

## INTISARI

**Latar Belakang :** Diabetes mellitus (DM) merupakan faktor independen yang dapat menyebabkan kerusakan jaringan termasuk pada jaringan hepar. Diabetes mellitus mengakibatkan peningkatan *reactive oxygen species* (ROS) sehingga terjadi ketidakstabilan antara oksidan dan antioksidan serta menstimulasi aktivasi *hepatic stellate cell* (HSC) melalui sitokin profibrosis seperti TGF- $\beta$ 1 sehingga terjadi pembentukan fibrosis di hepar. Vitamin D memiliki efek protektif pada hepar melalui penghambatan inflamasi dan fibrosis. Namun kajian tentang efek vitamin D pada jalur fibrosis pada kerusakan hepar masih belum dikaji secara mendalam terutama pada aspek proteomik-transkriptomik.

**Tujuan :** Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji pengaruh vitamin D terhadap kadar *Alanin aminotransferase* (ALT) dan *Aspartate aminotransferase* (AST), fraksi area fibrosis, gambaran ekspresi protein  $\alpha$ -SMA, ekspresi mRNA SOD-1 dan TGF- $\beta$ 1 pada hepar tikus model diabetes mellitus.

**Metode :** Penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan *post-test only control group*. Subjek penelitian menggunakan 30 ekor tikus jantan galur Sprague dawley secara acak dibagi menjadi 6 kelompok. Hewan coba model diabetes mellitus dibuat dengan induksi streptozotocin (STZ) 60mg/kgbb dosis tunggal secara intraperitoneal selama 30 hari (DM-1, n=5) dan 60 hari (DM-2, n=5). Intervensi vitamin D diberikan secara intraperitoneal setiap hari selama 30 hari pada kelompok tikus yang sudah diinduksi STZ selama 1 bulan. Kelompok vitamin D dibagi menjadi 3 yaitu kelompok VD-0,125 $\mu$ g (n=5), kelompok VD-0,25 $\mu$ g (n=5), dan kelompok VD-0,5 $\mu$ g (n=5). Kelompok kontrol (n=5) diberikan injeksi NaCl 0,9% dosis tunggal. Sebelum dilakukan terminasi, sampel darah diambil melalui vena retro orbital, kemudian dilakukan terminasi dan diambil organ hepar, kemudian dilanjutkan dengan pemeriksaan fungsi hepar ALT dan AST menggunakan spektrofotometrik, fraksi area fibrosis dengan pewarnaan *sirius red*, gambaran miofibroblas menggunakan pemeriksaan imunohistokimia  $\alpha$ -SMA, ekspresi mRNA SOD-1 dan TGF- $\beta$ 1 menggunakan *Reverse Transcriptase-PCR*.

**Hasil :** Peningkatan kadar gula darah terjadi pada kelompok DM-1 dan DM-2 dibanding dengan kelompok kontrol. Kadar enzim ALT dan AST secara signifikan lebih rendah pada kelompok VD-0,5 dibanding dengan kelompok DM-2 ( $p<0.05$ ). Gambaran ekspresi protein  $\alpha$ -SMA lebih tinggi pada kelompok DM-2 bulan dan lebih rendah pada kelompok intervensi VD-0,5 $\mu$ g. Fraksi area fibrosis lebih rendah pada pada kelompok VD-0,25 $\mu$ g ( $p=0.035$ ) dan VD-0,5 $\mu$ g ( $p=0.001$ ) dibanding dengan kelompok DM-2. selanjutnya ekspresi TGF- $\beta$ 1 paling tinggi pada kelompok DM-2 dan lebih rendah pada kelompok VD-0,5 $\mu$ g dibanding dengan kelompok DM-2. Ekspresi SOD-1 lebih rendah pada kelompok DM-1 dan DM-2 dan lebih tinggi pada kelompok VD-0,25 $\mu$ g ( $p=0.001$ ) dan VD-0,5 $\mu$ g ( $p=0.000$ ) dibanding dengan kelompok DM-2.

**Kesimpulan :** Pemberian vitamin D dapat memberikan efek hepatoprotektif terhadap perbaikan fungsi hepar tikus model DM, dan kelompok dosis 0,5  $\mu$ g/kgbb memberikan efek lebih efektif terhadap perbaikan enzim ALT dan AST, ekspresi protein  $\alpha$ -SMA yang lebih rendah, fraksi area fibrosis yang lebih rendah, ekspresi mRNA SOD-1 yang lebih tinggi, dan mRNA TGF- $\beta$ 1 yang lebih rendah pada hepar tikus model diabetes mellitus.

**Kata Kunci :** hepar, diabetes mellitus, vitamin D, fibrosis, *alanin aminotransferase* (ALT), *aspartate aminotransferase* (AST), SOD-1, TGF- $\beta$ 1

## ABSTRACT

**Background :** Diabetes Mellitus is the independent factor of cause organs damage as liver. Diabetes mellitus causes an increase in Reactive Oxygen Species (ROS) which results in instability between oxidants and antioxidants and stimulates hepatic stellate cell (HSC) activation through profibrotic cytokines such as TGF- $\beta$ 1 which results in the formation of fibrosis in the liver. Vitamin D has a protective effect on the liver by inhibiting inflammation and fibrosis. However, research on the effect of vitamin D on the fibrotic pathway on liver damage has not been studied in depth, especially on the proteomic-transcriptomic aspects.

**Objective :** This study aimed to know the effect of vitamin D to enzyme Alanin aminotransferase (ALT) and Aspartate aminotransferase (AST), myofibroblast expression, fibrosis area fraction, mRNA TGF- $\beta$ 1, and mRNA SOD-1 in diabetes mellitus model.

**Methods :** This study was an experimental study with a post-test only control group design. The research subjects used 30 male Sprague Dawley rats which were randomly divided into 6 groups. Experimental animal model of diabetes mellitus was made by induction of streptozotocin (STZ) at a single dose of 60 mg/kg body weight intraperitoneally for 30 days (DM-1, n=5) and 60 days (DM-2, n=5). Vitamin D intervention was administered intraperitoneally every day for 30 days in a group of rats that had been induced by STZ for 1 month. The vitamin D group is divided into 3 groups, namely VD-0,125 $\mu$ g (n=5), VD-0,25 $\mu$ g (n=5), and VD-0,5 $\mu$ g (n=5). The control group (n=5) was given a single dose of 0.9% NaCl injection. After termination, liver and serum samples were