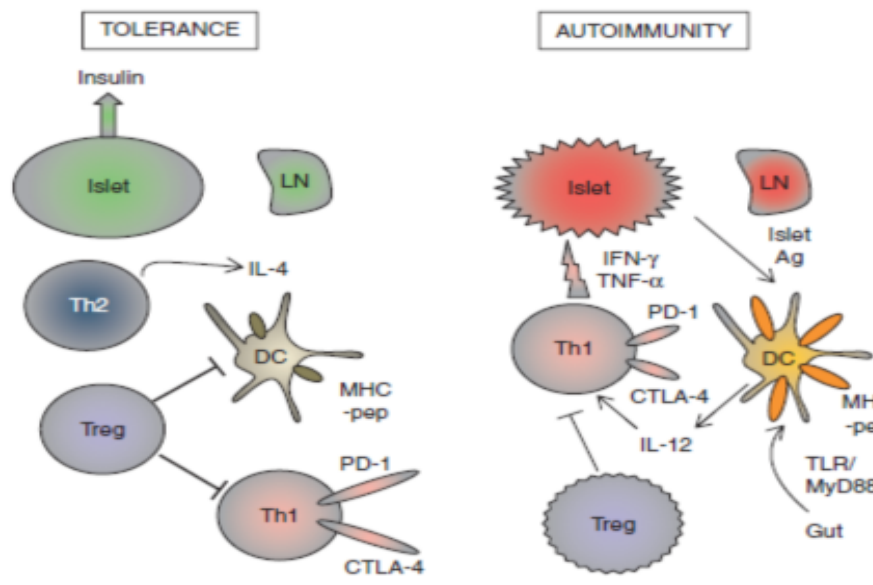
Penelitian mengenai genom telah mengidentifikasi beberapa lokus yang berkaitan dengan DM tipe 1. Genomik *major histocompatibility complex* (MHC) merupakan lokasi dari beberapa lokus yang diduga berkaitan dengan DM tipe 1. Individu dengan genotip *human leucocyte antigen* (HLA) spesifik (yang mengkode protein MHC) yaitu genotipe HLA-DR dan HLA-DQ (HLA-DR-DQ) memiliki risiko dua kali lipat atau lebih menjadi DM tipe 1. Pada DM tipe 1 HLA pada kromosom 6p21 berperan penting lebih dari 50% kasus keluarga di Kaukasia. Haplotip HLA DR4-DQ8 atau DR3-DQ2 terdeteksi pada 90% pasien dengan DM tipe 1. Kombinasi 2 jenis haplotip DR4-DQ8/DR3-DQ2 memiliki risiko tertinggi menjadi DM tipe 1 yang akan terjadi pada usia yang sangat dini (Gillespie, 2006; Ferranti *et al.*, 2014).

2.1.3.2 Proses Autoimun

Diabetes melitus tipe 1 timbul karena adanya autoantibodi yang terjadi selama beberapa bulan sampai tahun sebelum onset gejala. Autoantibodi ini dapat digunakan sebagai biomarker adanya proses autoimunitas. Karakteristik adanya proses autoantibodi yang berhubungan dengan DM tipe 1 adalah terbentuknya autoantibodi terhadap insulin, *65 kDa glutamic acid decarboxylase* (GAD65), *insulinoma-associated protein 2* (IA-2) atau *zinc transporter 8* (ZnT8) dan autoantibodi terhadap sel Langerhans itu sendiri (*American Diabetes Association*, 2010; Ferranti *et al.*, 2014).

Autoimunitas DM tipe 1 terjadi akibat hilangnya toleransi imunologik terhadap sel beta pankreas (Gambar 2.4). Destruksi selektif sel beta menunjukkan mekanisme spesifik reaksi autoimun yang targetnya adalah sel beta, yang melibatkan infiltrasi pulau Langerhans oleh limfosit T CD4⁺ dan CD8⁺ dan makrofag yang menyebabkan insulinitis. Selama periode sebelum onset klinis, autoantibodi menargetkan autoantigen spesifik seperti insulin, GAD65, IA-2 dan ZnT8 sehingga dapat terdeteksi selama beberapa bulan hingga tahun sebelum timbul hiperglikemia. Waktu mulai munculnya autoantibodi dan jumlah autoantibodi GAD65 dan IA-2 berhubungan dengan peradangan pada sel beta atau insulinitis (Kilpatrick *et al.*, 2009; Harjutsalo *et al.*, 2011).

Intensitas dan durasi kerusakan sel beta bervariasi dan berhubungan dengan adanya risiko tinggi halotipe HLA khususnya baik DR3-DQ2, DR4-DQ8. Molekul HLA kelas II diekspresikan pada sel yang mempresentasikan antigen (*antigen presenting cells/APC*) seperti sel dendritik dan makrofag juga pada limfosit B dan limfosit T yang aktif atau bahkan sel endotel yang teraktivasi (Cardwell *et al.*, 2010).



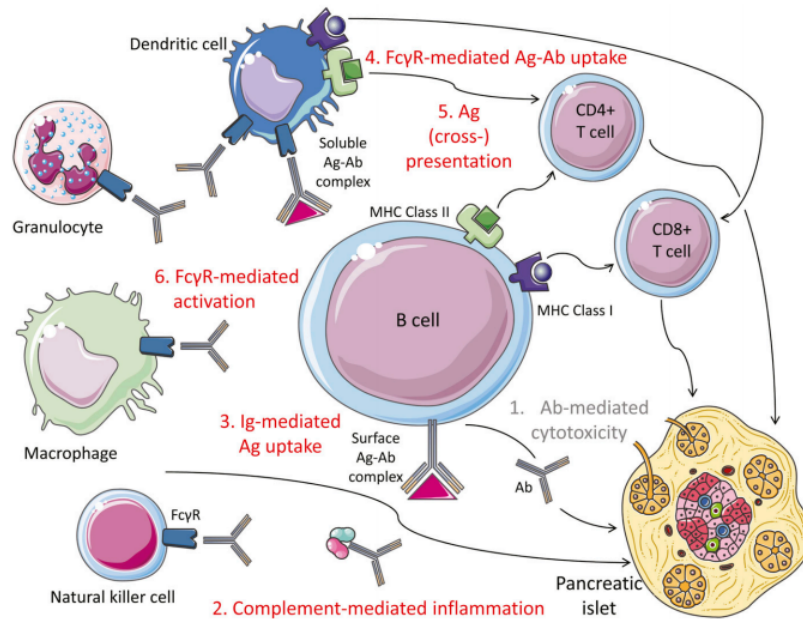
Gambar 2.4 Komponen Seluler dan Molekuler pada Toleransi dan Autoimunitas DM Tipe 1.

Pada gambar ini secara skematis menggambarkan ada bagian utama dari sel yang terlibat pada kondisi tolerogenik dan autoimun di limfonodi pankreas dan sel islet. Dalam kondisi toleransi (panel kiri), sel dendritik mengekspresikan kompleks antigen-MHC dalam jumlah yang rendah dan merangsang sel T autoreaktif secara tidak efisien ($CD4^+$ Th1 atau sel T autoreaktif $CD8^+$); Treg secara efisien akan menekan Teff; respon dari efektor akan lebih condong ke arah Th2 pelindung dan molekul penghambat intrinsik seperti CTLA-4 dan PD-1 di limfonodi dan jaringan. Pada kondisi autoimun (panel kanan), sel dendritik telah matur secara fungsional dengan tingkat kompleks antigen-MHC, molekul kostimulator dan sitokin proinflamasi seperti IL-12 yang tinggi. Fungsi DC akan distimulasi oleh pelepasan antigen itu sendiri setelah kerusakan jaringan; Teff akan melepaskan diri dari imunoregulasi yang dimediasi oleh Treg karena banyak yang rusak, kelangsungan hidup dan/atau fungsi Treg dan resistensi Teff terhadap supresi; respon efektor didominasi oleh sel Th1 proinflamasi; Teff tidak dikendalikan secara efisien oleh molekul imunoregulator seperti CTLA-4 dan PD-1. Proses autoimun pada akhirnya akan membuat destruksi sel islet pankreas dan penurunan produksi insulin.

Dikutip dari: Jeker *et al.*, 2012

Sel T dikategorikan berdasarkan aktivitas imun melalui berbagai sitokin yang dikeluarkan. Sitokin diklasifikasikan menjadi dua tipe yakni sitokin tipe 1 yang mengaktifkan imunitas seluler dan menekan respon imun humoral, dan sitokin tipe 2 yang mengaktifkan imunitas humoral dan menghambat proses imun seluler. Sel Th1 terbentuk dari prekursor sel T (*T helper 0*) di bawah pengaruh langsung sel dendritik matur dan IL-12. Sel *T helper 1* (Th1) yang terlibat dalam respon imun seluler (peradangan, sitotoksitas, hipersensitivitas lambat) dan memproduksi sitokin tipe 1 seperti *tumor necrosis factor* β (TNF β), *interleukin 2*

(IL-2) dan *interferon* γ (IFN γ). Sel Th2 penting dalam imunitas humoral (mengaktifkan sel B, produksi antibodi, dan *downregulasi* sel Th 1) dan memproduksi sitokin tipe 2 seperti interleukin 4, 5, 6, 9 dan 10 (Gambar 2.5) (Gallagher *et al.*, 2009).



Gambar 2.5 Mekanisme Keterlibatan sel B dalam Autoimunitas Sel B.

1) Sitotoksitas yang dimediasi oleh Ab; 2) Inflamasi yang dimediasi komplemen; 3) Pengambilan antigen (Ag) yang dimediasi oleh imunoglobulin (Ig). Mekanisme ini membuat sel B sangat autoreaktif pada saat pemrosesan dan penyajian antigen sel-B melalui ikatan pada permukaan Ig; 4) Pengambilan kompleks antigen-Ab yang dimediasi oleh reseptor Fc γ (Fc γ R). Kompleks antigen-Ab yang terlarut juga secara efisien diambil oleh sel dendritik dan sel penyaji antigen lainnya melalui permukaan Fc γ R; 5) Penyajian antigen (silang). Antigen sel-B yang diambil dan diproses oleh sel B dan sel dendritik kemudian disajikan ke sel T CD4⁺ melalui molekul histokompatibilitas utama kelas II dan disajikan silang ke sel T CD8⁺ melalui molekul histokompatibilitas utama kelas I, yang mengarah pada aktivasi sel T autoreaktif; 6) Aktivasi yang dimediasi oleh Fc γ R. Beberapa sel yang mengandung Fc γ R (pembunuh alami, makrofag, granulosit, dan sel dendritik) menjadi aktif setelah berikatan dengan bagian Fc dari Abs ke Fc γ Rs. Hal ini memicu sekresi sitokin inflamasi dan pematangan sel dendritik.
Dikutip dari: Mallone & Brezar, 2011

Sel Th2 merupakan pelindung sel beta. Sel ini memiliki efek penghambatan pada sel Th1, yang merusak sel beta pankreas. Terganggunya keseimbangan antara Th1 dan sel Th2 dalam timus dan perifer diyakini memainkan peran penting dalam patogenesis autoimun diabetes mellitus. Sel

Th1 yang terbentuk mensekresi IFN γ dan interleukin 12 (IL-12) yang mengarah pada aktivasi makrofag dan sel T sitotoksik dan merusak sel beta pankreas sehingga akan kehilangan toleransi spontan sel T terhadap antibodi *glutamic acid decarboxylase* (GAD), yang mengarah ke diabetes autoimun dan peningkatan resistensi untuk terjadinya apoptosis (Cardwell *et al.*, 2010).

2.1.3.3 Komponen Lingkungan

Faktor lingkungan juga berkaitan dengan DM tipe 1. Pemicu potensial dari lingkungan yang menyebabkan destruksi sel beta pankreas diperantarai oleh respon imunologis meliputi virus (enterovirus, mumps, rubella, dan virus *coxsackie*), zat kimia, paparan susu sapi pada masa bayi dan sitotoksin. Penelitian meta analisis menemukan bahwa adanya peningkatan risiko usia ibu saat hamil dengan terjadinya DM tipe 1 pada anak yang dikandung (Gallagher *et al.*, 2009; Jeker *et al.*, 2012).

Faktor lingkungan yang meningkatkan risiko berkembangnya diabetes tipe 1 adalah infeksi rubela kongenital, dimana sampai 20% dari anak-anak tersebut dikemudian hari menjadi diabetes. Pengamatan ini menunjukkan bahwa urutan asam amino di protein *envelope* virus rubella mendukung mimikri antigen virus sebagai faktor etiologi pada DM tipe 1. Peran faktor lingkungan juga diduga disebabkan oleh respon imun terhadap protein susu sapi, dimana hampir semua pasien DM tipe 1 memiliki antibodi peptida serum albumin susu sapi dan menunjukkan respon sel T untuk peptida serum albumin susu sapi yang sama dengan protein yang ada di permukaan sel beta pankreas dibandingkan dengan kontrol yang hanya 2% (Alemzadeh *et al.*, 2008).

2.1.4 Diagnosis

Gejala klasik hiperglikemia pada anak termasuk poliuria, polidipsia, polifagi, penurunan berat badan, nyeri kepala, dan ketoasidosis. Mayoritas (> 95%) pasien terdiagnosis dengan adanya gejala klinis dan minoritas pada saat pemeriksaan skrining (ADA, 2010).

Berdasarkan *American diabetes association* (ADA) (2016), kriteria diagnosis diabetes melitus tipe 1 yaitu: 1) kadar glukosa plasma puasa ≥ 126 mg/dl (7 mmol/l). Puasa didefinisikan sebagai tidak ada asupan kalori selama minimal 8 jam; 2) kadar glukosa plasma ≥ 200 mg/dl (11.1 mmol/l) diukur 2 jam setelah pemberian glukosa 1,75 g/kg (dosis maksimum 75 g) melalui tes toleransi glukosa oral (TTOG). Sebagian besar anak-anak dan remaja dengan DM tipe 1 adalah simtomatik dan memiliki konsentrasi glukosa plasma jauh di atas ambang batas ini sehingga TTOG jarang diperlukan untuk diagnosis DMT1; 3) kadar HbA1c $\geq 6,5\%$; 4) kadar glukosa darah vena acak ≥ 200 mg/dl (11.1 mmol/l) pada pasien dengan gejala klasik hiperglikemia atau krisis hiperglikemia; 5) kadar C-peptida plasma yang rendah (0.8-3.1 ng/mL) atau tidak terdeteksi; 6) adanya satu atau lebih penanda autoimun yaitu *65kDa glutamic acid decarboxylase* (GAD65), *insulinoma associated protein 2* (IA2) dan *zinc transporter 8* (ZNT8) yang positif (ADA, 2010).

2.2 Vitamin D

2.2.1 Definisi

Pada tahun 1923, Goldblatt dan Soames pertama kali mengemukakan tentang vitamin yang secara alami diproduksi oleh tubuh saat terpapar sinar matahari. Meskipun awalnya digambarkan sebagai "vitamin", saat ini telah diakui

sebagai hormon, disintesis dalam tubuh manusia dan beraktivitas pada organ lain melalui reseptor vitamin D (Hollick, 2010).

Vitamin D merupakan prohormon steroid yang terutama terdapat pada hewan, tanaman, dan ragi. Melalui berbagai perubahan metabolik tubuh, vitamin D menghasilkan hormon kalsitriol yang mempunyai peranan dalam metabolisme kalsium dan fosfat. Terdapat beberapa bentuk vitamin D, yaitu vitamin D₁, vitamin D₂, vitamin D₃, vitamin D₄, dan vitamin D₅. Bentuk utama dari vitamin D adalah vitamin D₂ atau *ergocalciferol* dan vitamin D₃ atau *cholecalciferol*. Yang merupakan bentuk aktif dari vitamin D adalah vitamin D₃ atau *cholecalciferol* (Hollick, 2010).

2.2.2 Metabolisme Vitamin D

Vitamin D berasal dari aktivasi paparan sinar matahari, makanan, dan suplemen merupakan bentuk tidak aktif dan harus diaktivasi melalui 2 reaksi hidroksilasi enzimatis berturut-turut yang terjadi di hati dan ginjal. Secara endogen, vitamin D₃ dapat difotosintesis di kulit. *7-dehydrocholesterol* (provitamin D₃) yang ada di kulit dikonversi menjadi bentuk previtamin D₃ (*precalciferol*) setelah paparan ultraviolet B (UVB). Panjang gelombang UVB 290-315 nm diserap oleh rantai karbon C₅ dan *C7-dehydrocholesterol* untuk mensintesis vitamin D₃ beberapa jam setelah paparan sinar matahari. Paparan sinar matahari menyebabkan eritema ringan dan meningkatkan konsentrasi vitamin D serum sama dengan konsumsi oral 10.000-25.000 IU (1 IU = 0.025 mg). Selanjutnya, terjadi isomerisasi termal terhadap vitamin D₃ di epidermis. Produksi vitamin D₃ di kulit tergantung oleh tingkat dan kualitas UVB yang mencapai dermis serta ketersediaan *7-dehydrocholesterol* dan karakteristik kulit (Cisneros *et al.*, 2017; Gil *et al.*, 2018; Silva dan Furlanetto, 2018).

Apabila sinar matahari tidak cukup untuk memenuhi kebutuhan vitamin D, konsumsi oral seperti susu diperlukan untuk mengatasi kekurangan tersebut. Kebutuhan vitamin D untuk usia 51-70 tahun dan lebih dari 71 tahun adalah 400 dan 600 IU/hari, sementara anak-anak dan dewasa muda setidaknya membutuhkan sekitar 600 IU vitamin D setiap hari (Prieti *et al.*, 2010).

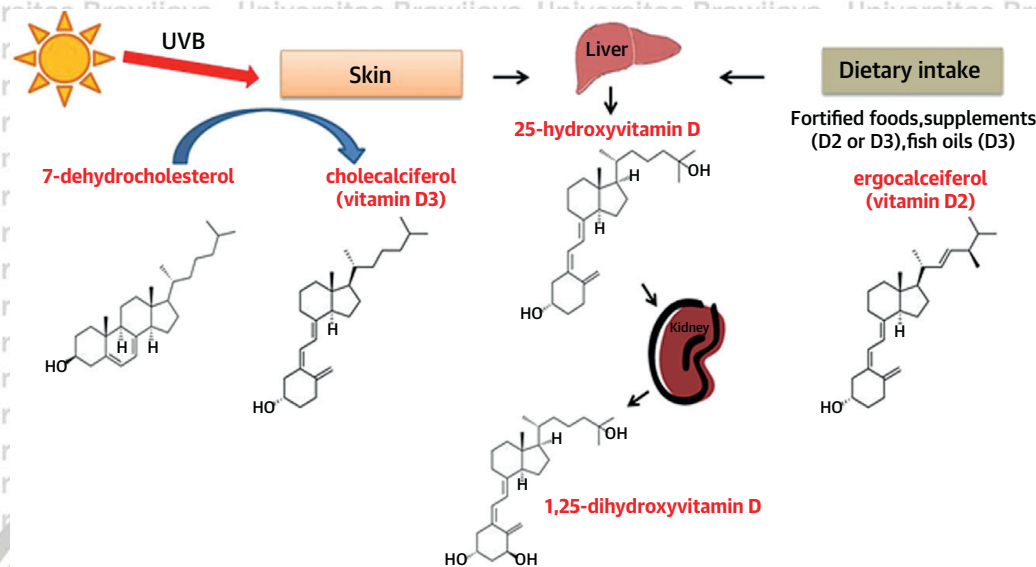
Tabel 2.1 Rekomendasi *Institute of Medicine* (IOM) untuk *Adequate Intake* (AI), *Tolerable Upper Limit* (UL), *Sufficient Upper Limit* (SUL) dan Angka Kecukupan Harian Vitamin D.

	<i>IOM</i>		<i>Reasonable Daily allowance (IU/day)</i>	<i>SUL [IU/day]</i>
	<i>AI [IU (µg/day)]</i>	<i>UL [IU (µg/day)]</i>		
0–6 month	200 (5)	1,000 (25)	400–1,000	2,000
6–12 months	200 (5)	1,000 (25)	400–1,000	2,000
1–18 year	200 (5)	2,000 (50)	1,000–2,000	5,000
19–50 year	200 (5)	2,000 (50)	1,500–2,000	10,000
51–70 year	400 (10)	2,000 (50)	1,500–2,000	10,000
71+ year	600 (15)	2,000 (50)	1,500–2,000	10,000
Pregnancy	200 (5)	2,000 (50)	1,500–2,000	10,000
Lactation	200 (5)	2,000 (50)	1,500–2,000 4,000–6,000 (for infant's requirement)	10,000

Dikutip dari: Prieti *et al.*, 2010

Vitamin D yang berasal dari makanan diserap di usus halus bersama dengan lemak makanan lainnya. Adanya lemak di dalam lumen usus memicu pelepasan asam empedu, sehingga menstimulasi emulsifikasi dan pembentukan misel yang mengandung lipid yang berdifusi ke dalam enterosit. Setelah diserap, vitamin D eksogen dalam bentuk kilomikron diangkut ke hati. Sebagian kecil dari vitamin D dalam bentuk kilomikron dapat diambil oleh jaringan adiposa dan otot rangka. Sebagian besar vitamin D yang tersisa akan mencapai hati dan *vitamin D binding protein* (DBP) akan berikatan dengan vitamin D dan memasuki hepatosit

serta berbagai jaringan yang membutuhkannya (Gambar 2.6) (Mulligan & Licata, 2010; Cisneros *et al.*, 2017; Silva & Furlanetto, 2018).



Gambar 2.6 Sintesis Vitamin D.

Vitamin D difotosintesis di kulit dan juga diperoleh dari asupan makanan. Dua langkah hidroksilasi dalam hati dan ginjal diperlukan untuk aktivasi vitamin D, sehingga membentuk 1,25-dihydroxyvitamin D. UVB 1-4 radiasi ultraviolet di daerah panjang gelombang B (320 hingga 290 nm).

Dikutip dari: Mheid & Quyyumi, 2017

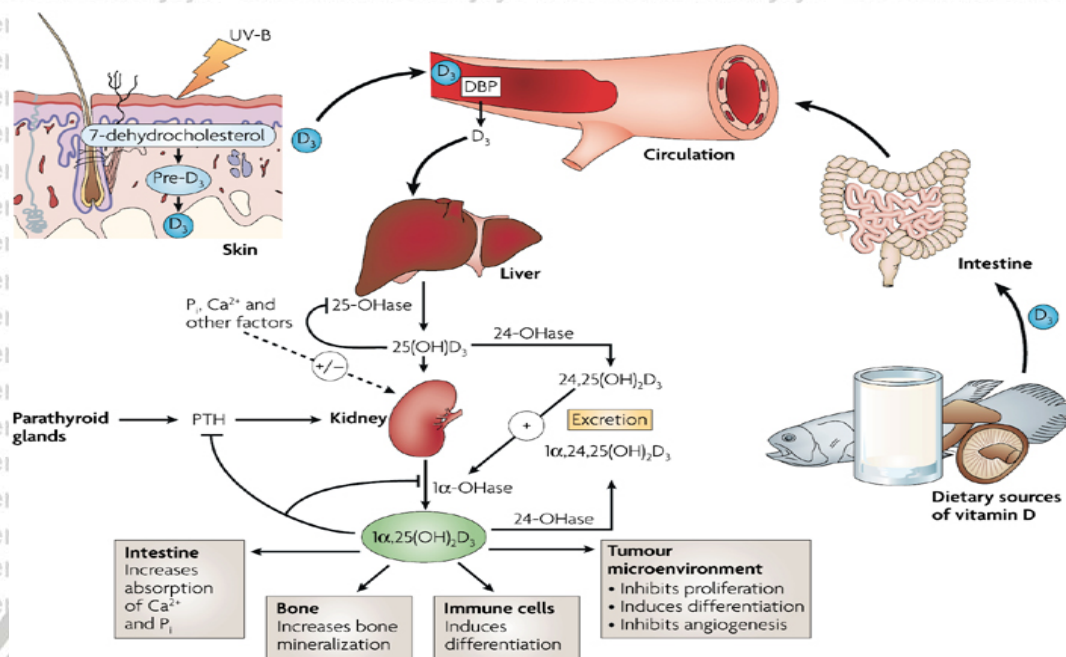
Di hati, precalciferol dihidroksilasi oleh 25-hidroksilase, enzim sitokrom P450 (terutama CYP2R1), yang membentuk 25-hidroksivitamin D (25(OH)D; kalsidiol) dengan waktu paruh 21 hari. Setelah disintesis, DBP yang terikat dengan 25(OH)D disekresikan ke dalam darah. Konsentrasi 25(OH)D serum bervariasi antara 20 sampai 200 nmol/l (8-80 ng/ml). Individu yang terpapar sinar matahari dalam jumlah besar bisa mempunyai konsentrasi 25(OH)D serum hingga 250 nmol/l (100 ng/ml). Kemudian 25(OH)D dihidroksilasi di ginjal oleh enzim 25(OH)D 1 α -hidroksilase, CYP27B1 untuk membentuk bentuk aktif 1 α , 25-dihydroxyvitamin D (calcitriol). Proses ini terjadi di mitokondria sel tubulus proksimal ginjal, dan diatur oleh kadar kalsium dan fosfat di dalam darah melalui

parathyroid hormone (PTH) dan *fibroblast growth factor* 23 (FGF-23). Usia rata-rata 25(OH)D di plasma adalah sekitar 3 minggu dan menunjukkan status vitamin D di tubuh. CYP450 24-hidroksilase terdapat di dalam sel tubulus proksimal ginjal dan di semua sel target, mengekspresikan *vitamin D receptor* (VDR) (Jones, 2008; Savastano *et al.*, 2017).

Regulasi kalsitriol tergantung pada keseimbangan antara aktivitas 1 α -hidroksilase dan 24-hidroksilase. Kedua enzim ini diatur oleh kadar kalsium serum, kalsitriol, dan fosfat. Pada kondisi kalsium serum yang rendah atau kadar vitamin D yang rendah akan menyebabkan PTH disekresi oleh kelenjar paratiroid dan merangsang sintesis 1 α -hidroksilase, yang menstimulasi peningkatan aktivasi 1,25(OH)₂D. PTH juga menghambat 24-hidroksilase dan dapat menginduksi sintesis osteoklas dan osteosit dari FGF-23, yang akan bekerja karena penurunan ekspresi transporter natrium-fosfat ginjal. FGF-23 juga dapat menyesuaikan homeostasis vitamin D dengan menekan ekspresi ginjal 1 α -hidroksilase dan menginduksi 24-hidroksilase, sehingga akan menurunkan kadar kalsitriol serum (Gambar 2.7) (Perwad & Portale, 2011; Brown & Razzaque, 2015; Christakos, 2017).

Defisiensi vitamin D global telah menjadi masalah tersendiri di seluruh dunia. Namun masih terdapat kontroversi kriteria defisiensi, insufisiensi atau sufisiensi vitamin D tersebut. Secara umum disepakati bawah kadar 25(OH)D < 20 ng/ml disebut defisiensi vitamin D, disebut insufisiensi jika kadarnya 21-29 ng/ml dan sufisiensi jika \geq 30 ng/ml. Baru-baru ini ditemukan hubungan antara defisiensi vitamin D dengan risiko penyakit kronis termasuk penyakit autoimun seperti diabetes melitus tipe 1, *multiple sclerosis*, dan rematik artritis, kanker prostat, kolon, payudara, penyakit kardiovaskular dan stroke. Kadar vitamin D \geq 30 ng/ml atau setidaknya 40 ng/ml dapat membantu memodulasi sistem imun

dan melawan penyakit infeksius termasuk tuberkulosis dan infeksi saluran napas atas (Gambar 2.7) (Ginancar *et al.*, 2007).



Gambar 2.7 Metabolisme Vitamin D.

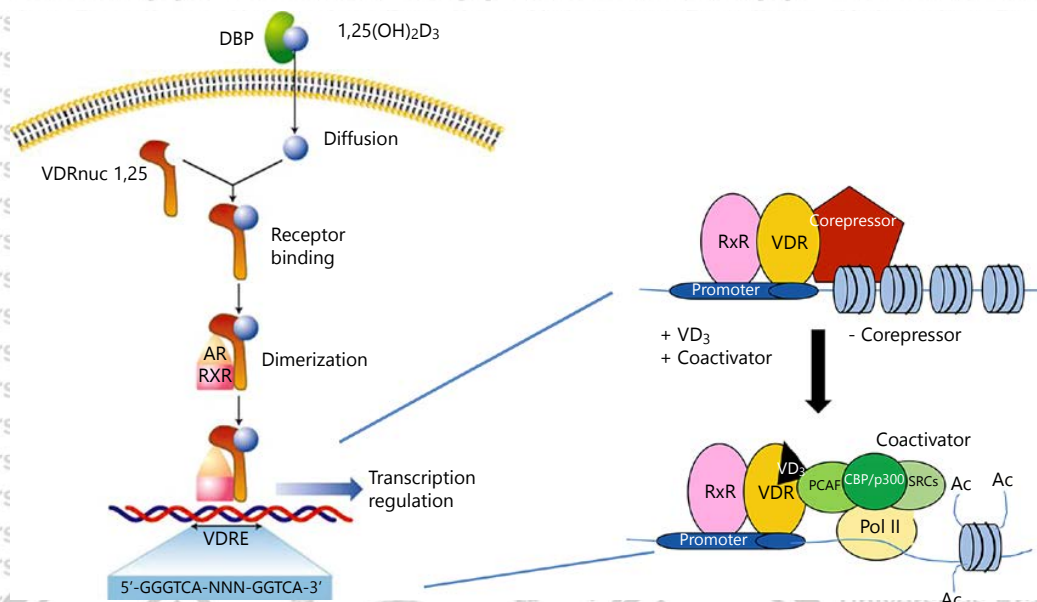
Vitamin D, yang diproduksi terutama dari ultraviolet B (UVB) bekerja pada kulit, tetapi juga tersedia dari diet, mengikat *vitamin D binding protein* (DBP) dan ditransport ke hati di mana enzim sitokrom mitokondria P450 (CYP) yang berbeda menghidroksilasi untuk membentuk 25(OH)D. Kemudian ditransport oleh DBP terutama ke ginjal, di mana enzim CYP menghidroksilasi menjadi bentuk aktif, 1,25(OH)₂D₃. Namun, sel-sel kekebalan tubuh juga memiliki enzim CYP yang diperlukan untuk mengaktifkan 1,25(OH)₂D₃. Karena menjadi lipofilik, 1,25(OH)₂D₃ dapat melintasi membran sel dan bekerja dalam sel dengan cara mengikat reseptor vitamin D (VDR) dalam nukleus. VDR merupakan faktor transkripsi yang diaktifkan ligan yang berinteraksi dengan *vitamin D response elements* (VDRE) pada gen yang meregulasi vitamin D baik sebagai homodimer atau heterodimer dengan *retinoid X receptor* (RXR). Vitamin D juga diatur oleh enzim CYP yang menonaktifkan calcitriol ke dalam derivatif larut air. Pengikatan vitamin D ke VDR meningkatkan CYP24A1 dan menurunkan CYP27B1, yang merupakan mekanisme umpan balik negatif yang penting dalam mengatur kadar vitamin D.

Dikutip dari: Deeb *et al.*, 2007

2.2.3 Mekanisme Aksi Vitamin D

Mekanisme aksi *calcitriol* dimediasi oleh VDR yaitu reseptor yang bertindak sebagai faktor transkripsi pada sel target setelah membentuk heterodimer dengan *retinoid X receptor* (RXR). Setelah dimerisasi, kompleks

VDR dengan RXR akan menempel di daerah promotor gen target. VDR telah ditemukan di hampir semua jenis sel (Gambar 2.8) (Gil *et al.*, 2018).



Gambar 2.8 Mekanisme Aksi Vitamin D.

CBP/p300 adalah protein pengikat protein CREB p300; PCAF merupakan faktor yang terkait P300/CBP; SRC adalah koaktivator reseptor steroid. Dikutip dari: Gil *et al.*, 2018

Selain 1,25(OH)₂D₃, dimer VDR-RXR dapat berikatan dengan molekul lain sebagai koaktivator p160 yang merupakan *steroid receptor coactivator* (SRC) 1, 2, dan 3, yang memiliki aktivitas *histone acetylase* (HAT), dan merupakan koaktivator utama yang berikatan dengan AF2 dari ligan VDR. Koaktivator p160 selanjutnya akan merekrut protein sebagai koaktivator sekunder, seperti CBP/p300, yang juga memiliki aktivitas HAT sehingga menghasilkan kompleks multi-subunit yang memodifikasi kromatin dan mengganggu kestabilan histon atau interaksi DNA. Modifikasi histon terjadi tidak hanya dengan asetilasi, tetapi juga melalui metilasi. Ligan VDR berinteraksi dengan faktor-faktor transkripsi basal (TFIIB dan beberapa faktor pengikat protein yang berhubungan dengan TATA DNA). Transkripsi VDR intermediet difasilitasi oleh mediator yaitu kompleks multiprotein yang berfungsi melalui rekrutmen RNA polimerase II dan

menyebabkan pembentukan kompleks preinisiasi (Yin & Wang, 2014; Christakos *et al.*, 2016; Pike *et al.*, 2016).

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa CAAT *enhance binding protein* (C/EBP) dapat menjadi mediator kunci dari mekanisme aksi $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. C/EBP diinduksi oleh $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ di ginjal dan sel osteoblastik dan bekerjasama dengan $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ dan VDR dalam meningkatkan transkripsi gen Cyp24a1 dan Bglap. C/EBP dan VDR bekerja sama dalam regulasi transkripsi peptida antimikroba manusia yang disebut *cathelicidin* di sel epitel paru, sedangkan Runx2 dan VDR bekerja bersama dalam regulasi transkripsi osteopontin tikus pada sel osteoblas. C/EBP, Runx2, dan VDR berkontribusi pada kontrol matriks metalloproteinase transkripsi gen 13 (Seth-Vollenweider *et al.*, 2014).

Prinsip regulasi gen yang dimediasi $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ pada sel target adalah sebagai berikut: 1) tempat pengikatan VDR adalah sekitar 2.000-8.000; 2) unit transkripsi aktif adalah heterodimer VDR/RXR; 3) tempat ikatan terletak di *cis-regulatory (enhancer)* di seluruh genom; 4) sekuen ikatan VDR/RXR (elemen VDR) dimediasi oleh *hexameric half-site* (AGGTCA) yang dipisahkan oleh 3 pasangan basa; 5) ikatan DNA tergantung dari $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$; 6) *enhancers* terdiri dari ikatan yang mengikat berbagai faktor transkripsi multiple yang memfasilitasi interaksi independen atau sinergis; 7) *epigenetic enhancers* ditentukan oleh modifikasi histone posttranslasional H3 dan H4 yang diatur secara dinamis dan selektif oleh $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$; 8) ikatan VDR sangat dinamis, karena mereka berubah selama diferensiasi sel, maturasi, saat sakit dan dengan demikian memiliki efek pada ekspresi gen (De Luca, 2016).

2.2.4 Peran Vitamin D

2.2.4.1 Peran Klasik Vitamin D

Vitamin D sebagai sistem endokrin merupakan komponen penting dalam interaksi antara ginjal, tulang, hormon paratiroid dan intestinal dalam mempertahankan konsentrasi kalsium ekstraseluler dalam batas normal, sehingga mempertahankan proses fisiologis penting dan integritas tulang. Dalam intestinal, peran vitamin D sangat penting dalam proses absorpsi kalsium dan fosfat dari makanan. $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ menstimulasi ambilan dan transport aktif kalsium dalam sel. Pada tulang rangka, vitamin D mempunyai peran yang sangat penting dalam membangun dan memelihara mineralisasi tulang. Pertumbuhan tulang membutuhkan kalsium dan $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ untuk membangun pembentukan osteoblastik tulang optimal. Di sisi lain, reabsorpsi osteoklastik juga membutuhkan $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ dan VDR. Komponen di atas sangat penting, sehingga ketika salah satu dari mereka tidak ada, proses keseimbangan skeletal tidak akan bekerja dengan baik (Hewison, 2010).

Pada hormon paratiroid, vitamin D adalah sistem endokrin potensial sebagai modulator fungsi paratiroid. Kekurangan vitamin D menyebabkan hiperplasia paratiroid, yang meningkatkan sintesis dan sekresi PTH. Adanya $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ akan menghambat sintesis PTH dan pertumbuhan sel-sel paratiroid, sehingga adanya $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ berfungsi sebagai terapi untuk hiperparatiroidisme pada pasien penyakit ginjal kronik. Pada ginjal, efek endokrin yang paling penting dari $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ di ginjal adalah kontrol ketat hemostasis melalui mekanisme supresi 1β -hidroksilase dan stimulasi 24 -hidroksilase dan melalui ekspresi megalin di tubulus proksimal (Mathieu, 2011).

2.2.4.2 Peran Non Klasik Vitamin D

Peran non klasik vitamin D regulasi sekresi hormon, regulasi fungsi kekebalan tubuh, dan regulasi proliferasi dan diferensiasi seluler.

2.2.4.2.1 Supresi Pertumbuhan Sel

1,25 *dihydroxyvitamin D* ($1,25(\text{OH})_2\text{D}$) menghambat proliferasi klonal berbagai jenis sel leukemia pada manusia. Di sisi lain $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ juga menstimulasi diferensiasi sel normal dan menyebabkan prekursor sel mieloid leukemia menjadi lebih matur dan kurang agresif. Peran protektif vitamin D terhadap kanker juga dapat dibuktikan dengan hubungan epidemiologi yang kuat antara kanker payudara, kanker prostat dan kanker usus besar dengan defisiensi vitamin D. Kerja antiproliferatif vitamin D lebih sebagai autokrin dibandingkan endokrin. Mekanisme yang mendasari hipotesis adalah dengan menghubungkan sistem $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ -VDR yang menghambat siklus sel kanker dalam transisi antara G1-G0 melalui beberapa jalur (Ford *et al.*, 2005).

2.2.4.2.2 Regulasi Apoptosis

1,25 *dihydroxyvitamin D* ($1,25(\text{OH})_2\text{D}$) telah terbukti mampu menginduksi apoptosis, sehingga menjadi kontributor penting dalam penekanan pertumbuhan yang berlebihan dari sel. Pada kanker payudara, $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ menginduksi apoptosis sel kanker melalui modulasi mekanisme timbal balik dari Bcl2 dan Bax. Hal ini meningkatkan kadar kalsium intraseluler yang akan mengaktifkan protease proapoptotik yang tergantung kalsium, microcalpain dan caspase 12.

1,25 *dihydroxyvitamin D* juga meningkatkan potensi proapoptotik dan antitumor dalam radiasi pengion pada kanker payudara, namun kebalikan yang ditemukan pada kulit, di mana $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ melindungi keratinosit dari apoptosis yang disebabkan oleh paparan sinar UV atau kemoterapi. Jadi hal paling penting yang

dapat diperoleh di sini adalah peran $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ sebagai agen proapoptotik sangat penting dalam mengendalikan pertumbuhan sel hiperplastik (Ford *et al.*, 2005).

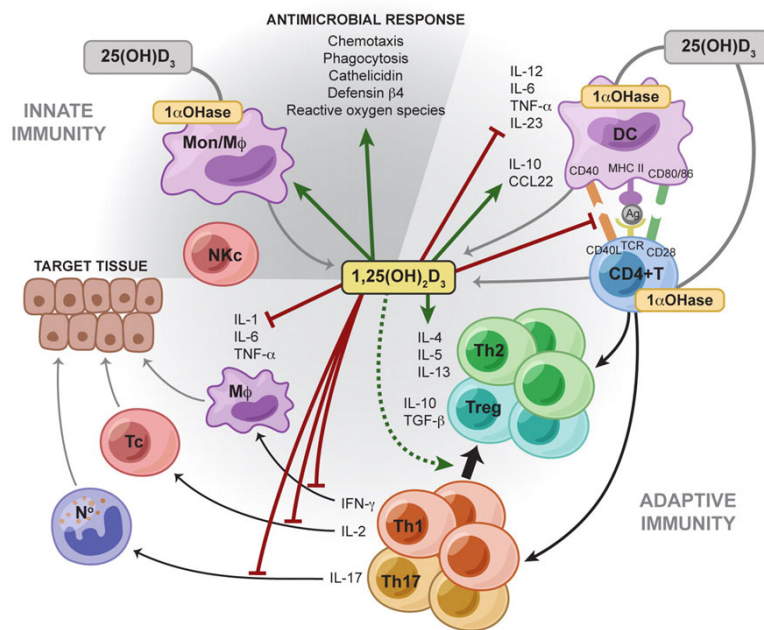
2.2.4.2.3 Modulasi Respon Imun

Efektivitas vitamin D sebagai bagian dari sistem endokrin terhadap infeksi, penyakit autoimun dan toleransi terhadap transplantasi adalah hasil dari efek prodiferensiasi $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ terhadap makrofag-monosit, APC, sel dendrit dan limfosit. Hal ini bisa dibuktikan secara *in vivo* pada manusia dan hewan yang memiliki fungsi VDR rendah dan atau vitamin D melalui model *in vitro* pada fungsi regulatif vitamin D pada sistem kekebalan tubuh. Berdasarkan penelitian berupa percobaan selama 8 minggu terhadap penderita DM 1 dewasa menunjukkan bahwa pemberian suplemen vitamin D 140.000 IU dapat meningkatkan kadar Treg pada subyek sehat. Penemuan ini mendukung hipotesis bahwa vitamin D dapat menstimulasi Treg dan menjadi dasar untuk mencegah penyakit autoimun (Ford *et al.*, 2005).

Produksi lokal dari $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ dipicu oleh makrofag yang diaktifkan oleh bakteri, mungkin memberikan penjelasan yang lebih baik tentang hubungan antara defisiensi vitamin D dan peningkatan infeksi karena mikobakteri. Penelitian terbaru telah membuktikan bahwa produksi $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ terkait dengan regulasi sitokin dalam makrofag. Interferon- γ adalah induktor kuat ekspresi gen 1α -hidroksilase yang menentukan produksi $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ (Mathieu, 2011).

Peran $1,25$ dihydroxyvitamin D ($1,25(\text{OH})_2\text{D}$) tidak hanya menginduksi fungsi makrofag sebagai antibakteri, tetapi juga bekerja secara sinergi dengan IFN- γ yang kerjanya diperantarai oleh Stat1. Interaksi antara kompleks $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ -VDR dan Stat1-IFN- γ mencegah deaktivasi Stat1 dan selanjutnya memperpanjang transaktivasi dari Stat1 dari gen yang mengkode IFN- γ ,

termasuk C/EBP β , dengan cara menyebabkan peningkatan signifikan fungsi imunitas makrofag. Kemampuan potensial kompleks 1,25(OH) $_2$ D-VDR dalam perlawanan terhadap infeksi mikobakteri *in vivo* bertentangan dengan data *in vitro* yang menemukan bahwa 1,25(OH) $_2$ D memiliki kemampuan supresif yang kuat terhadap sintesis IL-12 dan IFN- γ , serta respon Th-1 (Gambar 2.9) (Ford *et al.*, 2005).



Gambar 2.9 Efek imunomodulator dari 1,25-dihydroxyvitamin D3 (1,25 (OH) $_2$ D $_3$).

1,25(OH) $_2$ D $_3$ mempengaruhi berbagai macam fungsi sel imun baik yang terlibat dalam respon imun alami maupun respon imun adaptif. Seperti yang terlihat pada gambar, vitamin D mampu meningkatkan fungsi fagositosis, kemotaksis, *cathelicidin*, defensin β_4 , dan ROS. Vitamin D menekan produksi sitokin T helper (Th-1) (IL-2 dan interferon (IFN- γ)), merangsang produksi sitokin Th2 (IL-4, IL-5, IL-10) dan mendukung munculnya sel T regulator (Treg). Pada sel dendritik, 1,25(OH) $_2$ D $_3$ menyebabkan kerja penghambatan ekspresi molekul co-stimulasi permukaan dan sekresi IL-12. 25(OH)D $_3$: 25-hydroxyvitamin D $_3$; CD: cluster differentiation; TCR: T cell receptor; TGF: transforming growth factor

Dikutip dari: Ford *et al.*, 2005

Vitamin D menghambat produksi interleukin inflamasi IL-12, IL-2, interferon γ , tumor necrosis factor (TNF α) dan TNF- β , sedangkan produksi sitokin anti-inflamasi (IL-4, IL-10, TGF- β) ditingkatkan. Hal ini dapat mengganggu

produksi sel Th1 yang bersifat merusak sel beta pankreas terutama pada pasien diabetes melitus. Selain menghambat produksi IL-12 dari DC, vitamin D mampu menggeser diferensiasi sel T naif menjadi sel Th0 selanjutnya menjadi sel Th2 (IL-12 adalah sitokin penting yang mempromosikan pembentukan sel Th1 dari sel Th0). Modulasi langsung dari sel T CD4⁺ dengan vitamin D aktif, dan induksi sel Treg menggambarkan penghambatan IL-17, IL-21, IFN- γ , CTLA-4 dan FoxP3.

Jika sel-sel T yang tumbuh dalam lingkungan yang kaya IL-2 dan vitamin D, maka sel T akan mengekspresikan tingkat tertinggi CTLA-4 dan FoxP3 dan menekan proliferasi sel T CD4⁺. Pemberian 1,25 dihydroxyvitamin D3 mengarah pada pergeseran keseimbangan antara sel Th1 dan sel Th2, meningkatkan produksi IL-4 dan penurunan sekresi interferon γ (Gambar 2.9) (Chen *et al.*, 2007; Alemzadeh *et al.*, 2008).

2.2.5 Defisiensi Vitamin D pada Diabetes Melitus

Baru-baru ini telah banyak diteliti hubungan antara vitamin D dengan banyak penyakit autoimun termasuk DM tipe 1. Berbagai faktor yang mempengaruhi hubungan vitamin D dengan DM tipe 1 termasuk peran imunomodulator vitamin D terhadap kejadian insulinitis pankreas, letak suatu daerah terhadap garis lintang, genetik, dan polimorfisme VDR (Kassi *et al.*, 2013).

Faktor genetik yang dapat memengaruhi kadar vitamin D dalam tubuh juga berhubungan dengan terjadinya diabetes. *7-dehydrocholesterol reductase* (DHCR7) yang mengkode enzim reduktase 7-dehydrocholesterol, yang mengubah 7-dehydrocholesterol menjadi kolesterol, sebuah prekursor dari Vitamin D3, memainkan peran dalam produksi endogen Vitamin D (Kassi *et al.*, 2013).

Sintesis vitamin D dengan bantuan sinar matahari di kulit adalah sumber utama 25(OH)D dan metabolitnya di sirkulasi sehingga paparan sinar matahari sangat mempengaruhi kadar 25(OH)D dalam tubuh. Paparan sinar matahari sangat berhubungan dengan letak suatu daerah terhadap garis lintang bumi.

Banyak penelitian observasional menunjukkan peningkatan prevalensi DM tipe 1 di daerah lintang utara di mana paparan sinar matahari dalam jumlah yang sedikit. Pada berbagai penelitian di seluruh dunia tentang pola kejadian diabetes di 51 negara yang berbeda, sesuai dengan garis lintang dan *ultraviolet radiation* (UVR) matahari, menunjukkan tingkat kejadian diabetes lebih tinggi pada garis lintang yang lebih tinggi dan radiasi ultraviolet B yang lebih rendah (Kassi *et al.*, 2013).

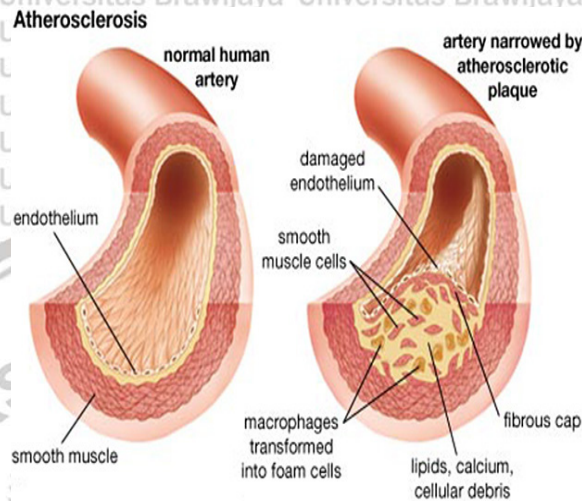
Reseptor Vitamin D banyak ditemukan dalam nukleus berbagai jaringan. Berbagai penelitian terbaru menunjukkan hubungan antara aksi insulin dan kadar serum vitamin D. Mekanisme langsung yaitu ketika ekspresi VDR mempengaruhi produksi lokal $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ dalam sel pankreas, atau secara tidak langsung melalui regulasi homeostasis kalsium melalui membran. Sebuah penelitian menunjukkan bahwa suplementasi vitamin D 300.000 IU intramuskular dosis tunggal dan kalsium 40 mg/kg/hari dibagi menjadi 2 dosis akan menurunkan nilai HbA1c untuk anak dengan diabetes tipe 1. Sebuah meta analisis menemukan bahwa serum 25(OH)D secara signifikan lebih rendah pada pasien dengan DM tipe 1 dibandingkan pada kontrol yang sehat (Feng *et al.*, 2015).

2.3 Aterosklerosis

2.3.1 Definisi Aterosklerosis

Aterosklerosis berasal dari bahasa Yunani '*athera*' yang berarti deposit lemak seperti bubur dan '*sclerosis*' yang berarti mengeras. Aterosklerosis adalah

proses patologis pada arteri yang berkembang selama bertahun-tahun ditandai plak aterosklerotik yang terbentuk di dinding pembuluh darah, terdiri dari inti nekrotik, daerah kalsifikasi, akumulasi lipid, *smooth muscle cells* (SMCs) yang peradangan, sel endotel, leukosit, dan sel *foam* (Gambar 2.10) (Mageed, 2018).



Gambar 2.10 Aterosklerosis pada Pembuluh Darah Arteri.

Aterosklerosis terdiri dari akumulasi lipid, SMC yang mengalami peradangan, sel endotel, leukosit dan sel *foam*.

Dikutip dari: Mageed, 2018

Aterosklerosis adalah penyakit progresif lambat yang dimulai pada masa anak-anak dan terus berlangsung selama periode waktu yang lama sebelum gejala klinis muncul. Pada aterogenesis, perubahan morfologis dinding arteri terjadi selama fase subklinis dan ditandai dengan penebalan bertahap dari intima. Aterosklerosis juga dapat terjadi pada pasien dengan diabetes melitus tipe 1 dimana berhubungan dengan disfungsi endotel pada penderita DMT1 sejak anak-anak. Dari berbagai penelitian, penebalan intima dan media pada arteri karotis dan plak meningkat pada anak-anak, remaja, dan orang dewasa dengan diabetes melitus tipe 1 dibandingkan dengan subyek kontrol sehat sesuai dengan usia dan jenis kelamin. Aterosklerosis sendiri merupakan tanda awal dan prediktor terjadinya *cardiovascular disease* (CVD) (Margeirsdottir *et al.*, 2010; Ferranti *et al.*, 2014; Mageed, 2018).

2.3.2 Faktor Risiko Aterosklerosis

Faktor risiko terjadinya aterosklerosis dibagi menjadi dua yaitu faktor risiko yang tidak bisa dimodifikasi dan faktor risiko yang bisa dimodifikasi. Faktor risiko yang tidak bisa dimodifikasi adalah faktor risiko yang tidak dapat dicegah, dirubah atau dikendalikan seperti usia, jenis kelamin, dan riwayat keluarga. Sedangkan faktor risiko yang bisa di modifikasi termasuk hipertensi, obesitas, merokok, pola makan, diabetes melitus, intoleransi glukosa, dan dislipidemia (Mageed, 2018).

Obesitas adalah prediktor penyakit arteri koroner baik sebagai faktor independen maupun sebagai progenitor proses aterogenik dari sindrom metabolik. Obesitas dihubungkan dengan peningkatan stres oksidatif dan efek proinflamasi sitokin tertentu. Interleukin-6 diproduksi di adiposit dan meningkatnya massa adiposit akan menyebabkan peningkatan produksi IL-6. Kadar IL-6 yang tinggi akan merangsang produksi protein C-reaktif di hati dan menyebabkan disfungsi endotel dengan mengurangi nitrit oksida (NO) sehingga menyebabkan vasokonstriksi dan meningkatkan resistensi vaskular. Hal ini menunjukkan bahwa obesitas pada remaja dan dewasa muda akan mempercepat terjadinya aterosklerosis sebelum timbulnya gejala klinis (Mageed, 2018).

Kadar LDL yang tinggi dalam darah merupakan penyebab utama cedera arteri dan SMC pembuluh darah. Kadar LDL yang tinggi pada endotel pembuluh darah menyebabkan leukosit akan mudah melekat pada endotel dan menyebabkan akumulasi lipid sehingga menghasilkan sel *foam*. Abnormalitas dalam mekanisme pengaturan reseptor LDL dan diet berlemak dapat menyebabkan hiperkolesterolemia yang dapat menyebabkan aterosklerosis. *High density lipoprotein* (HDL) atau kolesterol "baik" akan menghambat oksidasi LDL dan menghambat efek proinflamasi LDL yang teroksidasi (ox-LDL). HDL

memberikan perlindungan terhadap aterosklerosis dengan meningkatkan aktivitas enzim antioksidan seperti faktor aktivasi trombosit, asetil hidrolase dan paraoksonase (Mageed, 2018).

Aktivitas fisik juga penentu utama pengeluaran energi dan penting untuk keseimbangan energi serta kontrol berat badan. Aktivitas fisik akan meningkatkan fungsi endotel, yang meningkatkan vasodilatasi dan fungsi vasomotor di pembuluh darah. Selain itu, aktivitas fisik juga berkontribusi pada kontrol glikemik, peningkatan tekanan darah, profil lipid dan sensitivitas insulin (Mageed, 2018).

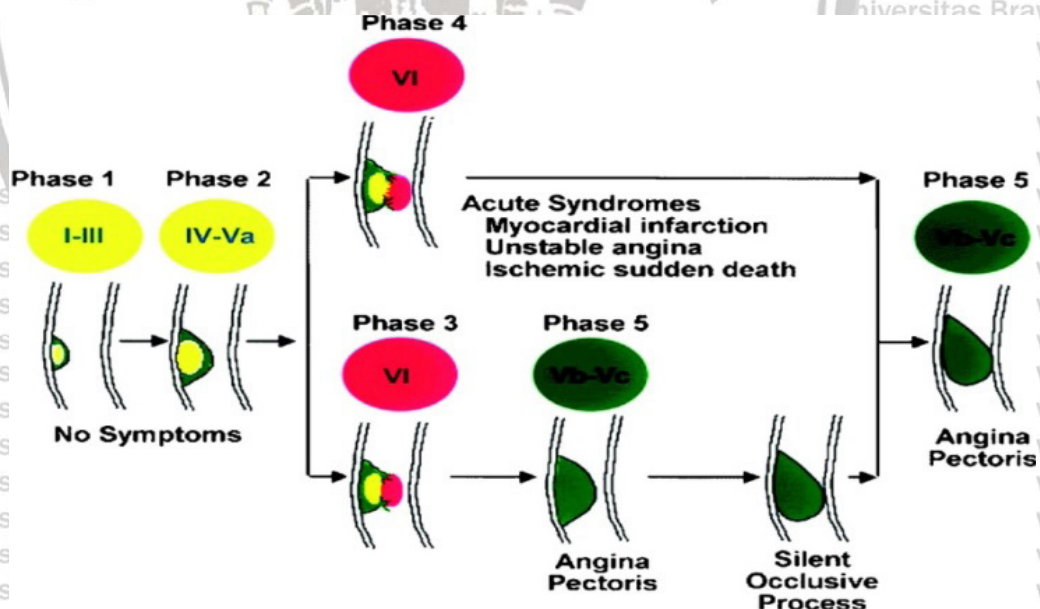
2.3.3 Patogenesis Aterosklerosis

Aterosklerosis pertama kali dikenalkan oleh ahli patologi Felix Marchand pada tahun 1904 yang menggambarkan degenerasi lemak dan pengerasan pembuluh darah. Proses ini mengenai arteri yang ditandai dengan penebalan intramural subintima pada lumen arteri. Setiap pembuluh darah dapat terdampak oleh proses ini dan gejala klinis dari aterosklerosis bervariasi diantara setiap pembuluh darah. Lesi aterosklerosis yang terlihat paling awal adalah lapisan lemak yang merupakan akumulasi dari sel *foam* dengan lipid di lapisan intima arteri. Seiring dengan bertambahnya waktu, lapisan lemak akan menjadi plak fibrosa sebagai suatu tanda khas aterosklerosis. Selanjutnya lesi akan mengandung sejumlah besar lipid dan jika lesi tidak stabil akan terjadi denudasi endotel atau ruptur plak dan dapat menyebabkan oklusi trombotik pada arteri (Mageed, 2018).

Lesi aterosklerotik (*atheromata*) terdiri dari tiga komponen utama. Yang pertama adalah komponen seluler yang terdiri dari sel otot polos dan makrofag. Komponen kedua adalah matriks jaringan ikat dan lipid ekstraseluler dan komponen ketiga adalah akumulasi lipid intraseluler bersama makrofag yang

akan berubah menjadi sel *foam*. Lesi aterosklerotik berkembang karena adanya rangsangan inflamasi, pelepasan berbagai sitokin, proliferasi sel otot polos, sintesis matriks jaringan ikat dan akumulasi makrofag dan lipid (Mageed, 2018).

Adanya *reactive oxygen species* (ROS) yang berlebihan merupakan hal yang penting pada proses aterogenesis. Setiap pembuluh darah yang mengalami aterosklerotik telah terbukti mengalami peningkatan produksi ROS terutama anion superoksida. Sumber penting ROS adalah sel otot polos pembuluh darah, sel endotel, fibroblas, dan infiltrasi leukosit. Produksi ROS akan mempengaruhi transkripsi gen, merusak DNA, dan meningkatkan produksi faktor transkripsi inflamasi. Hal ini akan mengakibatkan oksidasi LDL dan pengambilan NO. Perkembangan aterosklerotik dimulai dari lesi awal (fase 1) ke lesi fibrolipid (fase 2). Pembentukan trombus atau hematoma dapat berlanjut ke fase akut (fase 3 dan 4) atau bahkan hingga oklusi total (fase 5) (Gambar 2.11) (Mageed, 2018).



Gambar 2.11 Perkembangan Lesi Aterosklerosis.

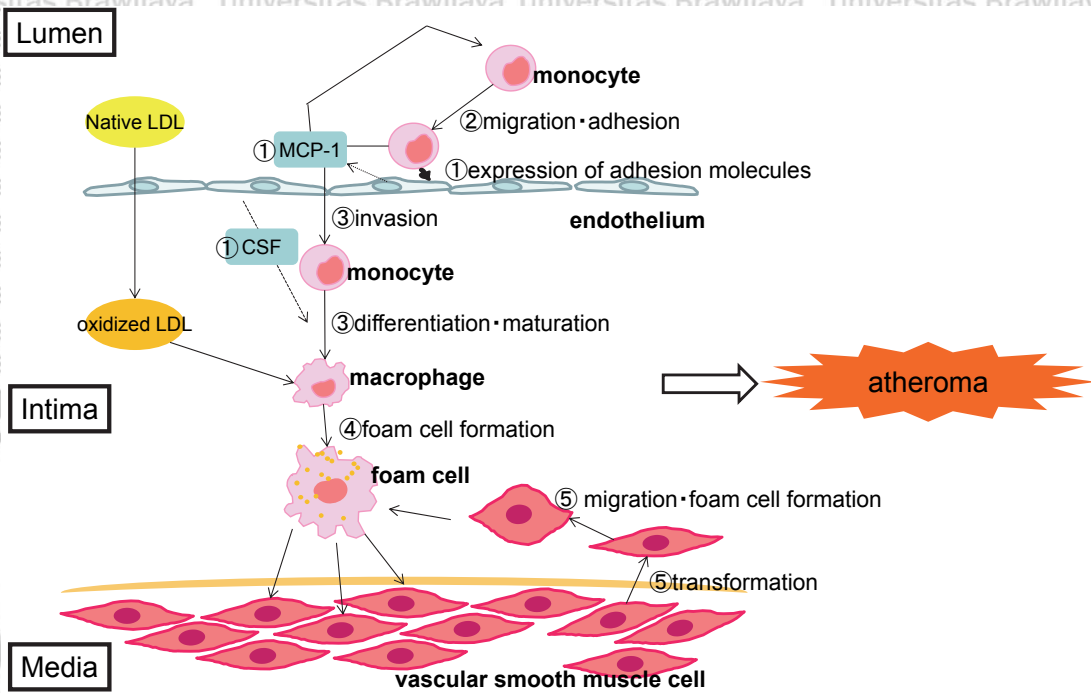
Perkembangan aterosklerotik dimulai dari lesi awal (fase 1) ke lesi fibrolipid (fase 2). Pembentukan trombus atau hematoma dapat berlanjut ke fase akut (fase 3 dan 4) atau bahkan hingga oklusi total (fase 5).

Dikutip dari: Mageed, 2018

Pembentukan lesi aterosklerotik dipicu oleh inflamasi lokal di dinding pembuluh darah yang disebabkan oleh dislipidemia, khususnya kadar kolesterol LDL yang tinggi dan kadar lipoprotein sisa yang tinggi, serta berbagai faktor penyakit lainnya. Proses terjadinya aterosklerosis sebagai berikut: 1) sel endotel pembuluh darah yang mengalami cedera karena stres oksidatif atau faktor lain akan mengekspresikan molekul adhesi dan melepaskan sitokin dan kemokin; 2) kemokin akan menarik monosit dari sirkulasi darah ke daerah yang mengalami cedera dan monosit akan menempel pada endotel melalui interaksi dengan molekul adhesi; 3) monosit akan menembus ruang subendotelial, berdiferensiasi, dan mengalami maturisasi menjadi makrofag yang melepaskan sitokin. Saat kadar kolesterol LDL tinggi, kolesterol LDL akan menginfiltrasi ruang subendotelial dan di dalam intima akan teroksidasi atau mengalami modifikasi; 4) makrofag dan akumulasi kolesterol LDL yang telah teroksidasi akan menyebabkan pembentukan sel *foam* dan aterogenesis; 5) lipid yang teroksidasi akan memicu sekresi berbagai *growth factor* oleh endotelium. *Smooth muscle cells* pembuluh darah bagian media akan bertransformasi dan bermigrasi ke daerah intima dan akan mengalami proliferasi dan memproduksi matriks ekstraseluler. SMC pembuluh darah yang telah bertransformasi ini bersama kolesterol LDL teroksidasi akan membentuk sel *foam* membentuk aterogenesis; 6) selain itu, proliferasi SMC pembuluh darah dan peningkatan matriks ekstraseluler dapat menyebabkan penebalan intimal dan sklerosis (Katakami, 2018).

Lesi aterosklerotik terbentuk melalui interaksi kompleks berbagai faktor, dan kondisi pasien DM mempercepat semua interaksi ini. Telah diketahui bahwa kadar kolesterol LDL pada pasien DM adalah tinggi. Partikel kolesterol LDL sangat aterogenik saat berada di darah karena kadarnya yang lebih tinggi, hal ini disebabkan karena pada pasien DM memiliki afinitas yang lebih rendah terhadap

reseptor LDL sehingga memiliki kecenderungan yang lebih besar untuk berpindah ke ruang subendotel karena ukurannya yang kecil dan lebih mungkin teroksidasi atau sebaliknya terdegradasi karena kandungan antioksidan yang rendah (Gambar 2.12) (Katakami, 2018).



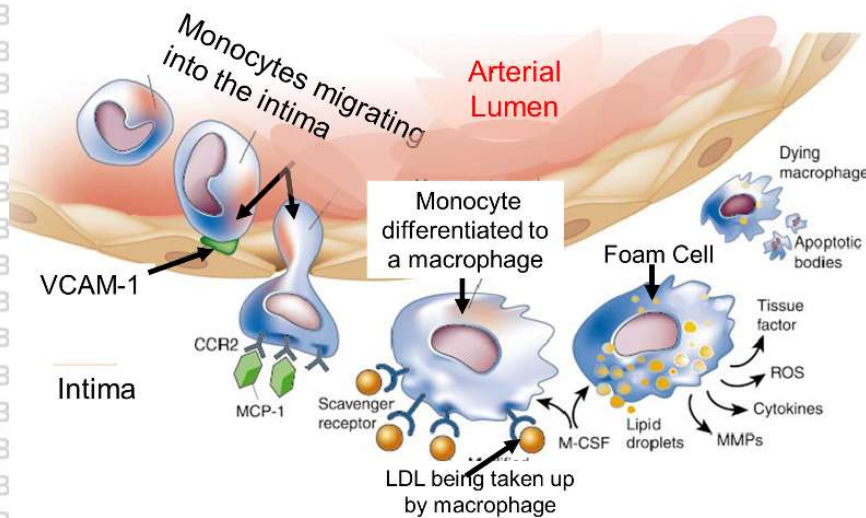
Gambar 2.12 Proses Pembentukan Lesi Aterosklerotik.

Proses terjadinya aterosklerosis sebagai berikut: 1) sel endotel pembuluh darah yang mengalami cedera karena stres oksidatif atau faktor lain akan mengekspresikan molekul adhesi dan melepaskan sitokin dan kemokin; 2) kemokin akan menarik monosit dari sirkulasi darah ke daerah yang mengalami cedera dan monosit akan menempel pada endotel melalui interaksi dengan molekul adhesi; 3) monosit akan menembus ruang subendotelial, berdiferensiasi, dan mengalami maturisasi menjadi makrofag yang melepaskan sitokin. Saat kadar kolesterol LDL tinggi, kolesterol LDL akan menginfiltrasi ruang subendotelial dan di dalam intima akan teroksidasi atau mengalami modifikasi; 4) makrofag dan akumulasi kolesterol LDL yang telah teroksidasi akan menyebabkan pembentukan sel *foam* dan aterogenesis; 5) lipid yang teroksidasi akan memicu sekresi berbagai *growth factor* oleh endotelium. *Smooth muscle cells* pembuluh darah bagian media akan bertransformasi dan bermigrasi ke daerah intima dan akan mengalami proliferasi dan memproduksi matriks ekstraseluler. SMC pembuluh darah yang telah bertransformasi ini bersama kolesterol LDL teroksidasi akan membentuk sel *foam* membentuk aterogenesis; 6) selain itu, proliferasi SMC pembuluh darah dan peningkatan matriks ekstraseluler dapat menyebabkan penebalan intimal dan sklerosis. LDL: *low density lipoprotein*; MCP-1: *monocyte chemoattractant protein-1*; CSF: *colony stimulating factor*

Dikutip dari: Katakami, 2018

Keadaan metabolik pada diabetes beresiko tinggi menyebabkan disfungsi arteri. Keadaan metabolik yang mempengaruhi termasuk hiperglikemia kronis, dislipidemia, dan resistensi insulin. Faktor-faktor ini menyebabkan arteri rentan terhadap aterosklerosis. Diabetes akan mengubah fungsi beberapa jenis sel, termasuk endotel, sel otot polos, dan trombosit sehingga dapat menimbulkan gangguan pembuluh darah. Lapisan sel endotel pada permukaan bagian dalam di semua pembuluh darah merupakan bagian yang penting dalam metabolisme antara darah dan jaringan sehingga mempengaruhi aliran darah, pengiriman nutrisi, koagulasi dan trombosis, serta diapedesis leukosit. Berbagai proses tersebut mensintesis berbagai zat penting, termasuk nitrit oksida dan ROS, prostaglandin, endothelin, dan angiotensin II yang berperan dalam mengatur fungsi dan struktur pembuluh darah (Beckman *et al.*, 2002).

Nitrit oksida berperan dalam dilatasi pembuluh darah dan mengontrol endotel serta relaksasi pembuluh darah. Selain itu nitrit oksida juga menghambat aktivasi trombosit, menghambat inflamasi dengan mengurangi adhesi leukosit ke endotelium dan migrasi ke dinding pembuluh darah, serta mengurangi proliferasi dan migrasi sel otot polos pembuluh darah. Secara bersama-sama hal ini akan menghambat atherogenesis dan melindungi pembuluh darah (Gambar 2.13) (Beckman *et al.*, 2002).



Gambar 2.13 Proses Seluler Aterosklerosis.

Dalam kondisi normal, leukosit dalam darah tidak melekat pada sel endotel pembuluh darah. Namun, cedera pada sel endotel akan memicu respons inflamasi sehingga sel endotel akan memproduksi molekul adhesi pada permukaan sel seperti VCAM-1 yang menyebabkan monosit dan limfosit T melekat pada endotel. Monosit dan limfosit T yang ada di sirkulasi tertarik ke lokasi cedera oleh sitokin kemoatraktan (kemokin). Sel endotel juga berubah bentuk, *tight junction* diantara sel-sel endotel longgar, sehingga meningkatkan permeabilitas terhadap cairan, lipid, dan leukosit. Partikel lipoprotein terutama LDL akan memasuki dinding arteri dan mengalami oksidasi. Oksidasi LDL di dinding arteri terjadi sebagai akibat paparannya terhadap NO, makrofag, dan beberapa enzim seperti lipoksigenase. Setelah mereka bermigrasi ke intima, monosit berdiferensiasi menjadi makrofag dan mulai mengambil LDL yang teroksidasi yang telah masuk ke intima. Makrofag yang mengandung lipid disebut sebagai sel *foam*. Akhirnya, sel *foam* akan mengalami apoptosis dan mati, tetapi lipid akan menumpuk di intima. Dikutip dari: Libby, 2002.

2.3.4 Pemeriksaan Aterosklerosis

Ada beberapa cara untuk mendeteksi aterosklerosis sebelum timbul gejala yaitu dengan metode pengukuran fungsi fisiologis, metode deteksi anatomi dan pemeriksaan darah dengan mengukur kadar endocan. Metode pengukuran fisiologis berhubungan dengan deteksi sindrom metabolik yaitu dengan pengukuran lingkaran perut, tinggi badan, berat badan, BMI berkala setiap tahun, pemeriksaan tekanan darah, glukosa darah, HbA1c, kadar kolesterol, protein C-reaktif (Kakadiya, 2009; Shepard & Steinberger, 2015).

Sedangkan deteksi aterosklerosis dengan metode anatomi ada dua cara yaitu invasif dan non invasif. Pemeriksaan invasif terdiri dari angiografi koroner,

intravascular ultrasonography (IVUS), dan *optical coherence tomography* (OCT).

Angiografi koroner merupakan pemeriksaan invasif untuk menilai arteri koroner dengan cara injeksi kontras beryodium melalui kateter yang ditempatkan di ostium koroner. Kontras akan terlihat melalui pemeriksaan X-ray fluoroskopi jantung. Pemeriksaan ini hanya menggambarkan ruang pembuluh darah yang dilewati oleh darah tetapi tidak dapat menunjukkan kedalaman infiltrasi plak aterosklerosis (Ibanez *et al.*, 2009).

Sedangkan *intravascular ultrasonography* (IVUS) adalah pemeriksaan dengan menggunakan kateter pembuluh darah yang menggambarkan ukuran lumen arteri koroner sehingga memberikan gambaran ketebalan dinding arteri. Pemeriksaan IVUS merupakan "*gold standart*" untuk mengetahui anatomi dinding pembuluh darah. Sedangkan *optical coherence tomography* (OCT) adalah teknologi baru dengan menggunakan kateter yang menghasilkan resolusi tinggi dengan menggunakan inframerah. Kekurangan pemeriksaan dengan menggunakan alat ini karena invasif pada jaringan (Ibanez *et al.*, 2009).

Pemeriksaan aterosklerosis yang non invasif terdiri dari ultrasonografi, CT scan dan MRI. Pemeriksaan dengan *computed tomography* (CT) konvensional pada pembuluh darah koroner akan menunjukkan plak kalsifikasi sebagai gambaran yang cerah dengan sinyal yang kuat sedangkan plak yang kaya lipid ditunjukkan dengan gambaran yang gelap pada dinding pembuluh darah. Kelemahan dari CT ini adalah dosis radiasi yang relatif tinggi (Ibanez *et al.*, 2009; Kakadiya, 2009).

Pemeriksaan non invasif lainnya adalah dengan MRI dan metode *scintigraphic*. MRI merupakan teknologi untuk memperoleh informasi tentang struktur dan komposisi dinding pembuluh darah dengan menggunakan gerakan proton bermuatan positif sehingga menghasilkan sinyal magnetik. Sedangkan metode *scintigraphic* tergantung pada pemberian isotop radionuklida pada

jaringan target. Kelemahan pemeriksaan ini adalah membutuhkan biaya yang mahal dan menimbulkan radiasi (Ibanez *et al.*, 2009).

2.3.4.1 Carotid Intima Media Thickness (CIMT)

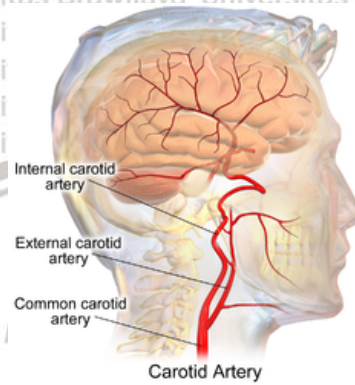
Pemeriksaan ultrasonografi (USG) dengan transduser frekuensi tinggi menghasilkan resolusi yang diperlukan untuk mengukur ketebalan intima dan media (*intima-media thickness/IMT*) dinding arteri yang dapat menggambarkan adanya plak aterosklerotik. Keterbatasan ultrasonografi ini adalah kedalaman penetrasi ke dalam tubuh masih terbatas sehingga pemeriksaan ini terbatas pada pembuluh darah yang dekat dengan kulit. Dengan demikian, ultrasonografi digunakan terutama untuk mengevaluasi adanya plak aterosklerotik dalam arteri karotis. Saat ini, para klinisi telah menggunakan USG karotis sebagai alat skrining untuk mengetahui risiko penyakit koroner (Ibanez *et al.*, 2009).

Pengukuran ketebalan intima-media/*intima-media thickness* (IMT) pada arteri besar terutama arteri karotis merupakan metode pilihan untuk menentukan tingkat kerusakan anatomi dinding arteri serta untuk menilai risiko adanya penyakit kardiovaskular. Beberapa peneliti telah merekomendasikan penggunaan pemeriksaan ini untuk mendeteksi aterosklerosis subklinis (asimptomatik).

Pemeriksaan ini telah direkomendasikan oleh *American heart association* (AHA) sebagai pemeriksaan non invasif untuk mendeteksi aterosklerosis (Margeirsdottir *et al.*, 2010; Sherief *et al.*, 2017).

Penelitian yang dilakukan oleh Sachs (2013) untuk mendeteksi aterosklerosis melalui pengukuran *intima-media thickness* (IMT) pada arteri karotis interna dan komunis pada 2 waktu yang berbeda yaitu setelah 4 dan 10 tahun setelah diagnosis dengan ultrasonografi B-mode. Pengukuran ini dengan pandangan lateral longitudinal pada 10 mm distal arteri karotis komunis kanan dan kiri dan pandangan longitudinal di masing-masing arteri karotis interna

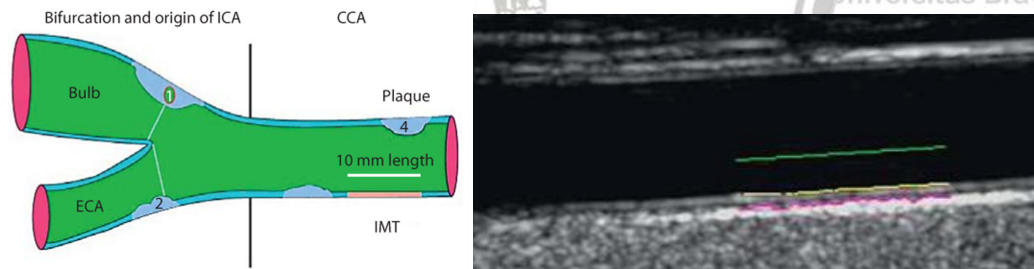
(gambar 2.15). Arteri karotis komunis dan percabangan karotis merupakan daerah yang diperiksa untuk deteksi plak aterosklerotik, karena merupakan daerah pembuluh darah yang menonjol dan > 50% dari bagian yang berdekatan lapisan media intima (Gambar 2.14) (Margeirsdottir *et al.*, 2010; Sachs *et al.*, 2013)



Gambar 2.14 Anatomi Arteri Karotis.

Arteri karotis komunis terletak di leher kiri dan kanan. Arteri ini terbagi menjadi arteri karotis eksternal dan internal di batas atas tulang rawan tiroid, di sekitar tingkat vertebra serviks keempat.

Dikutip dari: Ashrafian, 2007.



Gambar 2.15 Pemeriksaan CIMT Arteri Karotis.

Gambar kiri menunjukkan tempat pemeriksaan CIMT; Plak adalah jika pengukuran pada daerah nomer 1) ketebalan > 1,5 mm; 2) menonjol pada lumen > 0,5 mm; 3) 4) > 50% dari nilai CIMT. Gambar kanan menunjukkan CIMT diukur sebagai jarak antara antara intima (garis kuning) dan media (garis merah muda).

Dikutip dari: Touboul *et al.*, 2012; Simova, 2015

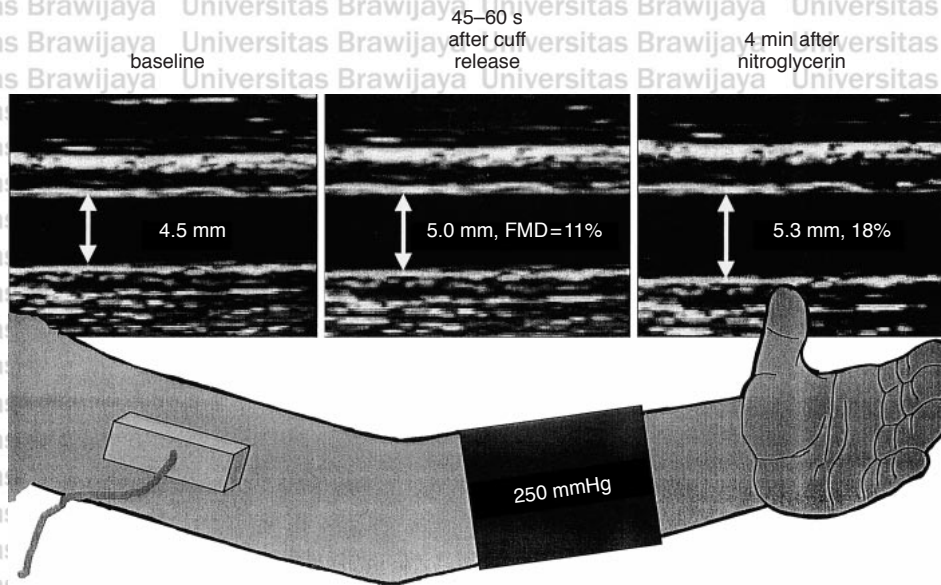
2.3.4.2 Flow-Mediated Dilatation (FMD) Arteri Brakialis

Flow-mediated dilatation (FMD) adalah pengukuran disfungsi endotel secara tidak langsung. Teknik ini telah banyak digunakan pada anak-anak

dengan diabetes tipe 1 untuk mengukur perubahan vaskular yang berhubungan dengan aterosklerosis subklinis dan memprediksi risiko penyakit kardiovaskular. Pengukuran FMD pada arteri brakialis pada prinsipnya adalah untuk mengukur diameter arteri brakialis dengan cara lengan kanan anak diposisikan secara rileks dan supine sehingga pemeriksaan ultrasonografi dilakukan pada arteri brakialis 5-10 cm di atas fossa antekubiti. Inflasi manset pada tekanan suprasistolik (40-50 mmHg di atas tekanan sistolik) kemudian dioklusi selama 5 menit lalu manset dengan cepat dikempiskan sehingga terjadi aliran darah dengan cepat. Diameter arteri diukur sampai 5 menit setelah manset dikempiskan dan ditentukan diameter yang tertinggi (Gambar 2.17) (Atwa *et al.*, 2018).

Pemeriksaan non invasif untuk mengetahui fungsi endotel saat ini telah berkembang. Pemeriksaan ultrasonografi yang mengukur perubahan aliran darah berdasarkan diameter arteri di arteri superfisial seperti pembuluh darah brakialis, radialis dan femoralis. Teknik ini mengukur fungsi endotel di saluran arteri dibandingkan dengan resistensi pembuluh darah. Perubahan diameter saluran arteri menyebabkan perubahan aliran darah. Sedangkan perubahan diameter saluran arteri disebabkan oleh *shear stress* atau tegangan geser yang diinduksi oleh mediator vasoaktif endotel. Karena respon dilatasi arteri terhadap tegangan geser dapat dihambat oleh *nitric oxide synthase inhibitor*, maka dapat disimpulkan bahwa fenomena ini disebabkan oleh pelepasan *nitric oxide* endotel.

Korelasi antara FMD dan fungsi endotel yang diinduksi agonis pada pembuluh darah mikro belum pernah dipublikasikan. Meskipun belum direkomendasikan untuk pemeriksaan rutin, uji fungsi endotel non invasif ini telah memberikan wawasan berharga terhadap perubahan vaskular yang terkait dengan aterosclerosis dini dan reversibilitas penyakit arteri (Raitakari & Celermajer, 2000; Atwa *et al.*, 2018).



Gambar 2.16 Flow Mediated Vasodilatation (FMD).

Diameter arteri brakialis diukur selama tiga kondisi; *baseline* (setelah istirahat supine 10 menit), selama hiperemia reaktif (diinduksi dengan cara manset spigmomanometer di lengan bawah diinflasi sampai 250 mmHg dan kemudian dilakukan deflasi) dan setelah pemberian nitroglicerine sublingual. Ultrasonografi resolusi tinggi dengan transduser linier menggunakan B-mode pada pembuluh darah di proksimal manset lengan bawah. FMD = *flow-mediated dilatation*.

Dikutip dari: Raitakari & Celermajer, 2000.

Beberapa hal yang perlu diperhatikan sebelum pengukuran FMD yaitu:

suplementasi vitamin C dan E harus pantang hingga 72 jam sebelum pemeriksaan, menghentikan obat-obatan beta bloker, nitrat, *calcium channel bloker*, NSAID dan aspirin 1-3 hari sebelum pemeriksaan, tidak merokok atau terkena paparan rokok dan mengkonsumsi kafein 12 jam sebelum pemeriksaan, sebaiknya untuk wanita dilakukan saat hari 1-7 menstruasi, direkomendasikan untuk puasa atau makan makanan rendah lemak sebelum pemeriksaan, posisi terlentang, semi terlentang atau duduk minimal 20 menit di ruang yang tenang, dengan suhu ruangan 22-24°C serta menghindari stres.

Pengukuran FMD dilakukan dengan cara menggunakan rumus:

$$\text{FMD\%} = \frac{(\text{diameter puncak} - \text{diameter dasar})}{\text{diameter dasar}}$$

Diameter dasar merupakan diameter arteri sebelum dilakukan stimulasi berupa inflasi manset spigmomanometer. Sedangkan diameter puncak adalah diameter paling besar setelah terjadi hiperemia reaktif atau setelah manset dikempiskan secara mendadak sebelum kembali ke diameter dasar, diukur sampai menit ke 5 setelah hiperemia reaktif (Harris *et al.*, 2010).

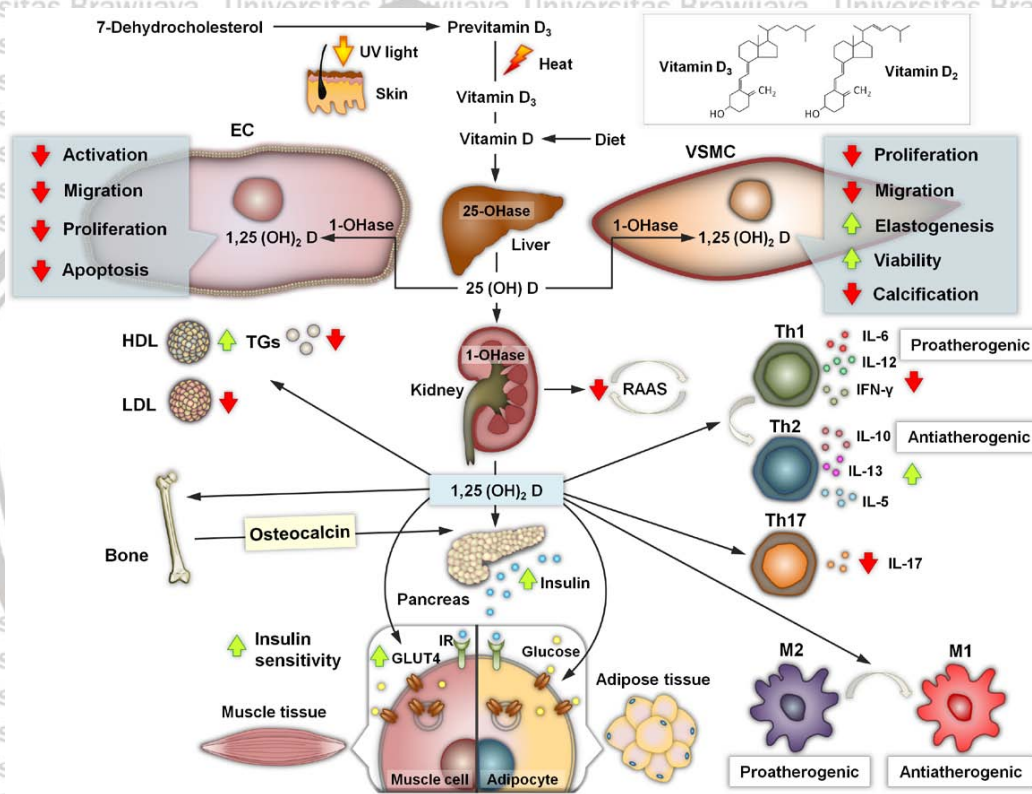
2.3.5 Aterosklerosis pada Diabetes Melitus Tipe 1

Aterosklerosis prematur merupakan penyebab morbiditas dan mortalitas pada diabetes tipe 1. Berbagai penelitian menunjukkan bahwa gangguan metabolisme vitamin D pada diabetes melitus tipe 1 dapat mencetuskan aterosklerosis. Pada model percobaan hewan, insufisiensi $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ (bentuk vitamin D aktif) akan merangsang sistem renin angiotensin sehingga akan mencetuskan kerusakan vaskular melalui efek hemodinamik dan metabolik serta memodulasi fungsi sel imun di dinding arteri. Konsentrasi $25(\text{OH})\text{D}$ yang rendah dalam sirkulasi dihubungkan dengan peningkatan risiko *coronary artery calcium* (CAC), kejadian penyakit kardiovaskular, dan kematian pada populasi dengan dan tanpa diabetes, dimana konsentrasi $25(\text{OH})\text{D}$ menunjukkan asupan vitamin D oral dan sintesis kulit (Sachs *et al.*, 2013).

Selain itu penelitian lain menunjukkan bahwa konsentrasi $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ di sirkulasi yang rendah dihubungkan dengan peningkatan risiko CAC. Variasi genetik dalam CYP24A1, enzim utama yang bertanggung jawab untuk katabolisme $25(\text{OH})\text{D}$ menjadi $24,25$ -dihydroxyvitamin D_3 [$24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$] dan $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ menjadi $1,24,25$ -trihydroxyvitamin D, telah dihubungkan dengan risiko terjadinya CAC (Sachs *et al.*, 2013).

Sel endotel merupakan komponen utama dinding pembuluh darah pada proses aterosgenik. Berbagai penelitian mengungkapkan bahwa sel endotel mengekspresikan VDR dan memiliki kemampuan untuk mensintesis kalsitriol ($1\alpha,$

25(OH)₂D₃) karena mereka mengekspresikan 1 α -hidroksilase. Vitamin D memberikan efek perlindungan pada aktivasi/difungsi endotel, suatu proses inflamasi yang mendahului aterosklerosis, melalui beberapa mekanisme baik genomik maupun non genomik. Di antara perubahan utama yang berkaitan dengan disfungsi endotel adalah berkurangnya ketersediaan nitrit oksida (NO) dan peningkatan produksi *reactive oxygen species* (ROS) (Kassi *et al.*, 2013).



Gambar 2.17. Gambaran Hubungan Metabolisme Vitamin D dalam Sel dan Jaringan dengan Proses Aterogenik.

EC: sel endotel; Glut-4: transporter glukosa 4; HDL, lipoprotein densitas tinggi; IL, interleukin; IR, reseptor insulin; LDL, lipoprotein densitas rendah; M1, makrofag/monosit 1; M2, makrofag/monosit 2; RAAS, sistem renin-angiotensin-aldosteron; TG, trigliserida; Th, T helper; dan VSMC, sel otot polos pembuluh darah.

Dikutip dari: Kassi *et al.*, 2013

Kekurangan vitamin D telah dilaporkan memberikan efek negatif pada fungsi sel β dan sensitivitas insulin. Meskipun mekanisme pasti untuk peran patogenik seperti itu belum sepenuhnya ditetapkan, ditemukan bahwa daerah

promotor gen insulin mengandung unsur-unsur yang responsif vitamin D. Selain itu, sekresi insulin adalah proses yang bergantung pada kalsium, dan vitamin D diketahui mengatur fluks kalsium dan kolom kalsium sitosol intraseluler pada sel β pankreas. Menariknya, sel beta pankreas mengekspresikan 1 α -hidroksilase dan 24-hidroksilase, menunjukkan kemungkinan hubungan autokrin antara vitamin D dan fungsi pankreas (Gambar 2.18) (Kassi *et al.*, 2013).

Efek vitamin D terhadap resistensi insulin berhubungan dengan disfungsi endotel dan peningkatan ketebalan intima-media karotis. VDR diekspresikan di jaringan dan otot rangka sedangkan jaringan mempunyai peran dalam sensitivitas insulin perifer. Adiposit juga mengekspresikan gen CYP27B1 (1 α -hidroksilase). Vitamin D secara langsung akan mengaktifkan faktor transkripsi peroksisom yang terlibat dalam pengaturan metabolisme asam lemak dalam otot dan jaringan adiposa. Selain itu, vitamin D berkontribusi untuk normalisasi kalsium ekstra seluler, memastikan masuknya kalsium melalui membran sel dan mengatur proses intraseluler yang dimediasi insulin seperti fosforilasi reseptor insulin dan translokasi glukosa transporter-4. Osteocalcin juga diinduksi oleh 1 α , 25(OH) $_2$ D $_3$ dalam osteoblas, telah diidentifikasi sebagai hormon yang disekresikan tulang yang keduanya meningkatkan pelepasan insulin dari sel β dan meningkatkan respon metabolik insulin (Kassi *et al.*, 2013).

Defisiensi vitamin D juga akan menurunkan aktivitas sistem sistem renin-angiotensin, sehingga akan menginduksi disfungsi sel β . Semakin banyak bukti yang mendukung bahwa vitamin D adalah penekan endokrin dari RAAS.

Penelitian *in vitro* menggunakan model sel juxtaglomerular menunjukkan bahwa vitamin D menekan ekspresi gen renin melalui elemen responsif vitamin D pada promotor gen renin dan ekspresi gen angiotensinogen dengan menghambat jalur NF- κ B. Vitamin D baik langsung atau tidak langsung, memiliki berbagai efek yang menguntungkan pada fungsi dan patologi sel dan jaringan yang terlibat dalam

proses atherogenik dan berperan dalam merespon gangguan yang berhubungan dengan disfungsi dinding vaskular seperti aterosklerosis (Kassi *et al.*, 2013).

Respon imun didapat dan adaptif terlibat dalam proses atherogenik.

Beberapa bagian dari sel T seperti sel naif, Th1, Th2, sel Treg, Th17, dan sel B,

bersama dengan leukosit dan monosit yang telah bertransformasi akan

memberentuk lesi aterosklerotik. Subtipe Th1 terutama menggerakkan respon

inflamasi pada proses atherogenesis dengan memproduksi sitokin seperti

interferon- γ , TNF- α , IL-6, dan IL-12, yang dikenal sebagai proatherogenik.

Sedangkan Th2 akan menetralkan Th1 dengan mengeluarkan sitokin

antiatherogenik seperti IL-5, IL-10, dan IL-13. Hal ini ditunjukkan dengan

1,25(OH)D akan menggeser respon imun Th1 menuju Th2, sehingga mendorong

terjadinya respon imun antiatherogenik (Kassi *et al.*, 2013).

Peran pasti dari IL-17 dan sel penghasilnya belum sepenuhnya diketahui,

penelitian terbaru menunjukkan bahwa adanya sel-sel IL-17A⁺ dalam lesi

aterosklerosis, menunjukkan adanya peran potensial dalam aterosklerosis.

Pengobatan sel T in vitro dengan 1 α , 25(OH)D akan menekan perkembangan

Th17 dan menghambat produksi IL-17 melalui mekanisme post transkripsi (Kassi

et al., 2013).

Vitamin D dibawa oleh partikel lipoprotein densitas rendah dan

diinternalisasi oleh berbagai sel, termasuk monosit, melalui reseptor lipoprotein

densitas rendah baik dalam bentuk aktifnya atau 25(OH)D. Setelah monosit

bermigrasi secara transendotel dan ditransformasikan menjadi sel foam,

25(OH)D akan terakumulasi dalam ruang subendotelial atau dalam plak

aterosklerotik dan dapat dikonversi ke bentuk aktifnya dengan 1 α -hidroksilase,

yang diekspresikan oleh sel yang berasal dari monosit. Pada gilirannya,

1,25(OH)D dapat mengubah ekspresi gen makrofag, memengaruhi ekspresi

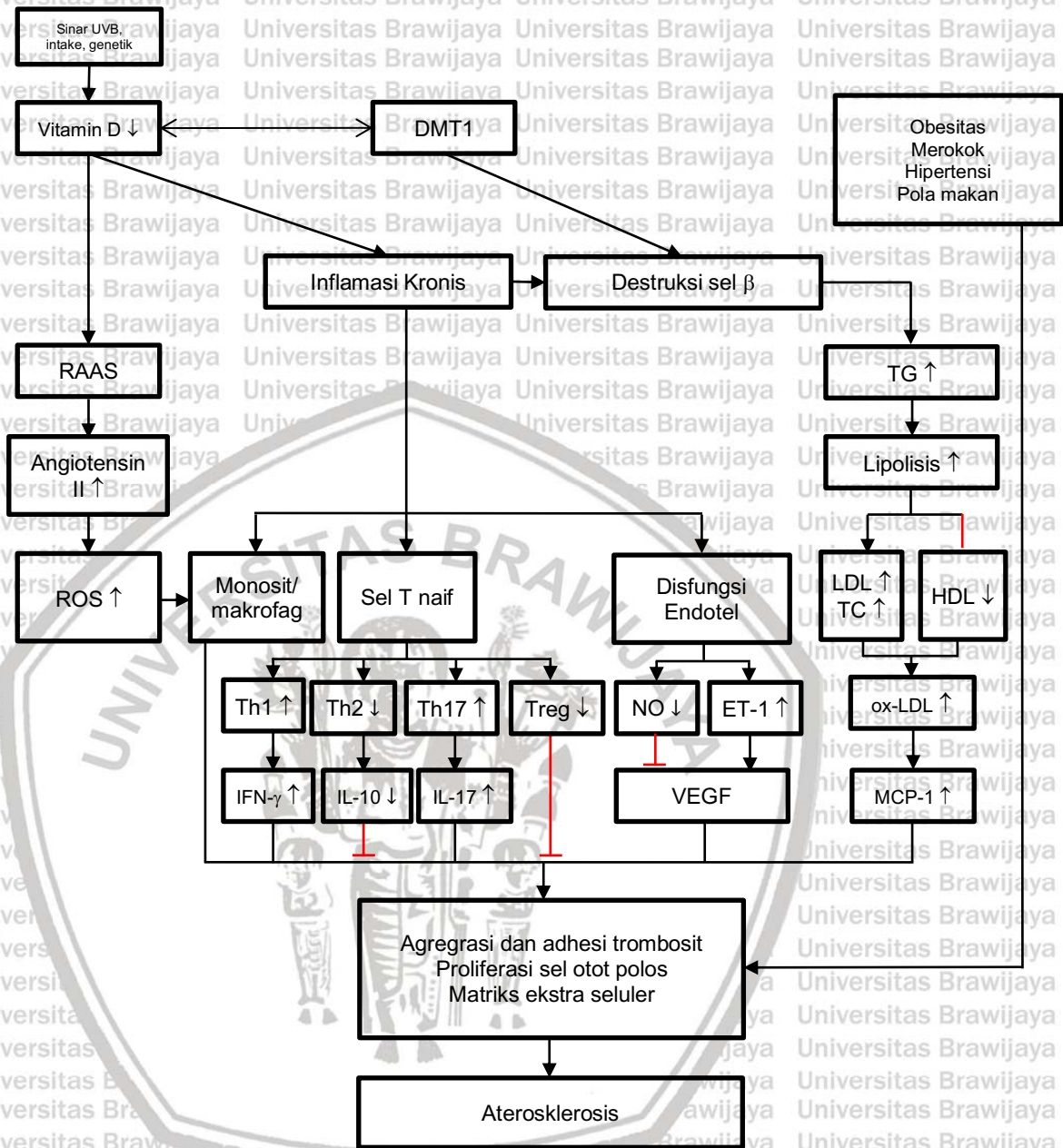
berbagai faktor yang terlibat dalam proses aterosklerosis oleh ECs dan VSMC (Kassi *et al.*, 2013).

Makrofag dipengaruhi oleh $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}$ dengan cara menurunkan pengambilan asetat dan lipoprotein densitas rendah yang teroksidasi, sehingga mengurangi pembentukan sel foam. Suplementasi $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}$ akan menekan pembentukan kolesteril ester dan meningkatkan efluks kolesterol dalam makrofag dibandingkan dengan sel yang kekurangan vitamin D, menunjukkan adanya fasilitasi jalan keluar kolesterol dengan adanya $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}$. Selain itu, $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ bertindak sebagai pereda stres retikulum endoplasma alami yang ditemukan untuk menginduksi makrofag antiaterogenik M1/fenotip monosit M2 (dengan peningkatan ambilan dan deposit kolesterol) dan untuk menurunkan ekspresi mRNA molekul adhesi monosit PSGL-1, β (1)-integrin, dan β (2)-integrin, menghasilkan peningkatan adhesi monosit ke endotel yang teraktivasi (Kassi *et al.*, 2013).

Selain itu, $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ akan menghambat produksi IL-6 dan TNF- α melalui monosit pada saat post transkripsi dan menekan respon imun proaterogenik Th1. Monosit juga terlibat dalam perkembangan lesi aterotrombotik dengan mengatur faktor koagulan dan antikoagulan. Telah dibuktikan bahwa vitamin D melalui VDR akan meningkatkan ekspresi antikoagulan glikogen trombomodulin dan menurunkan regulasi ekspresi faktor koagulasi pada jaringan.

Pada penelitian *in vitro* dan hewan menunjukkan bahwa $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ memodulasi peradangan pada monosit yang diisolasi dari pasien diabetes melalui pengaturan ekspresi TNF- α , IL-1, IL-6 dan IL-8. Secara singkatnya, vitamin D akan menekan disfungsi endotel, proliferasi dan migrasi VSMC, kalsifikasi, serta proses inflamasi pada aterosklerosis (Kassi *et al.*, 2013)

2.4 Kerangka Teori



→ : Menginduksi/ menstimulasi

—| : Menghambat / inhibisi

Kadar vitamin yang rendah pada pasien diabetes melitus tipe 1 (DMT1) dapat mengganggu regulasi RAAS, menghambat sekresi dan sensitivitas insulin, menghambat angiogenesis, dan meningkatkan proses inflamasi. Regulasi RAAS oleh karena kadar vitamin D serum yang rendah akan memicu terjadinya

peningkatan angiotensin-II dan membentuk ROS. Kadar vitamin D juga dipengaruhi oleh jumlah paparan sinar matahari, intake dan faktor genetik.

Sedangkan vitamin D sendiri berperan penting dalam proses inflamasi pada sel beta pankreas, sehingga defisiensi vitamin D akan menambah berat terjadinya destruksi dari sel beta pankreas.

Proses inflamasi kronis pada DMT1 dan adanya radikal bebas berupa ROS akan merangsang sel T naif untuk berdiferensiasi menjadi Th1 yang mengekspresikan IFN- γ sebagai sitokin proaterogenik, Th2 yang mengekspresikan IL-10 sebagai sitokin antiaterogenik, Th17 yang mengekspresikan IL-17, serta Treg sendiri yang meningkatkan potensi antiaterogenik. Sedangkan proses inflamasi sendiri juga memicu terjadinya disfungsi dari endotel, sehingga sekresi *nitric oxide* (NO) sebagai vasodilator berkurang dan peningkatan sekresi dari ET-1 (endothelin-1) sebagai vasokonstriktor.

Keadaan destruksi sel beta pankreas menghasilkan insufisiensi dari insulin sehingga terjadi lipolisis pada jaringan perifer, termasuk sel adiposit dimana trigliserida dipecah menjadi asam lemak bebas sehingga memicu hepar untuk mensekresikan lipoprotein aterogenik. Proses inflamasi kronis pada penderita DMT1 karena rendahnya kadar serum vitamin D juga memicu interaksi antara lipoprotein aterogenik dan komponen sel. Lipoprotein aterogenik meliputi LDL dan TC yang berkembang menjadi LDL teroksidasi selain juga dipicu oleh ROS. LDL yang telah teroksidasi memicu ekspresi beberapa gen yang memicu adhesi sel, migrasi dan angiogenesis VEGF yang bisa meningkatkan ekspresi MCP-1 (*monocyte chemoattractant protein-1*) yang kemudian memicu terjadinya agregasi dan adhesi trombosit.

Keseluruhan dari proses inflamasi memicu terjadinya agregasi dan adhesi platelet, proliferasi sel otot polos, dan peningkatan matriks ekstraseluler. Ketiga

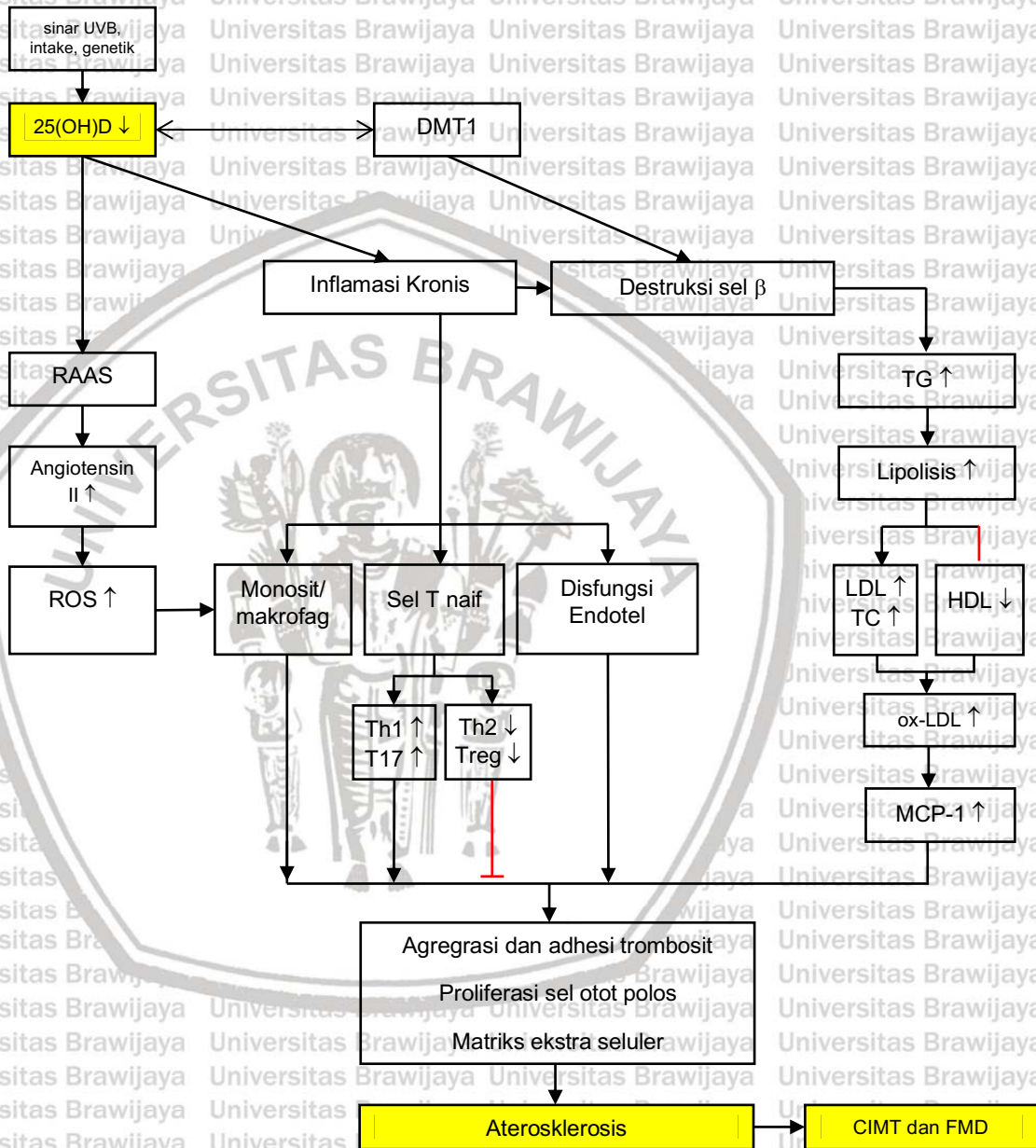
patogenesis tersebut menyebabkan lesi pada endotel yang memicu terjadinya aterosklerosis. Selain itu diketahui bahwa proses aterosklerosis juga dipengaruhi oleh faktor merokok, obesitas, hipertensi dan pola makan dimana faktor-faktor ini dapat meningkatkan kejadian aterosklerosis. Progresivitas ateroskeloris dapat menyebabkan komplikasi penyakit kardiovaskuler di masa yang akan datang



BAB 3

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS

3.1 Kerangka Konsep



→ : Menginduksi / menmenstimulasi

—| : Menghambat/ menginhibisi

□ : Yang diteliti

3.2 Keterangan Kerangka Konsep

Pada penelitian ini subjek penelitian adalah anak dengan diabetes melitus tipe 1 (DMT1) kemudian dilakukan pemeriksaan kadar vitamin D serum. Vitamin D berperan penting dalam proses inflamasi pada sel beta pankreas yang memicu terjadinya destruksi dari sel beta pankreas. Vitamin D juga dipengaruhi diet dan paparan sinar ultraviolet yang dirubah menjadi bentuk 25(OH)D selain juga dipengaruhi oleh faktor genetik. Kadar serum vitamin D yang rendah dapat memicu regulasi dari RAAS, menghambat sekresi dan sensitivitas insulin dan meningkatkan proses inflamasi.

Proses inflamasi kronis pada penderita DMT1 juga dipicu oleh rendahnya kadar serum vitamin D memicu adanya interaksi antara lipoprotein aterogenik dan komponen sel. Lipoprotein aterogenik meliputi LDL dan TC akan teroksidasi dan memicu adhesi sel, migrasi dan angiogenesis sehingga akan terjadi agregasi platelet. Proses inflamasi kronis pada DMT1 dan adanya radikal bebas berupa ROS akan merangsang sel T naif untuk berdiferensiasi menjadi Th1, Th17 yang mengekspresikan IFN- γ dan IL-17 sebagai sitokin proaterogenik dan Treg, Th2 yang mengekspresikan IL-10 sebagai sitokin antiaterogenik. Sedangkan proses inflamasi sendiri juga memicu terjadinya disfungsi dari endotel.

Keseluruhan dari proses inflamasi memicu terjadinya agregasi dan adesi platelet, proliferasi sel otot polos, dan peningkatan matriks ekstraseluler. Ketiga patogenesis tersebut menyebabkan lesi pada endotel yang memicu terjadinya aterosklerosis. Aterosklerosis pada tahap awal belum menimbulkan gejala klinis yang disebut aterosklerosis subklinis dapat dideteksi secara dini dengan pemeriksaan ultrasonografi untuk mengetahui peningkatan ketebalan tunika intima-media arteri karotis (*carotid intima-media thickness*; CIMT) dan penurunan *flow-mediated dilation* (FMD). Peningkatan CIMT dan penurunan FMD inilah yang dinilai dalam penelitian ini sebagai tanda aterosklerosis subklinis.

3.3. Hipotesis

Hipotesis 1

Kadar vitamin D pada anak diabetes melitus tipe 1 lebih rendah dibandingkan dengan kelompok kontrol

Hipotesis 2

Hasil CIMT pada anak diabetes melitus tipe 1 lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol

Hipotesis 3

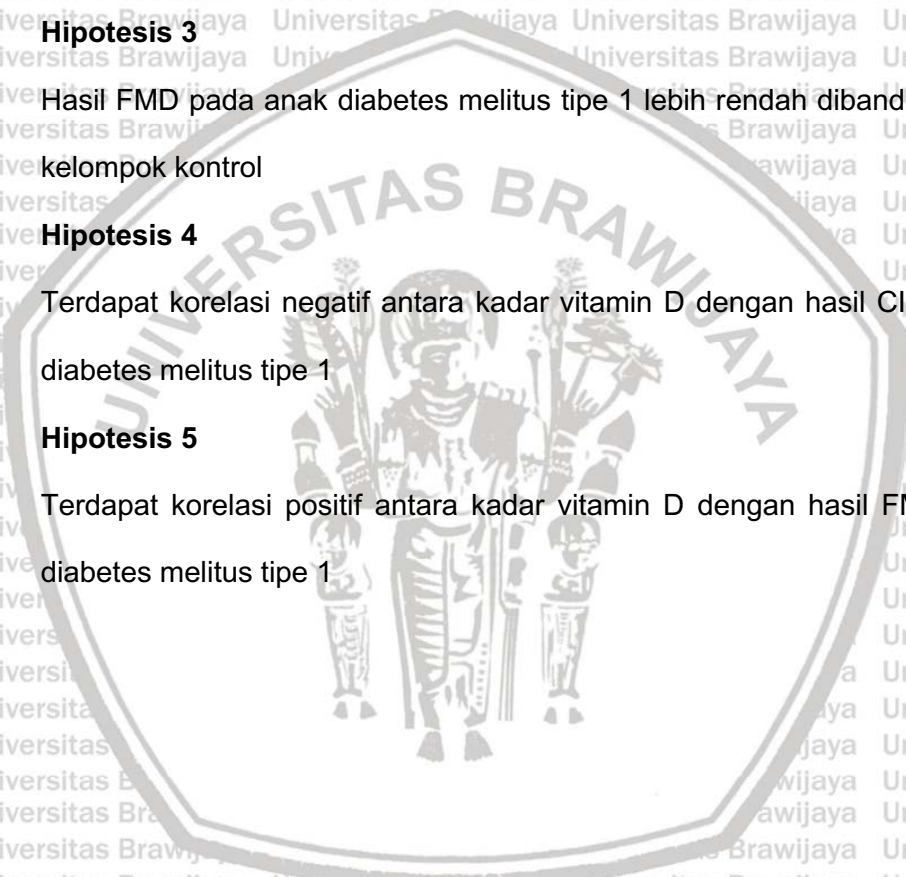
Hasil FMD pada anak diabetes melitus tipe 1 lebih rendah dibandingkan dengan kelompok kontrol

Hipotesis 4

Terdapat korelasi negatif antara kadar vitamin D dengan hasil CIMT pada anak diabetes melitus tipe 1

Hipotesis 5

Terdapat korelasi positif antara kadar vitamin D dengan hasil FMD pada anak diabetes melitus tipe 1



BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Desain Penelitian

Penelitian ini adalah analitik observasional dengan desain *cross sectional* dengan mengukur kadar 25(OH)D dan ketebalan tunika intima media arteri karotis (CIMT) serta respon dilatasi karena aliran (FMD) pada pasien anak dengan DM tipe 1.

4.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Departemen Ilmu Kesehatan Anak, Laboratorium Patologi Klinik dan Laboratorium Ilmu Penyakit Jantung dan Pembuluh Darah Rumah Sakit Dr. Saiful Anwar Malang dan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang dalam jangka waktu 6 bulan mulai bulan Maret 2019 sampai dengan Agustus 2019.

4.3 Persetujuan Penelitian

Penelitian ini akan dilakukan setelah disetujui oleh Panitia Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya RSUD Dr. Saiful Anwar Malang.

4.4 Subjek Penelitian

4.4.1 Populasi dan Sampel Penelitian

Populasi penelitian ini adalah semua anak dengan usia 10-18 tahun. Populasi terjangkau penelitian ini adalah pasien anak yang didiagnosis DM tipe 1 dan menjalani rawat jalan di Poli Endokrinologi Rumah Sakit Umum Dr. Saiful

Anwar Malang selama periode penelitian. Sampel penelitian ini adalah pasien anak yang terdiagnosis DM tipe 1 dan menjalani rawat jalan di Poli Endokrinologi Rumah Sakit Umum Dr. Saiful Anwar Malang selama periode penelitian yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi.

4.4.2 Perhitungan Besar Sampel

Perhitungan sampel dalam penelitian ini menggunakan rumus sebagai berikut (Sastroasmoro dan Ismail, 2008) :

$$n_1 = n_2 = 2 \left(\frac{(z_\alpha + z_\beta)s}{x_1 - x_2} \right)^2 \dots\dots\dots (1)$$

dimana:

- n_1 : besar sampel untuk responden anak sehat
- n_2 : besar sampel untuk responden yang mengalami DM tipe 1
- z_α : deviat baku alfa (kesalahan tipe I) 5% = 1,96
- z_β : deviat baku beta (kesalahan tipe II) 20 % = 0,842
- s : simpangan baku = 12,6 pg/ml
- x_1 : rerata 25(OH)D₃ pada kelompok responden yang sehat = 4,7 pg/ml
- x_2 : rerata 25(OH)D₃ pada kelompok responden yang mengalami DM tipe 1 = 8,9pg/ml

dengan mensubstitusikan nilai-nilai pada persamaan (1) maka diperoleh :

$$n_1 = n_2 = 2 \left(\frac{(1,96 + 0,842)9,5}{8,9 - 4,7} \right)^2 \dots\dots\dots (2)$$

= 39,9 (dibulatkan menjadi 40)

Berdasarkan hasil perhitungan besar sampel pada persamaan (2) maka diperoleh besar sampel sebanyak 40 sampel.

4.5 Kriteria Inklusi dan Eksklusi

4.5.1 Kriteria Inklusi Sampel

- a. Anak dengan diagnosis DM tipe 1
- b. Usia 10-18 tahun
- c. Orang tua pasien mengizinkan anaknya diikutsertakan dalam penelitian setelah diberi penjelasan (*informed consent*).

4.5.2 Kriteria Eksklusi Sampel

- a. Menderita infeksi lokal ataupun sistemik.
- b. Menderita gangguan hati.
- c. Menderita gangguan fungsi ginjal.
- d. Mengonsumsi vitamin D minimal selama 3 minggu.

4.5.3 Kriteria Inklusi Kontrol

- a. Tidak menderita diabetes
- b. Usia 10-18 tahun
- c. Orang tua pasien mengizinkan anaknya diikutsertakan dalam penelitian setelah diberi penjelasan (*informed consent*).

4.5.4 Kriteria Eksklusi Kontrol

- a. Menderita infeksi lokal ataupun sistemik.
- b. Menderita gangguan hati.
- c. Menderita gangguan fungsi ginjal.
- d. Mengonsumsi vitamin D minimal selama 3 minggu
- e. Sindrom metabolik

4.6 Variabel Penelitian

4.6.1 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah kadar 25(OH)D.

4.6.2 Variabel Tergantung

Variabel tergantung pada penelitian ini adalah hasil CIMT dan FMD.

4.7. Definisi Operasional

4.7.1 Diabetes Melitus Tipe 1

Diagnosis diabetes melitus ditegakkan dari anamnesis, pemeriksaan fisik dan penunjang. Gejala klasik diabetes pada anak termasuk poliuria, polidipsia, polifagi dan penurunan berat badan. Berdasarkan *American diabetes association* (ADA) (2016), kriteria diagnosis diabetes melitus tipe 1 yaitu: 1) kadar glukosa plasma puasa ≥ 126 mg/dl (7 mmol/l). Puasa didefinisikan sebagai tidak ada asupan kalori selama minimal 8 jam; 2) kadar glukosa plasma ≥ 200 mg/dl (11.1 mmol/l) diukur 2 jam setelah pemberian glukosa 1,75 g/kg (dosis maksimum 75 g) melalui tes toleransi glukosa oral (TTOG). Sebagian besar anak-anak dan remaja dengan DM tipe 1 adalah simtomatik dan memiliki konsentrasi glukosa plasma jauh di atas ambang batas ini sehingga TTOG jarang diperlukan untuk diagnosis DMT1; 3) kadar HbA1c $\geq 6,5\%$; 4) kadar glukosa darah vena acak ≥ 200 mg/dl (11.1 mmol/l) pada pasien dengan gejala klasik hiperglikemia atau krisis hiperglikemia; 5) kadar C-peptida plasma yang rendah (0.8-3.1 ng/mL) atau tidak terdeteksi; 6) adanya satu atau lebih penanda autoimun yaitu *65kDa glutamic acid decarboxylase* (GAD65), *insulinoma associated protein 2* (IA2) dan *zinc transporter 8* (ZNT8) yang positif (ADA, 2019).

4.7.2 Kadar Vitamin 25(OH)D

Kadar vitamin D yang diukur adalah vitamin D dalam bentuk 25(OH)D pada serum. Pengukuran kadar vitamin D dilakukan dengan metode *enzyme-linked immunosorbent assays* (ELISA). Kadar vitamin D dikatakan normal bila > 30 ng/L, insufisien bila 20-30 ng/L dan defisiensi bila < 20 ng/L (Ginanjar *et al.*, 2007).

4.7.3 Aterosklerosis Subklinis

Aterosklerosis adalah proses patologis pada arteri yang berkembang selama bertahun-tahun ditandai plak aterosklerotik yang terbentuk di dinding pembuluh darah, terdiri dari inti nekrotik, daerah kalsifikasi, akumulasi lipid, *smooth muscle cells* (SMCs) yang peradangan, sel endotel, leukosit, dan sel *foam* (Mageed, 2018). Sedangkan aterosklerosis subklinis atau aterosklerosis prematur adalah perkembangan aterosklerosis sebelum terjadinya gejala klinis dari lesi awal (fase 1) sampai lesi fibrolipid (fase 2) (Mageed, 2018). Aterosklerosis subklinis dapat diukur secara anatomi dengan pemeriksaan ketebalan tunika intima media arteri karotis melalui pemeriksaan CIMT dan secara fungsi dengan mengukur elastisitas pembuluh darah melalui pemeriksaan FMD (Raitakari & Calermajer, 2000).

4.7.4 Carotid Intima-Media Thickness (CIMT)

Pemeriksaan CIMT adalah pemeriksaan ultrasonografi B-mode dengan transduser frekuensi tinggi pada arteri karotis. Bagian arteri yang diperiksa adalah 10 mm horisontal arteri karotis komunis atau *common carotid artery* (CCA), *bulbus carotid artery* dan *internal carotid artery*. Pemeriksaan ini berfungsi untuk mengukur ketebalan antara intima dan media dinding arteri karotis yang

menggambarkan adanya penebalan, plak maupun stenosis arteri karotis (Ibanez *et al.*, 2009). Pada penelitian ini pemeriksaan menggunakan *duplex* ultrasonografi mesin Affiniti 50G Philips dengan menggunakan *probe* linier dengan frekuensi 25 Hz. Ketebalan intima media dinyatakan dalam millimeter (mm). Nilai standar normal pemeriksaan CIMT pada anak-anak belum ada. Sedangkan plak didefinisikan sebagai struktur yang menembus ke dalam lumen arteri setidaknya 0,5 mm atau 50% dari nilai CIMT atau menunjukkan ketebalan > 1,5 mm yang diukur dari media ke intima (Touboul *et al.*, 2012)

4.7.5 Flow-Mediated Dilation (FMD)

Flow-mediated dilation adalah pemeriksaan fungsi endotel dengan cara mengukur kemampuan vasodilatasi pembuluh darah akibat peningkatan aliran darah setelah stimulasi dengan membuat periode iskemia pada pembuluh darah dengan menggunakan ultrasonografi B-mode. Pemeriksaan ini dapat dilakukan di arteri brakialis, femoralis dan radialis, tetapi tempat yang paling mudah untuk dilakukan pengukuran adalah di arteri brakialis selain diameter pembuluh darah relatif besar dan dekat dengan permukaan. Ukuran rata-rata diameter arteri brakialis pada dewasa adalah 2.5-5 mm (Raitakari & Calermajer, 2000; Urbina *et al.*, 2009).

4.8 Metode Pemeriksaan

4.8.1 Pemeriksaan Kadar Vitamin 25(OH)D

Pemeriksaan kadar vitamin 25(OH)D dengan menggunakan metode ELISA. Metode pemeriksaannya adalah dengan menyiapkan tabung polipropilen, masing-masing satu untuk kalibrator, kontrol dan sampel. Ditambahkan 1 ml 25-D

biotin solution pada semua tabung lalu vortex selama 10 detik, kemudian ditambahkan 200 μ l masing-masing dilusi kalibrator, kontrol dan sampel pada sumur-sumur yang sesuai dari antibodi mikroplate. Tutup plate dengan plastik. Inkubasi pada suhu 18-25 $^{\circ}$ C selama 2 jam. Semua sumur dicuci sebanyak 3 kali dengan *wash solution*, kemudian ditambahkan 200 μ l enzim konjugat pada sumur dengan menggunakan pipet *multichannel*. Dilanjutkan dengan menutup plate dan dibungkus dengan plastik, diinkubasi pada suhu 18-25 $^{\circ}$ C selama 30 menit.

Sebanyak 200 μ l *tetra methyl benzidine* (TMB) substrat ditambahkan pada semua sumur, plate ditutup dan dibungkus dengan plastik, diinkubasi 18-25 $^{\circ}$ C selama 30 menit. *Stop solution* 100 μ l ditambahkan pada semua sumur, kemudian diukur absorbansi masing-masing sumur pada 650 nm menggunakan mikroplate reader dalam 30 menit setelah penambahan stop solution.

4.8.2 Pemeriksaan *Carotid Intima-Media Thickness* (CIMT)

Pemeriksaan ketebalan tunika media-intima arteri karotis berdasarkan rekomendasi dari *American society of echocardiography carotid intima-media thickness task force* dengan menggunakan ultrasonografi resolusi tinggi modus B.

Subjek dalam keadaan istirahat saat pemeriksaan. Posisi supinasi dengan leher ekstensi kemiringan 45 $^{\circ}$. Pemeriksaan secara longitudinal dan transversal mengevaluasi daerah arteri karotis komunis, bulbus karotis dan arteri karotis interna. Protokol yang digunakan oleh *aterosclerosis risk in communities* (ARIC) dan *asymptomatic carotid artery progression study* (ACAPS) merekomendasikan analisis dari 3 lokasi yaitu (*distal common carotid, carotid bifurcation, proximal carotid interna bilateral*). Interpretasi dilakukan dengan mengukur CIMT dari 3

segmen saat akhir diastolik, menghitung nilai rata-rata dari CIMT maksimal dari 3 segmen (Urbina *et al.*, 2009).

4.8.3 Flow-Mediated Dilation (FMD)

Pengukuran FMD pada arteri brakialis pada prinsipnya adalah untuk mengukur diameter arteri brakialis dengan cara lengan kanan anak diposisikan secara rileks dan *supine* sehingga pemeriksaan ultrasonografi dilakukan pada arteri brakialis 5-10 cm di atas fossa antekubiti. Inflasi manset pada tekanan suprasistolik (40-50 mmHg di atas tekanan sistolik) kemudian dioklusi selama 5 menit lalu manset dengan cepat dikempiskan sehingga terjadi aliran darah dengan cepat. Diameter arteri diukur sampai 5 menit setelah manset dikempiskan dan ditentukan diameter yang tertinggi (Atwa *et al.*, 2018).

Pengukuran FMD dilakukan dengan cara menggunakan rumus:

$$\text{FMD\%} = \frac{(\text{diameter puncak} - \text{diameter dasar})}{\text{diameter dasar}}$$

Diameter dasar merupakan diameter arteri sebelum dilakukan stimulasi berupa inflasi manset spigmomanometer. Sedangkan diameter puncak adalah diameter paling besar setelah terjadi hiperemia reaktif atau setelah manset dikempiskan secara mendadak sebelum kembali ke diameter dasar, diukur sampai menit ke 5 setelah hiperemia reaktif (Harris *et al.*, 2010).

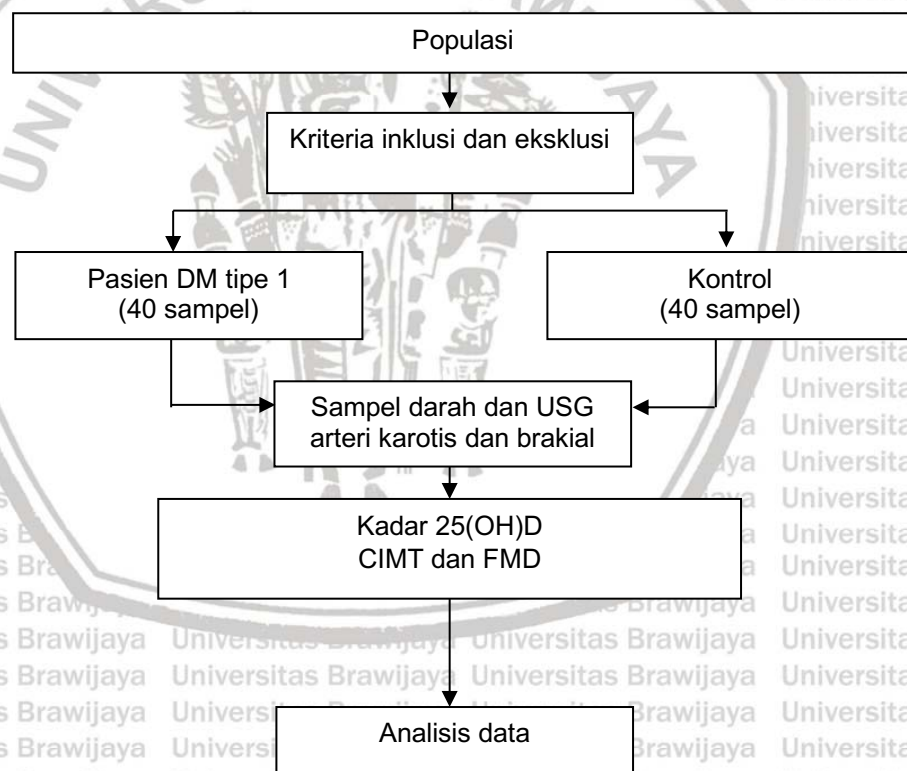
4.9. Analisis Statistik

Pada data kadar 25(OH)D dilakukan uji normalitas (untuk mengetahui sebaran data normal atau tidak) dengan menggunakan uji normalitas Kolmogorov-Smirnov. Untuk mengetahui perbedaan jika variabel hasil transformasi

berdistribusi normal, maka dipakai uji t tidak berpasangan. Jika variabel hasil transformasi tidak berdistribusi normal, maka digunakan uji Mann-Whitney.

Hubungan antara kadar vitamin 25(OH)D terhadap hasil CIMT dan FMD dilakukan uji korelasi menggunakan uji korelasi Pearson bila data terdistribusi normal atau uji Spearman jika data tidak terdistribusi normal. Uji statistik dianggap bermakna apabila nilai $p \leq 0,05$. Semua penghitungan dilakukan dengan bantuan software SPSS 23.0 for Windows.

4.10 Alur Penelitian



BAB 5

HASIL PENELITIAN

5.1 Karakteristik Subjek Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah penelitian observasional analitik dengan pendekatan *cross sectional*. Sampel penelitian sebanyak 80 pasien yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi, dibagi menjadi dua kelompok, yaitu kelompok dengan DM tipe 1 sebanyak 40 orang dan kelompok kontrol sebanyak 40 orang. Kelompok DM tipe 1 adalah pasien anak yang didiagnosis diabetes melitus tipe 1 dan menjalani rawat jalan di Poliklinik Endokrinologi Anak RSSA Malang selama periode penelitian 1 Februari 2019 sampai dengan 31 Juli 2019. Adapun karakteristik sampel penelitian terdapat pada tabel 5.1 sebagai berikut.

Tabel 5.1 Karakteristik Subjek Penelitian

Karakteristik sampel		DM tipe 1 (n=40)	Kontrol (n=40)
Rata-rata Usia		14.62 ± 2.85	14.6 ± 0.98
Jenis kelamin	Laki-laki	17 (17/40)	17 (17/40)
	Perempuan	23 (23/40)	23 (23/40)
Rata-rata lama DM (tahun)		4.75 ± 1.33	0
Status Gizi	Gizi baik	29 (29/40)	34 (29/40)
	Gizi kurang	7 (7/40)	2 (2/40)
	Gizi lebih	4 (4/40)	4 (4/40)
HbA1c	< 6.5%	3 (3/40)	40 (40/40)
	≥ 6.5%	37 (37/40)	0
Rerata Kadar 25(OH)D	Defisiensi (< 20 ng/ml)	37 (37/40)	38 (38/40)
	Insufisiensi (20-30 ng/ml)	3 (3/40)	2 (2/40)
	Sufisiensi (>30 ng/ml)	0	0
Kolesterol Total	Normal	31 (31/40)	39 (39/40)
	Borderline	8 (8/40)	1 (1/40)
	Tinggi	1 (1/40)	0
LDL	Normal	22 (22/40)	37 (37/40)
	Borderline	11 (11/40)	3 (3/40)
	Tinggi	6 (6/40)	0
HDL	Rendah	6 (6/40)	15 (15/40)
	Normal	21 (21/40)	22 (22/40)
	Tinggi	13 (13/40)	3 (3/40)
Trigliserida	Normal	33 (33/40)	35 (35/40)
	Borderline	5 (5/40)	1 (1/40)
	Tinggi	2 (2/40)	4 (4/40)
ACR (Albumin:Creatinin)	Normal	33 (33/40)	40 (40/40)
	Tinggi	7 (7/40)	0
PCR (Protein:Creatinin)	Normal	34 (34/40)	40 (40/40)
	Tinggi	6 (6/40)	0

Tabel 5.2 Karakteristik Laboratorium dan Hasil Pemeriksaan

Karakteristik sampel	DM tipe 1 (n=40)	Kontrol (n=40)	p
Gambaran Laboratorium			
Rerata Hemoglobin	14.15 ± 1.11	14.57 ± 1.83	0.128
Rerata Leukosit	8.484 ± 2.789	7529 ± 1.337	0.149
Rerata Trombosit	362.925 ± 62490	346.125 ± 86.058	0.341
Rerata Ureum	23 ± 12	19.88 ± 5.2	0.315
Rerata Kreatinin	0.6 ± 0.4	0.64 ± 0.15	0.057
Rerata CRP	0.14 ± 0.14	0.11 ± 0.22	0.056
Rerata HbA1c	9.55 ± 2.02	4.72 ± 0.24	0.000
Rerata Kolesterol Total	173.9 ± 36.8	132.5 ± 29.4	0.000
Rerata Trigliserida	110.5 ± 49.7	100.2 ± 60.01	0.128
Rerata LDL	121 ± 32	91.18 ± 25.34	0.000
Rerata HDL	57 ± 15	43.48 ± 10.48	0.000
Rerata Kadar 25(OH)D	10.82 ± 5.34	10.04 ± 5.91	0.363
CIMT			
Rerata CCA	0.49 ± 0.086	0.44 ± 0.075	0.038
Rerata <i>Bulbus Carotis</i>	0.56 ± 0.161	0.47 ± 0.073	0.016
Rerata ICA	0.47 ± 0.119	0.39 ± 0.079	0.002
FMD			
Rerata Diameter dasar Arteri Brakialis	2.92 ± 0.48	3.07 ± 0.44	0.045
Rerata Diameter puncak Arteri Brakialis	3.19 ± 0.49	3.47 ± 0.48	0.038
%FMD	9.83 ± 9.38	12.67 ± 8.73	0.085

5.2 Kadar Vitamin D pada Pasien DM tipe 1 dan Kontrol

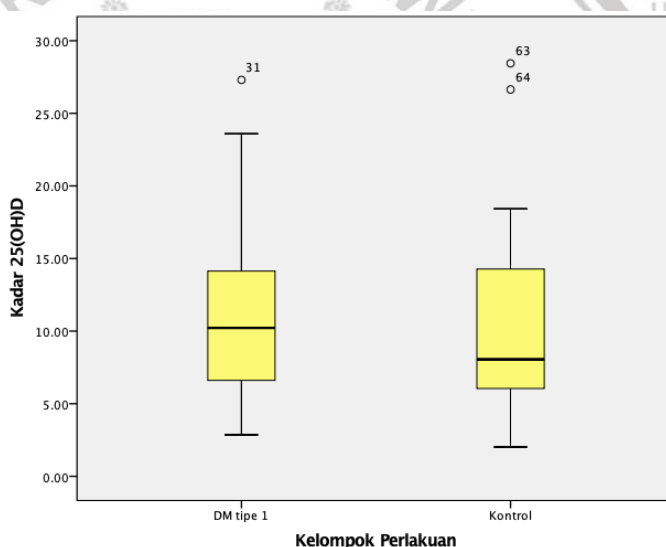
Dalam penelitian ini hasil analisis data pada uji normalitas dilakukan dengan menggunakan uji *Kolmogorov-Smirnov* dikarenakan sampel lebih dari 50 sampel. Adapun kriteria hasil tersebut adalah bila nilai Sig atau *p-value* lebih besar dari 0.05 maka data terdistribusi normal dan sebaliknya bila nilai Sig atau *p-value* lebih kecil dari 0.05 maka data tidak terdistribusi normal. Pada hasil uji normalitas menggunakan *Kolmogorov-Smirnov* untuk kelompok DM tipe 1 didapatkan hasil nilai Sig atau *p-value* yang lebih besar dari taraf signifikansi 0.05 sedangkan untuk kelompok kontrol didapatkan hasil nilai Sig atau *p-value* lebih kecil dari taraf signifikansi 0.05 (perhitungan pada lampiran), sehingga disimpulkan data pada kelompok DM tipe 1 terdistribusi normal dan data pada kelompok kontrol terdistribusi tidak normal (uji *Kolmogorov-Smirnov* pada DMT1 $p=0.200$, kontrol $p=0.009$), kemudian dilanjutkan dengan uji beda menggunakan uji *Mann Whitney*.

Pada uji *Mann Whitney* didapatkan hasil nilai *Asymp. Sig (2 tailed)* > 0.05 (Sig

0.363) sehingga dapat dikatakan bahwa tidak ada perbedaan bermakna kadar vitamin D antara kelompok DM tipe 1 dengan kelompok kontrol seperti ditunjukkan pada tabel 5.3.

Tabel 5.3 Hasil Perbandingan Rerata Kadar 25(OH)D pada Anak dengan DM Tipe 1 dan Kontrol

Rerata Kadar	DM tipe 1		Kontrol		p (Uji Mann-Whitney)
	n	Rerata \pm SD	n	Rerata \pm SD	
25 (OH)D (ng/ml)	40	10.81 \pm 5.34	40	10.04 \pm 5.91	0.363
Defisiensi (<20 ng/ml)	37/40	9.68 \pm 3.78	38/40	9.12 \pm 4.40	
Insufisiensi (21-29 ng/ml)	3/40	23.73 \pm 3.50	2/40	27.54 \pm 1.27	
Normal (>30 ng/ml)	0	-	0	-	



Gambar 5.1 Rerata Kadar 25(OH)D pada Anak dengan DM tipe 1 dan Kontrol. Rerata kadar 25(OH)D kelompok DM tipe 1 adalah 10.81 ng/ml lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol 10.04 ng/ml.

5.3 Hasil CIMT pada Pasien DM tipe 1 dan Kontrol

Dari data hasil uji normalitas CIMT pada *common carotid artery* (CCA) pada kelompok DM tipe 1 dan kelompok kontrol didapatkan hasil nilai Sig atau p -value lebih besar dari taraf signifikansi 0.05 sehingga disimpulkan data terdistribusi normal. Sedangkan data hasil CIMT pada *bulbus*, ICA dan total CIMT pada

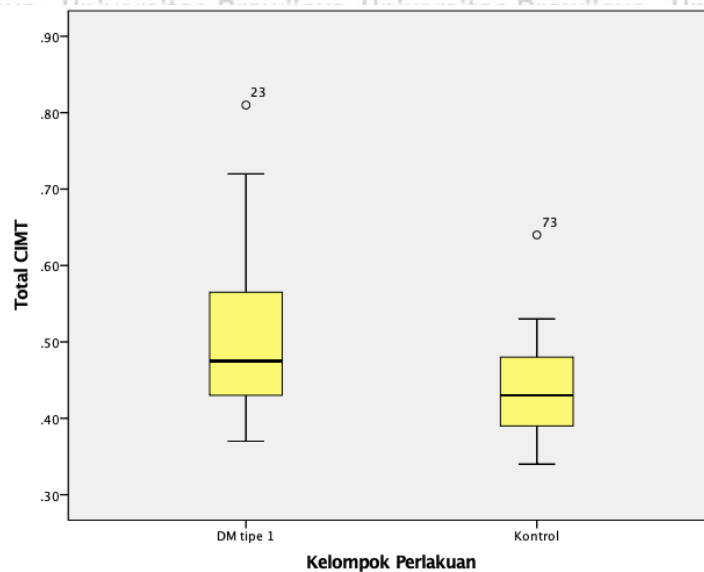
kelompok DM tipe 1 dan kelompok kontrol CIMT ICA didapatkan hasil nilai *p-value* < 0.05 sehingga dikatakan data tidak terdistribusi normal. Sedangkan kelompok kontrol pada CIMT *bulbus* dan total CIMT didapatkan hasil nilai *p-value* > 0.05 sehingga disimpulkan data CIMT *bulbus* dan total CIMT kelompok kontrol terdistribusi normal (perhitungan pada lampiran).

Kemudian dilanjutkan dengan uji beda menggunakan uji *Mann Whitney*.

Pada uji tersebut ICA CCA didapatkan hasil nilai Sig (*2 tailed*) < 0.05 (Sig 0.038) sehingga dapat dikatakan bahwa terdapat perbedaan bermakna hasil CIMT CCA antara kelompok DM tipe 1 dengan kelompok kontrol. Pada uji *Mann Whitney* CIMT *bulbus*, ICA serta total CIMT didapatkan hasil nilai Sig (*2 tailed*) < 0.05 sehingga dapat dikatakan bahwa terdapat perbedaan bermakna hasil CIMT *bulbus*, ICA serta total CIMT antara kelompok DM tipe 1 dengan kelompok kontrol seperti ditunjukkan pada tabel 5.3.

Tabel 5.4 Hasil Perbandingan Rerata CIMT pada Anak dengan DM tipe 1 dan Kontrol

Rerata	DM tipe 1 Rerata ± SD	Kontrol Rerata ± SD	<i>p</i> (Uji <i>Mann Whitney</i>)
CIMT CCA (mm)	0.49 ± 0.086	0.44 ± 0.075	0.038
CIMT <i>Bulbus</i> (mm)	0.56 ± 0.161	0.47 ± 0.073	0.016
CIMT ICA (mm)	0.47 ± 0.119	0.39 ± 0.079	0.002
Total CIMT (mm)	0.50 ± 0.104	0.44 ± 0.064	0.003



Gambar 5.2 Rerata Hasil CIMT Total pada Anak DM tipe 1 dan Kontrol

Rerata hasil CIMT total kelompok DM tipe 1 adalah 0.5 mm lebih tebal dibandingkan kelompok kontrol 0.44 mm.

5.4 Hasil FMD pada Pasien DM tipe 1 dan Kontrol

Uji normalitas pada diameter dasar arteri brakialis dan persentase FMD pada kelompok DM tipe 1 didapatkan hasil nilai Sig atau *p-value* < 0.05 sedangkan untuk kelompok kontrol didapatkan nilai Sig atau *p-value* > 0.05 (perhitungan pada lampiran), sehingga disimpulkan data diameter dasar arteri brakialis dan persentase FMD pada kelompok DM tipe 1 tidak terdistribusi normal dan pada kelompok kontrol terdistribusi normal. Sedangkan uji normalitas pada hasil diameter puncak arteri brakialis didapatkan nilai Sig atau *p-value* > 0.05 pada kelompok DM tipe 1 dan kelompok kontrol sehingga disimpulkan data diameter puncak arteri brakialis terdistribusi normal.

Kemudian dilanjutkan dengan uji beda menggunakan uji *Mann Whitney* pada hasil diameter dasar arteri brakialis dan %FMD. Dari uji tersebut didapatkan hasil Sig (*2 tailed*) > 0.05 pada diameter dasar arteri brakialis (Sig 0.077) dan persentase FMD (Sig 0.085) sehingga dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat

perbedaan bermakna hasil diameter dasar arteri brakialis dan persentase FMD antara kelompok DM tipe 1 dengan kelompok kontrol. Sedangkan pada diameter puncak arteri brakialis didapatkan hasil uji *Mann Whitney Sig (2 tailed)* < 0.05 (Sig 0.005) sehingga dapat dikatakan bahwa terdapat perbedaan bermakna diameter puncak arteri brakialis antara kelompok DM tipe 1 dan kelompok kontrol.

Tabel 5.5 Hasil Perbandingan Rerata FMD pada Anak dengan DM tipe 1 dan Kontrol

Rerata	DM tipe 1	Kontrol	ρ (Uji
	Rerata \pm SD	Rerata \pm SD	<i>Mann Whitney)</i>
Diameter Dasar Arteri brakialis (mm)	2.92 \pm 0.48	3.07 \pm 0.44	0.077
Diameter Puncak Arteri brakialis (mm)	3.19 \pm 0.49	3.47 \pm 0.48	0.005
%FMD (%)	9.83 \pm 9.38	12.67 \pm 8.73	0.085

5.5 Korelasi antara Kadar 25(OH)D dengan CIMT pada Anak dengan DM Tipe 1

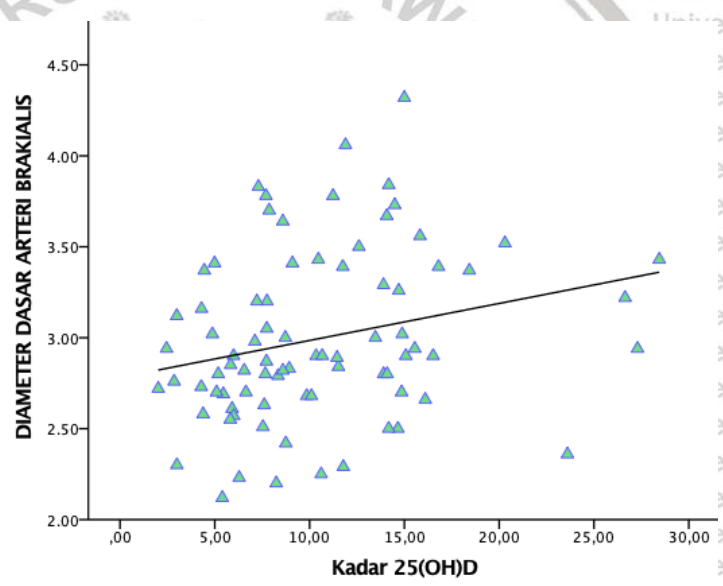
Berdasarkan hasil uji korelasi *Spearman* antara kadar 25(OH)D dengan hasil CIMT CCA, *bulbus carotis*, ICA, dan total CIMT pada anak dengan DM tipe 1 didapatkan nilai $p > 0.05$ secara berturut-turut yaitu 0.704, 0.653, 0.942, dan 0.870. Dapat disimpulkan bahwa tidak ada hubungan yang signifikan antara kadar vitamin D dengan CIMT CCA, *bulbus*, ICA dan total CIMT pada pasien DM Tipe 1.

5.6 Korelasi antara Kadar 25(OH)D dengan FMD pada Anak dengan DM Tipe 1

Hubungan antara kadar 25(OH)D dengan diameter dasar dan diameter puncak arteri brakialis dengan menggunakan uji korelasi *Spearman* didapatkan nilai $p < 0.05$ ($p=0.010$ dan $p 0.021$) sedangkan persentase FMD didapatkan $p >$

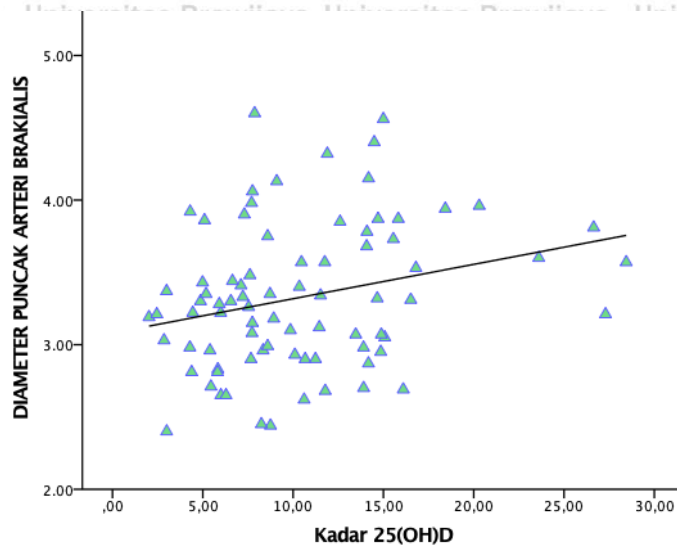
0.05 ($p=0.993$) sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat hubungan yang signifikan antara kadar vitamin D dengan diameter dasar dengan keamatan hubungan yang cukup dengan korelasi bernilai positif, artinya semakin rendah kadar vitamin D maka semakin kecil diameter dasar arteri brakialis. Kadar vitamin D dengan diameter puncak juga terdapat hubungan yang signifikan dengan keamatan hubungan yang cukup dengan korelasi bernilai positif, artinya semakin rendah kadar vitamin D maka semakin kecil diameter puncak arteri brakialis.

Sedangkan antara kadar Vitamin D dengan persentase FMD tidak terdapat hubungan yang signifikan.



Gambar 5.3 Korelasi Kadar 25(OH)D dengan Diameter Dasar Arteri Brakialis pada Anak dengan DM tipe 1.

Gambar tersebut menunjukkan bahwa semakin tinggi kadar 25(OH)D maka diameter dasar arteri brakialis akan semakin lebar.



Gambar 5.4 Korelasi Kadar 25(OH)D dengan Diameter Puncak Arteri Brakialis pada Anak dengan DM tipe 1

Gambar tersebut menunjukkan bahwa semakin tinggi kadar 25(OH)D maka diameter puncak arteri brakialis akan semakin lebar.

Uji linieritas dilakukan untuk mengetahui asumsi linieritas antar variabel yang diteliti. Hasil uji asumsi linieritas dapat dilihat pada tabel 5.6

Tabel 5.6 Hasil Uji Linieritas Kadar 25(OH)D dengan Diameter Dasar & Puncak pada Anak dengan DM tipe 1

Variabel	Sig	Kesimpulan
25(OH)D & diameter dasar	0.786	Kedua variabel linier
25(OH)D & diameter puncak	0.713	Kedua variabel linier

Dari hasil analisis korelasi yang bermakna adalah kadar 25(OH)D dengan diameter dasar dan diameter puncak, kemudian dilakukan analisis regresi terhadap variabel-variabel tersebut.

Tabel 5.7 Analisis Regresi Kadar 25(OH)D dengan Diameter Dasar pada Anak dengan DM tipe 1

Variabel	Beta	t	Sig t	Keterangan
Kadar 25(OH)D	0.246	2.242	0.028	Signifikan
R square	= 0.061			
nilai konstan	= 2.782			

Berdasarkan perhitungan tersebut bahwa:

- a. Berdasarkan nilai signifikansi sebesar $0.028 < 0.05$, sehingga dapat disimpulkan bahwa kadar 25(OH)D berpengaruh terhadap diameter dasar
- b. Berdasarkan nilai t, diketahui nilai t_{hitung} sebesar $2.242 > t_{tabel} = 1.668$, sehingga dapat disimpulkan bahwa kadar 25(OH)D berpengaruh terhadap diameter dasar
- c. Besarnya nilai koefisiensi determinasi (R square) sebesar 0.061 yang mengandung pengertian bahwa pengaruh kadar 25(OH)D terhadap diameter dasar adalah sebesar 6.1%
- d. Nilai constant (a) 2.782, sedang nilai koefisien regresi (b) sebesar 0.246, sehingga persamaan regresinya dapat ditulis:

$$Y = a + bX$$

$$Y = 2.782 + 0.246X$$

Menyatakan bahwa setiap penambahan 1% kadar 25(OH)D maka diameter dasar akan bertambah 0.246. Koefisien regresi tersebut bernilai positif, sehingga dapat disimpulkan semakin tinggi kadar 25(OH)D maka semakin bertambah nilai diameter dasar

Tabel 5.8 Analisis Regresi Kadar 25(OH)D dengan Diameter Puncak pada Anak dengan DM tipe 1

Variabel	Beta	t	Sig t	Keterangan
Kadar 25(OH)D	0.265	2.432	0.017	Signifikan
R square	= 0.070			
nilai constant	= 3.081			

Berdasarkan perhitungan tersebut bahwa:

- a. Berdasarkan nilai signifikansi sebesar $0.017 < 0.05$, sehingga dapat disimpulkan bahwa kadar 25(OH)D berpengaruh terhadap diameter puncak
- b. Berdasarkan nilai t , diketahui nilai t_{hitung} sebesar $2.265 > t_{tabel}$ 1.668, sehingga dapat disimpulkan bahwa kadar 25(OH)D berpengaruh terhadap diameter puncak
- c. Besarnya nilai koefisiensi determinasi (R square) sebesar 0.070 yang mengandung pengertian bahwa pengaruh kadar 25(OH)D terhadap diameter dasar adalah sebesar 7%
- d. Nilai constant (a) 3.081, sedang nilai koefisien regresi (b) sebesar 0.265, sehingga persamaan regresinya dapat ditulis:

$$Y = a + bX$$

$$Y = 3.081 + 0.265X$$

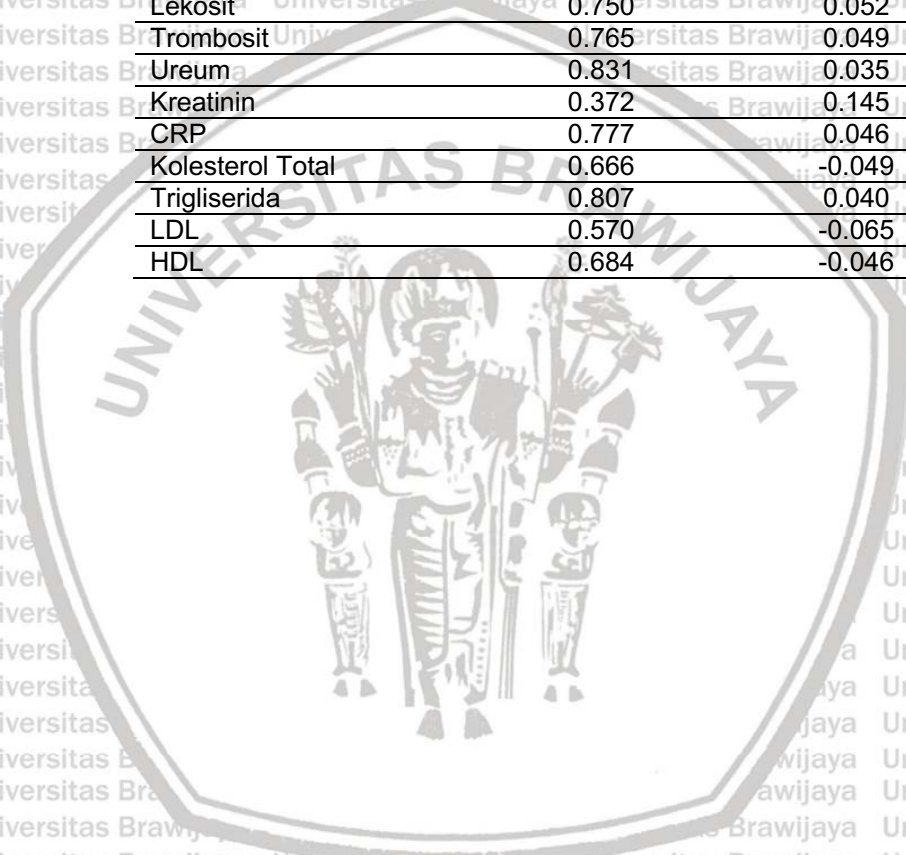
Menyatakan bahwa setiap penambahan 1% kadar 25(OH)D maka diameter dasar akan bertambah 0.265. Koefisien regresi tersebut bernilai positif, sehingga dapat disimpulkan semakin tinggi kadar 25(OH)D maka semakin bertambah nilai diameter dasar

5.8 Korelasi antara Kadar 25(OH)D dengan Karakteristik Pasien Anak dengan DM Tipe 1

Korelasi kadar 25(OH)D dengan karakteristik pasien DM tipe 1 dapat dilihat pada tabel di bawah ini:

Tabel 5.9 Korelasi Kadar 25(OH)D dengan Karakteristik Pasien Anak DM Tipe 1

Variabel	p	r
Usia	0.087	0.274
Jenis Kelamin	0.000	0.566
Lama DM	0.115	-0.253
Status Gizi	0.719	0.059
HbA1c	0.169	0.155
Hemoglobin	0.409	0.134
Lekosit	0.750	0.052
Trombosit	0.765	0.049
Ureum	0.831	0.035
Kreatinin	0.372	0.145
CRP	0.777	0.046
Kolesterol Total	0.666	-0.049
Trigliserida	0.807	0.040
LDL	0.570	-0.065
HDL	0.684	-0.046



5.8 Analisis Bivariat Berbagai Data Penelitian

Tabel 5.10 Hasil Analisis Bivariat Data Penelitian pada Anak DM tipe 1

		25(OH)D	Lama Sakit	HbA1c	Kolesterol Total	LDL	HDL	CIMT CCA	CIMT BULBUS	CIMT ICA	Total CIMT	DIAMETER DASAR	DIAMETER PUNCAK	%FMD
Kadar 25(OH)D	Correlation Coefficient	1.000	-.253	.155	-.049	-.065	-.046	.043	.051	-.008	.019	.288**	.258*	.001
	Sig. (2-tailed)	.	.115	.169	.666	.570	.684	.704	.653	.942	.870	.010	.021	.993
	N	80	40	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80
Lama Sakit	Correlation Coefficient	-.253	1.000	-.067	.037	.041	.112	.190	.166	-.026	.134	.349*	.393*	.115
	Sig. (2-tailed)	.115	.	.681	.821	.802	.493	.240	.305	.875	.409	.027	.012	.478
	N	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40
HbA1c	Correlation Coefficient	.155	-.067	1.000	.462**	.410**	.280*	.383**	.419**	.296**	.441**	-.198	-.323**	-.073
	Sig. (2-tailed)	.169	.681	.	.000	.000	.012	.000	.000	.008	.000	.078	.003	.518
	N	80	40	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80
Kolesterol Total	Correlation Coefficient	-.049	.037	.462**	1.000	.946**	.676**	.136	.122	.235*	.194	-.186	-.260*	-.105
	Sig. (2-tailed)	.666	.821	.000	.	.000	.000	.229	.283	.036	.084	.098	.020	.353
	N	80	40	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80
LDL	Correlation Coefficient	-.065	.041	.410**	.946**	1.000	.489**	.161	.109	.218	.197	-.221*	-.279*	-.059
	Sig. (2-tailed)	.570	.802	.000	.000	.	.000	.154	.336	.052	.081	.048	.012	.606
	N	80	40	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80
HDL	Correlation Coefficient	-.046	.112	.280*	.676**	.489**	1.000	.029	.019	.151	.073	-.182	-.155	-.099
	Sig. (2-tailed)	.684	.493	.012	.000	.000	.	.797	.870	.180	.519	.106	.170	.385
	N	80	40	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80
Total CIMT	Correlation Coe	.019	.134	.441**	.194	.197	.073	.882**	.872**	.777**	1.000	-.037	-.075	-.042
	Sig. (2-tailed)	.870	.409	.000	.084	.081	.519	.000	.000	.000	.	.744	.509	.709
	N	80	40	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80

BAB 6

PEMBAHASAN

Pada hasil penelitian didapatkan 80 subjek penelitian yang terbagi dalam dua kelompok, yaitu 40 subjek DM tipe 1 dan 40 subjek kelompok kontrol. Pada karakteristik data didapatkan rentang usia 10-18 tahun dengan rerata usia 14 tahun. Hal ini sesuai dengan data epidemiologi pada penelitian Katsarou *et al.* (2018) yaitu jenis diabetes melitus tipe 1 paling banyak terjadi pertama kali pada usia < 15 tahun dengan puncak insiden terjadi pada usia 12-14 tahun. Distribusi jenis kelamin pada penelitian ini menunjukkan anak perempuan lebih banyak dibandingkan dengan anak laki-laki. Berdasarkan data Ikatan Dokter Anak Indonesia (IDAI) insiden DM tipe 1 pada anak dan remaja tahun 2003-2009 menunjukkan pada kelompok usia 10-14 tahun dengan proporsi perempuan dengan DM tipe 1 (60%) lebih tinggi dibandingkan laki-laki (28,6%) (Pulungan *et al.* 2019). Puncak kejadian DM tipe 1 sebelum pubertas lebih tinggi pada anak perempuan dibandingkan anak laki-laki, tetapi setelah pubertas tingkat kejadian pada anak perempuan akan menurun (Katsarou *et al.*, 2018).

Hasil pemeriksaan antropometri status gizi menunjukkan bahwa sebagian besar kelompok pasien DM tipe 1 berada pada kondisi gizi baik dan rata-rata lama sakit 4.75 ± 1.33 tahun. Pada pemeriksaan HbA1c kelompok pasien DM tipe 1 didapatkan hasil kontrol metabolik yang buruk dengan kadar HbA1c $\geq 6.5\%$ sebanyak 37 pasien (92.5%) sedangkan kontrol metabolik yang baik < 6.5% hanya 3 pasien (7,5%). Pemeriksaan HbA1c digunakan untuk menggambarkan konsentrasi gula darah selama 6-12 minggu terakhir. HbA1c merupakan penanda utama kontrol glikemik jangka panjang sehingga merupakan prediktor yang sangat

baik terjadinya komplikasi (Katsarou *et al.*, 2018). Pada penelitian ini didapatkan rerata kadar HbA1c pada anak DM tipe 1 sebesar 9.55 ± 2.02 dan pada kontrol sebesar 4.72 ± 0.24 , sehingga didapatkan perbedaan bermakna antara kedua kelompok dengan tingkat kemaknaan $p=0.000$. Mean kadar HbA1c ini menunjukkan kontrol metabolik pada pasien DM tipe 1 yang tidak baik. Hal ini dihubungkan dengan usia subjek adalah usia pubertas dimana usia ini berhubungan dengan memburuknya kontrol metabolik akibat perubahan hormonal yang menyebabkan resistensi insulin, perubahan pola makan dan aktivitas fisis, kepatuhan terapi yang buruk, dan seringnya remaja melakukan berbagai perilaku yang membahayakan (Court *et al.*, 2014).

Hasil pemeriksaan profil lipid yaitu kolesterol total menunjukkan hasil rerata pada kelompok DM tipe 1 lebih tinggi bermakna dibandingkan dengan kelompok kontrol. Hasil rerata LDL kelompok DM tipe 1 juga lebih tinggi bermakna dibandingkan dengan kelompok kontrol. Namun rerata HDL pada kelompok DM tipe 1 lebih tinggi bermakna dibandingkan pada kelompok kontrol. Diketahui bahwa kadar kolesterol total dan LDL pada pasien DM tipe 1 lebih tinggi dibandingkan dengan subjek sehat (Katakami, 2018). Penelitian lain yang dilakukan oleh Sabri *et al.* (2018) juga menyebutkan bahwa kadar kolesterol, trigliserid dan LDL pada kelompok DM tipe 1 lebih tinggi secara signifikan dibandingkan dengan kontrol pasien sehat. Kontrol glikemik yang buruk dihubungkan dengan kolesterol dan lipid yang lebih tinggi pada pasien DM tipe 1. Insulin memainkan peran penting dalam regulasi metabolisme lipid. Dalam jaringan adiposa insulin menghambat hormon lipase sehingga insulin memiliki aksi antilipolitik, mengakibatkan penyimpanan trigliserida dalam adiposa dan mengurangi pelepasan asam lemak bebas dari jaringan adiposa dalam sirkulasi.

Insulin juga menghambat produksi VLDL dari hati, menurunkan produksi VLDL dengan mengurangi asam lemak bebas yang bersirkulasi sehingga mengurangi kadar kolesterol dan trigliserida plasma. Pasien dengan diabetes tipe 1 yang telah diterapi dapat menunjukkan gangguan lipid tergantung dari kualitas terapi. Kadar kolesterol dan LDL juga meningkat seiring dengan semakin lamanya terdiagnosis penyakit DM tipe 1 (Verges, 2011).

Pada kasus DM tipe 1 dengan kontrol glikemik yang buruk atau suboptimal, terjadi defisiensi insulin relatif sehingga mengakibatkan peningkatan asam lemak bebas di sirkulasi sehingga terjadi peningkatan produksi VLDL, LDL dan kolesterol.

Sedangkan pada pasien diabetes tipe 1 yang terkontrol dengan baik, profil lipid sama sekali berbeda dibandingkan dengan diabetes tipe 1 yang tidak terkontrol.

Pemberian insulin subkutan yang teratur akan membuat kadar insulin di perifer optimal sehingga terjadi peningkatan aktivitas lipoprotein lipase yang mengakibatkan penurunan produksi kolesterol, trigliserida, VLDL, dan LDL serta kadar HDL plasma normal atau sedikit meningkat (Verges, 2011). Hal ini dapat menjelaskan perbedaan hasil kolesterol dan LDL dalam penelitian ini yang berbeda bermakna antara kelompok DM tipe 1 dan kelompok kontrol sedangkan kadar trigliserida berbeda tetapi tidak bermakna dan HDL pada kelompok DM tipe 1 lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol.

Sumber utama vitamin D berasal dari aktivasi paparan sinar matahari dan sumber lain berasal dari makanan serta suplemen. Berbagai penelitian baik di negara subtropis maupun tropis menunjukkan prevalensi kekurangan vitamin D yang cukup tinggi. Di Indonesia masih sangat terbatas informasi tentang status vitamin D baik pada anak maupun pada orang dewasa (Ernawati & Budiman, 2015). Hasil penelitian Soesanti (2013) menunjukkan bahwa 75.8% anak usia 7-

12 tahun mempunyai kadar vitamin D dengan kategori insufisiensi dan 15% dengan kategori defisiensi.

Hasil penelitian ini menunjukkan rata-rata kadar vitamin D (25(OH)D) pada pasien DM tipe 1 lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol. Kadar vitamin D pada pasien DM tipe 1 dengan kontrol sehat tidak memiliki perbedaan yang bermakna.

Subjek dari kelompok DM tipe 1 yang mengalami defisiensi vitamin D sebanyak 37 pasien (92.5%) dan yang mengalami insufisiensi sebanyak 3 pasien (7.5%).

Sedangkan dari kelompok kontrol sehat yang mengalami defisiensi vitamin D sebanyak 38 anak (95%) dan yang mengalami insufisiensi sebanyak 2 anak (5%).

Berbeda dari penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Wibisono (2015) yang menyimpulkan bahwa kadar vitamin D pada DM tipe 1 secara signifikan lebih rendah dibandingkan dengan kelompok kontrol sehat. Begitu pula dengan penelitian Wulandari (2018) yang menunjukkan rata-rata kadar vitamin D pasien DM tipe 1 lebih rendah dibanding kontrol. Pada penelitian ini menunjukkan hasil yang sebaliknya dengan kadar vitamin D pada kelompok DM tipe 1 lebih tinggi dibanding kontrol. Hal ini dapat dijelaskan bahwa kadar vitamin D dipengaruhi oleh berbagai faktor, antara lain rendahnya asupan sumber vitamin D, kecenderungan mengurangi bahan makanan tinggi lemak yang berakibat rendahnya serapan vitamin D, meningkatnya penggunaan tabir surya dan kurang terpajannya sinar matahari karena banyaknya kegiatan di dalam ruangan (Ernawati & Budiman, 2015).

Walaupun pada penelitian ini tidak diteliti faktor-faktor yang mempengaruhi kadar vitamin D di dalam tubuh namun secara teori usia subjek penelitian 10-18 tahun merupakan usia sekolah dengan kesempatan aktivitas di luar ruangan mulai berkurang sehingga paparan dengan sinar matahari sangat terbatas terutama

pada kelompok kontrol dimana tipe pakaian mempengaruhi paparan sinar matahari terhadap kulit, rendahnya kandungan vitamin D pada makanan yang dikonsumsi terutama jajanan anak sekolah yaitu makanan ringan. Selain itu pada kelompok kontrol sebagian besar berada pada lingkungan asrama dimana asupan gizi pada makanan sehari-hari tidak terpantau dan cenderung rendah kadar vitamin D. Letak geografis (ketinggian, musim, polusi udara, densitas awan, letak lintang) juga sangat mempengaruhi kecukupan vitamin D (Soesanti *et al.*, 2013).

Pasien diabetes melitus tipe 1 sangat berisiko terjadi komplikasi kardiovaskular. Pengukuran ketebalan intima-media/*intima-media thickness* (IMT) pada arteri besar terutama arteri karotis merupakan metode pilihan untuk menentukan adanya disfungsi endotel dan kerusakan anatomi dinding arteri sehingga dapat menilai risiko adanya penyakit kardiovaskular dimasa yang akan datang (Margeirsdottir *et al.*, 2010; Sherief *et al.*, 2017). Pada penelitian ini diukur CIMT pada 3 daerah yang berbeda yaitu pada *common carotid artery* (CCA), *bulbus carotid artery*, dan *internal carotid artery* (ICA) yang diperiksa pada arteri karotis kanan dan kiri. Hasil pengukuran CIMT pada penelitian ini yaitu didapatkan hasil CIMT pada kelompok DM tipe 1 yang lebih tebal bermakna dibandingkan dengan kelompok kontrol pada CCA, *bulbus*, dan ICA maupun total CIMT.

Pada penelitian ini menunjukkan bahwa anak-anak dengan diabetes melitus tipe 1 terdapat peningkatan ketebalan CIMT arteri karotis. Hal ini konsisten dengan dengan hipotesis bahwa kerusakan anatomi dinding arteri yang ditandai dengan penebalan intima media dinding arteri merupakan tahapan awal terjadinya aterosklerosis. Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Dalla *et al.* (2007) yang menyimpulkan bahwa hasil CIMT pada anak dan remaja dengan DM tipe 1 meningkat dibandingkan dengan subjek kontrol. Margeirsdottir

et al. (2010) melakukan penelitian pada anak-anak dan remaja diabetes melitus tipe 1 untuk deteksi fase awal aterosklerosis dan faktor-faktor predisposisi yang mempengaruhi dibandingkan dengan subyek kontrol berdasarkan usia dan jenis kelamin dengan usia subjek 8-18 tahun. Penelitian tersebut menyimpulkan bahwa CIMT pada pasien DM tipe 1 lebih tinggi bermakna dibanding kontrol dengan rata-rata CIMT pada pasien laki-laki 0.46 ± 0.06 dan kontrol 0.44 ± 0.05 ($p=0.04$) tetapi tidak bermakna pada pasien perempuan. Atwa *et al.* (2018) juga meneliti pasien DM tipe 1 dengan rata-rata usia 12 tahun menyebutkan bahwa pasien dengan DM tipe 1 menunjukkan CIMT yang lebih tinggi dengan mean 0.597 ± 0.07 mm dibanding kontrol dengan hasil 0.42 ± 0.045 mm.

Pengukuran ketebalan intima-media pada arteri karotis menggunakan ultrasonografi *duplex ultrasound* (DUS) B-mode yang memiliki keunggulan tidak invasif, aman, cepat dan mudah untuk diulang, sederhana dan menggambarkan struktur dinding arteri dengan resolusi yang lebih baik dibandingkan MRI dan teknik radiografi lain. Kelemahan dari teknik ini adalah tergantung dari skill dan pengalaman pemeriksa serta sulit untuk dilakukan di lokasi pembuluh darah selain arteri karotis. Sebagian besar penelitian CIMT memeriksa pada bagian *common carotid artery* dimana pada arteri ini tahap-tahap terjadinya aterosklerosis lebih jelas terlihat dibandingkan pada bagian *bulbus artery* dan *internal carotid artery*.

Nilai standar normal CIMT sampai saat ini belum tersedia. Hal ini disebabkan karena nilai CIMT dipengaruhi oleh perbedaan karakteristik populasi berbagai negara dan berhubungan dengan berbagai faktor risiko kardiovaskular. Sebagian besar penelitian membandingkan hasil CIMT anak-anak dengan populasi dewasa. (Touboul *et al.*, 2012; Baroncini *et al.*, 2016).

Pada hasil uji korelasi antara kadar vitamin D dengan hasil CIMT arteri karotis disimpulkan bahwa tidak ada hubungan yang signifikan antara kadar vitamin D dengan hasil CIMT baik pada CCA, bulbus, ICA maupun rata-rata total CIMT pasien diabetes melitus tipe 1. Hal ini tidak membuktikan hipotesis pada penelitian ini bahwa rendahnya kadar vitamin D pada pasien DM tipe 1 akan meningkatkan risiko terjadinya aterosklerosis subklinis yang ditandai dengan peningkatan ketebalan intima-media melalui pemeriksaan CIMT arteri karotis.

Data saat ini yang mengevaluasi hubungan vitamin D dengan ketebalan intima-media arteri karotis pasien diabetes melitus tipe 1 masih sangat terbatas.

Penelitian di Indonesia yang mengukur CIMT pada pasien anak diabetes melitus tipe 1 juga belum pernah dilakukan. Sebagian besar penelitian yang mengukur CIMT yang dihubungkan dengan vitamin D pada pasien diabetes melitus tipe 1 dilakukan pada usia dewasa. Penelitian yang dilakukan Sachs *et al.* (2013) pada pasien dewasa diabetes melitus tipe 1 menyimpulkan tidak ada hubungan antara gangguan metabolisme vitamin D dengan IMT yang diukur di kedua lokasi yaitu CCA dan ICA.

Penelitian yang dilakukan oleh Taskiran *et al.* (2017) yang meneliti tentang kadar vitamin D dengan ketebalan intima media pada pasien DM tipe 1 dengan rata-rata kadar vitamin D 15.9 ng/ml menyimpulkan bahwa defisiensi vitamin D tidak berhubungan dengan IMT, walaupun terdapat peningkatan IMT berhubungan dengan usia, lama sakit DM, kreatinin, LDL dan gizi lebih/obesitas. Defisiensi vitamin D pada pasien DM tipe 1 berhubungan dengan kejadian insulin resistensi, letak suatu daerah terhadap garis lintang, genetik dan polimorfisme VDR (Kassi *et al.*, 2013). Defisiensi vitamin D akan menyebabkan peningkatan marker inflamasi

pada penderita diabetes termasuk CRP, IL-6, TNF- α , IL-17, monocyte-like

receptor (TLR)2, TLR4, dan ekspresi *nuclear factor- κ B* (NF κ B) dan diprediksi akan meningkatkan komplikasi mikrovaskuler maupun makrovaskuler. Namun, tidak ada perbedaan yang signifikan secara statistik kadar vitamin D pada penderita diabetes melitus tipe 1 dengan komplikasi mikrovaskular dibandingkan dengan kontrol sehat (Chakhtoura, 2013).

Flow-mediated dilation (FMD) merupakan pemeriksaan noninvasif di arteri brakialis dengan menggunakan prinsip hiperemia reaktif setelah stimulasi dengan membuat iskemia singkat pada lengan dengan mengevaluasi persentase peningkatan diameter arteri brakialis (FMD%). Persentase FMD arteri brakialis akan terganggu pada pasien dengan faktor risiko penyakit kardiovaskular atau aterosklerosis koroner. Hiperemia reaktif menunjukkan terjadinya dilatasi oleh vasodilator termasuk nitrit oksida pada pembuluh darah setelah mengalami resistensi yang diinduksi oleh iskemia. Beberapa penelitian menunjukkan penurunan hiperemia reaktif pada pasien dengan risiko penyakit kardiovaskular (Mitchell GF *et al.*, 2004).

Pada penelitian ini diukur diameter dasar dan diameter puncak arteri brakialis serta dihitung persentase FMD. Hasil pengukuran pada penelitian ini didapatkan diameter dasar pada kelompok DM tipe 1 lebih kecil dibandingkan dengan kelompok kontrol tetapi perbedaan ini secara statistik tidak bermakna. Sedangkan diameter puncak arteri brakialis kelompok DM tipe 1 lebih kecil bermakna dibandingkan kelompok kontrol. Persentase FMD juga tidak berbeda bermakna antara kelompok DM tipe 1 dengan kelompok kontrol.

Pada penelitian ini menunjukkan bahwa anak dengan DM tipe 1 terdapat penurunan elastisitas bermakna dari pembuluh darah arteri brakialis ditandai dengan penurunan diameter puncak setelah stimulasi. Tetapi pemeriksaan FMD

pada penelitian ini menunjukkan hasil yang tidak berbeda bermakna antara kelompok DM tipe 1 dengan kelompok kontrol. Hal ini berlawanan dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Jarvisalo *et al.* (2004) yang memeriksa FMD pada anak DM tipe 1 dibandingkan dengan kontrol dengan rata-rata usia subjek 11 tahun memberikan hasil terjadi penurunan FMD yang menunjukkan ada disfungsi endotel sebagai tahap awal terjadinya aterosklerosis pada kelompok DM tipe 1. Atwa *et al.* (2018) juga meneliti pasien DM tipe 1 dengan rata-rata usia 12 tahun menyebutkan bahwa pasien dengan DM tipe 1 menunjukkan hasil FMD yang lebih rendah bermakna dibandingkan dengan kontrol.

Pengukuran fungsi elastisitas arteri menggunakan FMD memiliki keuntungan tidak invasif, mudah diulang dan diaplikasikan dan menggambarkan fungsi elastisitas pembuluh darah. Keterbatasan pemeriksaan ini sangat dipengaruhi oleh kondisi individu dan ritme sirkadian seseorang sehingga terdapat variasi sebesar 25% pada hari yang berbeda pada diameter arteri. Meskipun arteri brakialis merupakan lokasi yang paling sering untuk dilakukan pemeriksaan FMD tetapi arteri radialis, aksilaris dan arteri superfisial juga dapat digunakan untuk tempat pengukuran, namun FMD sulit dilakukan pada arteri yang berdiameter kurang dari 2,5 mm dan hiperemia serta vasodilatasi kurang jelas di arteri dengan diameter lebih besar dari 5 mm (Korkmaz & Onalan, 2008).

Pemeriksaan ini juga membutuhkan sonografer yang terampil dan *skill* pemeriksa akan mempengaruhi hasil pemeriksaan. Kestabilan dalam menjaga kestabilan *probe* USG juga mempengaruhi pemeriksaan. (Raitakari & Celermajer, 2000).

FMD juga sangat dipengaruhi oleh *shear stress* yang dihasilkan oleh stimulus hiperemia sehingga stimulus yang diberikan harus konsisten (Inoue *et al.*, 2008).

Pada hasil uji korelasi antara kadar vitamin D dengan hasil FMD arteri brakialis disimpulkan bahwa tidak ada hubungan yang signifikan ($p > 0.05$; $p=0.993$) antara kadar vitamin D dengan hasil FMD pasien diabetes melitus tipe 1. Hal ini tidak membuktikan hipotesis pada penelitian ini bahwa rendahnya kadar vitamin D pada pasien DM tipe 1 akan meningkatkan risiko terjadinya aterosklerosis subklinis yang ditandai dengan penurunan fungsi arteri melalui penurunan persentase FMD arteri brakialis.

Data saat ini yang mengevaluasi hubungan vitamin D dengan penurunan fungsi elastisitas melalui pemeriksaan FMD arteri brakialis pasien diabetes melitus tipe 1 masih sangat terbatas. Penelitian di Indonesia yang mengukur FMD pada pasien anak diabetes melitus tipe 1 juga belum pernah dilakukan. Penelitian yang dilakukan Ashraf *et al.* (2014) yang meneliti hubungan antara kadar vitamin D (rerata vitamin D 14.8 ng/ml) dengan hasil FMD pada anak usia rata-rata 15 tahun menyimpulkan bahwa kadar vitamin D berhubungan dengan kekakuan arteri pada anak remaja tetapi tidak berhubungan bermakna dengan hasil FMD. Hal ini sesuai dengan penelitian ini yang ditunjukkan dengan penurunan bermakna diameter puncak pada kelompok DM tipe 1 tetapi hasil FMD tidak menunjukkan perbedaan dan hubungan yang bermakna dengan kadar vitamin D.

Pasien dengan diabetes tipe 1 yang telah diterapi dapat menunjukkan gangguan lipid secara kuantitatif. Telah ditunjukkan bahwa kadar lipid yang abnormal pada diabetes tipe 1 akan mengakibatkan risiko penyakit kardiovaskular yang lebih buruk. Kadar HbA1c berkorelasi positif dengan kadar kolesterol dan LDL, dimana semakin tinggi kadar HbA1c, kolesterol total dan LDL yang menunjukkan kontrol glikemik yang buruk berhubungan dengan hasil CIMT dan diameter puncak pada hasil FMD. Diameter puncak juga semakin menurun

dengan semakin lamanya DM tipe 1. Dalam sebuah penelitian Schwab *et al.* (2009) kolesterol total, trigliserida, dan HDL berkorelasi positif dengan HbA1c.

Hipertrigliseridemia ini disebabkan oleh peningkatan produksi VLDL, disebabkan oleh peningkatan asam lemak bebas sekunder yang bersirkulasi akibat defisiensi insulin relatif.

Penelitian ini adalah penelitian pendahuluan untuk mengetahui pengaruh vitamin D terhadap komplikasi makrovaskuler berupa aterosklerosis pada anak dengan DM tipe 1. Kekuatan penelitian ini yaitu pengukuran dua parameter aterosklerosis subklinis yaitu pemeriksaan CIMT untuk mengukur anatomi dari pembuluh darah berupa ketebalan intima media dan FMD untuk mengukur fungsi elastisitas dari pembuluh darah.

Keterbatasan penelitian ini yaitu pemeriksaan CIMT dan FMD oleh lebih dari satu pemeriksa sehingga mempengaruhi konsistensi pemeriksaan, belum ada nilai normal pemeriksaan CIMT dan FMD di Indonesia serta sampel kelompok kontrol yang diambil pada satu populasi tertentu yaitu di lingkungan satu sekolah dengan kebiasaan dan pola hidup yang sama. Adanya faktor-faktor yang mempengaruhi terjadinya aterosklerosis sehingga akan mempengaruhi hasil CIMT dan FMD yang tidak diteliti pada penelitian. Pola hidup, gaya berbusana, cakupan nutrisi subjek penelitian yang tidak diteliti juga mempengaruhi kadar vitamin D.

BAB 7**SIMPULAN DAN SARAN****7.1 Simpulan**

Dari hasil penelitian ini dapat diambil simpulan sebagai berikut:

1. Kadar vitamin D pada anak diabetes melitus tipe 1 lebih tinggi tidak bermakna dibandingkan dengan kelompok kontrol
2. Hasil CIMT anak diabetes melitus tipe 1 lebih tinggi bermakna dibandingkan dengan kelompok kontrol
3. Hasil FMD anak diabetes melitus tipe 1 lebih rendah tidak bermakna dibandingkan dengan kelompok kontrol
4. Tidak terdapat hubungan yang bermakna antara kadar vitamin D dengan hasil CIMT pada anak DM tipe 1
5. Tidak terdapat hubungan yang bermakna antara kadar vitamin D dengan hasil FMD pada anak DM tipe 1

7.2 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lanjutan dengan pemeriksaan CIMT dan FMD oleh satu pemeriksa
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan pemeriksaan CIMT dan FMD pada anak normal dengan jumlah subjek yang lebih besar sehingga didapatkan nilai normal standar CIMT dan FMD pada anak normal
3. Perlu dilakukan penelitian lanjutan dengan memperhatikan faktor genetik yang terkait dengan defisiensi vitamin D dan faktor-faktor yang mempengaruhi kadar vitamin D seperti riwayat nutrisi yang mengandung vitamin D, gaya busana, pola aktivitas di luar ruangan, lama paparan dengan sinar matahari.

4. Perlu dilakukan penelitian lanjutan dengan sampel kelompok kontrol yang diambil secara acak

5. Perlu dilakukan penelitian lanjutan dengan memperhatikan faktor-faktor lain yang mempengaruhi terjadinya aterosklerosis pada anak DM tipe 1 seperti kepatuhan terapi insulin, pola makan, tekanan darah, pola aktivitas sehari-hari, polusi dan merokok.

6. Perlu dilakukan penelitian lanjutan yang menghubungkan sitokin yang mempengaruhi aterosklerosis pada anak DM tipe 1 seperti interleukin 17, interferon gama, dan interleukin 10.



DAFTAR PUSTAKA

- Aguilera E, Serra-Planas E, Granada ML, Alonso N, Pellitero S, Pizarro E, Reverter JL, Salinas I, Soldevila B, Mauricio D, Puig-Domingo M. 2014. Low prevalence of subclinical atherosclerosis in asymptomatic patients with type 1 diabetes in a European Mediterranean population. *Diabetes Care*. 37: 814-20.
- Alemzadeh R, Kichler J, Babar G, Calhoun M. 2008. Hypovitaminosis D in obese children and adolescents: relationship with adiposity, insulin sensitivity, ethnicity, and season. *Metabolism*. 57: 183-91.
- American Diabetes Association. 2019. Classification and diagnosis of diabetes: standards of medical care in diabetes. *Diabetes Care*. 42: 13-28.
- Ashraf AP, Alvarez JA, Dudenbostel T, Calhoun D, Griffin R, Wang X, Hanks LJ, Gower BA. 2014. Association between vascular health indices and serum total, free and bioavailable 25-hydroxyvitamin D in adolescents. *Plos One*. 10: 1-15.
- Ashrafian H. 2007. Anatomically specific clinical examination of the carotid arterial tree. *Anatomical Science International*. 82: 16-23.
- Atwa HO, Shora HA, Elsayed A. 2018. Hormonal, metabolic and radiological markers of subclinical atherosclerosis in egyptian children with type 1 diabetes. *Rep Endocr Disord*. 2: 1-5.
- Baroncini LA, Sylvestre LC, Filho RP. 2016. Assessment of intima-media thickness in healthy children aged 1 to 15 years. *Arq Bras Cardiol*. 4: 327-32.
- Beckman JA, Creager MA, Libby P. 2002. Diabetes and Atherosclerosis Epidemiology, Pathophysiology, and Management. *JAMA*. 287: 2570-81.
- Biorad. 2010. Kit insert D-10 Hemoglobin A_{1c} program instruction manual USA. Bio-rad Laboratories.
- Bluestone JA, Herold K, Eisenbarth G. 2011. Genetics, pathogenesis and clinical interventions in type 1 diabetes. *Nature*. 464: 1293-300.
- Brown RB & Razzaque MS. 2015. Dysregulation of phosphate metabolism and conditions associated with phosphate toxicity. *Bonekey Rep*. 4: 705-7.
- Cardwell CR, Stene LC, Joner G, Bulsara MK, Cinek O, Rosenbauer J, et al. 2010. Maternal age at birth and childhood type 1 diabetes: a pooled analysis of 30 observational studies. *Diabetes*. 59: 486-94.
- Chakhtoura M & Azar ST. 2013. The role of vitamin D deficiency in the incidence, progression, and complications of type 1 diabetes mellitus. *Int J Endocrinol*. 10: 1-10.

Chen S, Sims GP, Chen XX, Gu YY, Lipsky PE. 2007. Modulatory Effects of 1,25-Dihydroxyvitamin D3 on Human B Cell Differentiation. *J Immunology*. 179: 1634-47.

Cisneros C, Thompson T, Baluyot N, Smith AC, Tapavicza E. 2017. The role of tachysterol in vitamin D photosynthesis, a non-adiabatic molecular dynamics study. *Phys Chem Phys*. 19: 5763-77.

Christakos S, Dhawan P, Verstuyf A, Verlinden L, Carmeliet G. 2016. Vitamin D: metabolism, molecular mechanism of action, and pleiotropic effects. *Physiol Rev*. 96: 365-408.

Christakos S. 2017. In search of regulatory circuits that control the biological activity of vitamin D. *J Biol Chem*. 292:17559-60.

Court J, Cameron F, Berg-Kelly K, Swift P. 2014. Diabetes in adolescence. *Pediatric Diabetes*. 15: 77-85.

Dalla PR, Bechtold S, Bonfig W. 2007. Age of onset of type 1 diabetes in children and carotid intima medial thickness. *J Clin Endocrinol Metab*. 92: 2053-7.

Deeb KK, Trump DL, Johnson CS. 2007. Vitamin D signalling pathways in cancer: potential for anticancer therapeutics. *Nat Rev Cancer*. 9: 684-700.

De Luca HF. 2016. Vitamin D: Historical overview. *Vitamins and Hormones*. 100: 1-20.

Eckel RH & Hokanson JE. 2016. The prediction of atherosclerotic cardiovascular disease in type 1 diabetes mellitus. Do we just stop here?. *Circulation*. 133: 1051-3.

Ernawati F & Budiman B. 2015. Status vitamin D terkini anak Indonesia usia 2-12.9 tahun. *Gizi Indon*. 38: 73-80.

Ferranti SD, Boer IH, Fonseca V, Fox CS, Golden SH, Lavie CJ, Magge SN, Marx N, McGuire DK, Orchard TJ, Zinman B, Eckel RH. 2014. Type 1 diabetes mellitus and cardiovascular disease: A scientific statement from the American Heart Association (AHA) and American Diabetes Association (ADA). *Diabetes Care*. 37: 2843-63.

Feng R, Li Y, Li G. 2015. Lower serum 25(OH)D concentrations in type 1 diabetes: a meta-analysis. *Diabetes Res Clin Pract*. 3: 71-5.

Ford ES, Ajani UA, McGuire LC, Simin L. 2005. Concentrations of Serum vitamin D and the metabolic syndrome among US adults. *Diabetes Care*. 28: 5-10.

Gallagher EJ, Bloomgarden ZT, Le Roith D. 2009. Review of hemoglobin A1c in the management of diabetes. *J Diabetes*. 1: 9-17.

Gil A, Plaza-diaz J, Mesa MD. 2018. Vitamin D: classic and novel actions. *Ann Nutr Metab*. 72:87-95.

Gillespie KM. 2006. Type 1 diabetes: pathogenesis and prevention. *Can Med Assoc J.* 175:165-70.

Ginanjari E, Sumariyono, Setiati S, Setiyohadi B. 2007. Vitamin D and Autoimmune Disease. *Acta Med Indones-Indones J Intern Med.* 39: 133-41.

Harris RA, Nishiyama SK, Wray DW, Richardson RS. 2010. Ultrasound assessment of flow-mediated dilation: a tutorial. *Hypertension.* 5: 1075-85.

Harjutsalo V, Maric C, Forsblom C. 2011. Sex-related differences in the long-term risk of microvascular complications by age at onset of type 1 diabetes. *Diabetologia.* 54: 1992-9.

Hewison M. 2010. Vitamin D and the immune system : new perspective on an old theme. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 39: 365-79.

Hollick M. 2010. Vitamin D, Second Edition: Physiology, Molecular Biology, and Clinical Application. Springer, New York. hal. 35-60

Ibanez B, Badimon JJ, Garcia MJ. 2009. Diagnosis of Atherosclerosis by Imaging. *Am J Med Sci.* 122: 15-25.

Iqbal A, Novodvorsky P, Heller SR. 2018. Recent updates on type 1 diabetes mellitus management for clinicians. *Diabetes Metab J.* 42: 3-18.

Jarvisalo MJ, Raitakari M, Toikka JO, PuttopLaurila A, Rontu R, Laine S, Lehtimaki T, Ronnema, Viikari J, Raitakari OT. 2004. Endothelial dysfunction and increased arterial intima-media thickness in children with type 1 diabetes. *Circulation.* 109: 1750-5.

Jeker LT, Bour-Jourdan H, Bluestone JA. 2012. Breakdown in peripheral tolerance in type 1 diabetes in mice and humans. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2: 1-20.

Jones G. 2008. Pharmacokinetics of vitamin D toxicity. *Am J Clin Nutr.* 88: 582-6.

Kakadiya J. 2009. Causes, symptoms, pathophysiology and diagnosis of atherosclerosis a review. *Pharmacologyonline.* 3: 420-42.

Katakami N. 2018. Mechanism of Development of Atherosclerosis and Cardiovascular Disease in Diabetes Mellitus. *J Atheroscler Thromb.* 25: 27-39.

Kassi E, Adamopoulos C, Basdra EK, Papavassiliou AG. 2013. Role of vitamin D in atherosclerosis. *Circulation.* 128: 2517-31.

Katsarou A, Gudbjörnsdottir S, Rawshani A, Dabelea D, Bonifacio E, Anderson BJ, Jacobsen LM, Schatz DA, Lernmark A. 2017. Type 1 diabetes mellitus. *Nat Rev Dis Primer.* 3: 1-17.

Khadori R & Pauza ME. 2003. Type 1 diabetes mellitus: pathogenesis and advances in therapy. *Int J Diab Dev Countries.* 23: 106-19.

Kilpatrick, Eric S, Bloomgarden ZT, Zimmet PZ. 2009. *Report on the Role of the A1c Assay in the Diagnosis of Diabetes*. *Diabetes Care*. 32; 1327-34.

Korkmaz H & Onalan O. 2008. Evaluation of endothelial dysfunction: flow-mediated dilation. *Endothelium*. 15:157-63.

Libby P. 2002. Inflammation in atherosclerosis. *Nature*. 420: 868-4.

Mageed L. 2018. Coronary artery disease: pathogenesis, progression of atherosclerosis and risk factors. *Open J Cardiol Heart Dis*. 2: 1-7.

Mallone R & Brezar V. 2011. To B or Not to B: (Anti)bodies of evidence on the crime scene of type 1 diabetes?. *Diabetes*. 60: 2020-22.

Margeirsdottir HD, Stensaeth KH, Larsen JR, Brunborg C, Dahl-jorgensen K. 2010. Early signs of atherosclerosis in diabetic children on intensive insulin treatment. *Diabetes Care*. 33: 2043-8.

Mathieu C. 2011. Vitamin D and the immune system: Getting it right. *BoneKEY Rep*. 8:178-86.

Mheid IA & Quyyumi AA. 2017. Vitamin D and Cardiovascular Disease. *J Am Coll Cardiol*. 1: 89-100.

Mulligan GB & Licata A. 2010. Taking vitamin D with the largest meal improves absorption and results in higher serum levels of 25-hydroxyvitamin D. *J Bone Miner Res*. 25: 928-930.

Ozougwu JC, Obimba K, Belonwu CD, Unakalamba CB. 2013. The pathogenesis and pathophysiology of type 1 and type 2 diabetes mellitus. *J Physiol Pathophysiol*. 4: 46-57.

Prieti B, Pilz S, Wolf M, Tomaschit A, Graninger W. 2010. Vitamin D Supplementation and Regulatory T Cells in apparently Healthy Subjects: Vitamin D Treatment for Autoimmune Diseases. *Isr Med Assoc J*. 12:136-9.

Pike JW, Meyer MB, Benkusky NA, Lee SM, John H, Carlson A. 2016. Genomic determinants of vitamin D regulated gene expression. *Vitam Horm*. 100: 21-45.

Perwad F & Portale AA. 2011. Vitamin D metabolism in the kidney: regulation by phosphorus and fibroblast growth factor 23. *Mol Cell Endocrinol* 347:17-24.

Pulungan AB, Annisa D, Imada S. 2019. Diabetes melitus tipe-1 pada anak: situasi di Indonesia dan tata laksana. *Sari Pediatri*. 20:392-400.

Raitakari OT & Celermajer DS. 2000. Flow-mediated dilatation. *Br J Clin Pharmacol*. 50, 397-404

Ranganathan P, Khalatbari S, Yalavarthi S, Marder W, Brook R, Kaplan MJ. 2013. Vitamin D deficiency, interleukin 17, and vascular function in rheumatoid arthritis. *J Rheumatol.* 40: 1-6.

Sabry R, Wakeel ME, Kassas GE, Amer AF, Batal WE, Zayat SR, Abou-El-Asrar M. 2018. Serum apelin: a new marker of early atherosclerosis in children with type 1 diabetes mellitus. *Maced J Med Sci.* 6: 613-7.

Sachs MC, Brunzell JD, Cleary PA, Hoofnagle AN, Lachin JM, Molitch ME, Steffes MW, Zinman B, Boer IH. 2013. Circulating vitamin d metabolites and subclinical atherosclerosis in type 1 diabetes. *Diabetes Care.* 36: 2423-9.

Sastroasmoro S. & Ismail S. 2008. Dasar-dasar metodologi penelitian klinis edisi III. Jakarta: CV Agung Seto

Savastano S, Barrea L, Savanelli MC, Nappi F, Di Somma C, Orio F. 2017. Low vitamin D status and obesity: role of nutritionist. *Rev Endocr Metab Disord.* 18: 215-25.

Seth-Vollenweider T, Joshi S, Dhawan P, Sif S, Christakos S. 2014. Novel mechanism of negative regulation of 1,25-dihydroxyvitamin D₃-induced 25-hydroxyvitamin D₃ 24-hydroxylase (Cyp24a1) transcription: epigenetic modification involving cross-talk between protein arginine methyltransferase 5 and the SWI/ SNF complex. *J Biol Chem.* 289: 33958-70.

Shepard CW & Steinberger J. 2015. Premature Atherosclerotic Cardiovascular Disease in Childhood Cancer Survivors. *Prog Pediatr Cardiol.* 39: 59-66.

Sherief LM, Dawood O, Ali A, Sherbiny HS, Kamal NM, Elshanshory M. 2017. Premature atherosclerosis in children with beta-thalassemia major: New diagnostic marker. *BMC Pediatr.* 17: 1-17.

Silva MC & Furlanetto TW. 2018. Intestinal absorption of vitamin D: a systematic review. *Nutr Rev.* 76:60-76.

Simova I. 2015. Intima-media thickness: appropriate evaluation and proper measurement, described. *ESC.* 13:1-6.

Soeatmadji DW, Aulanni'am, Fatah F, Sumitro SB. 2005. Detection of GAD65 autoantibodies of type-1 diabetes using anti-GAD65-abs reagent produced from bovine brain tissue. *Med J Indones.* 14: 197-203

Soesanti F, Pulungan A, Tridjaja B, Batubara JRL. 2013. Vitamin D profile in healthy children aged 7-12 years old in Indonesia. *Int J Pediatr Endocrinol.* 1:167-171.

Taskiran B, Cansu GB, Bahadir E, Mutluay R. 2017. Role of vitamin D in intima-media thickness in patients with type 1 diabetes mellitus. *JNMA.* 109: 14-20.

Tönnies T, Stahl-Pehe A, Baechle C, Castillo K, Kuss O, and Yossa R. 2018. Risk of microvascular complications and macrovascular risk factors in early-onset type 1 diabetes after at least 10 years duration: an analysis of three population-based cross-sectional surveys in Germany between 2009 and 2016. *Int J Endocrinol.* 10: 1-11.

Touboul PJ, Hennerici MG, Meairs S, Adams H, Amarencu P, Bornstein N, Csiba L, Dsvarieux M, Ebrahim S, Hernandez RH Jaff M, Kownator S, Naqvi T, Prati P, Rundek T, Sitzer M, Schminke U, Tardif JC, Taylor A, Vicaut E, Woo KS. 2012. Mannheim carotid intima-media thickness and plaque consensus (2004-2006-2011). *Cerebrovasc Dis.* 34: 290-6.

Toujani S, Kaabachi W, Mjid M, Hamzaoui K, Cherif J, Beji M. 2017. Vitamin D deficiency and interleukin-17 relationship in severe obstructive sleep apnea-hypopnea syndrome. *Ann Thorac Med.* 12: 107-13.

Urbina EM, Williams RV, Alpert BS, Collins RT, Daniels SR, Hayman L. 2009. Noninvasive assessment of subclinical atherosclerosis in children and adolescents: recommendations for standard assessment for clinical research: a scientific statement from the American heart association. *Hypertension.* 54: 919-50.

Verges B. 2011. Lipid disorders in type 1 diabetes In Liu C, (Ed), *Type 1 Diabetes: complication, pathogenesis and alternative treatments.* IntechOpen, Croatia, 2011: 45-60.

Wibisono W, Tjahjono HA, Wijayanto E. 2016. Hubungan kadar 25-hidroksi-vitamin D dengan HbA1c melalui interleukin-17 pada anak diabetes melitus tipe 1. *Sari Pediatri.* 17: 469-77.

Wulandari D. 2018. Hubungan kadar 25-hidroksi-vitamin D dengan HbA1c melalui interleukin-10 pada anak diabetes melitus tipe 1. Tugas Akhir. Tidak diterbitkan, Fakultas KEdokteran Universitas Brawijaya, Malang. 2018.

Yin JW & Wang G. 2014. The mediator complex: A master coordinator of transcription and cell lineage development. *Development.* 141: 977-87.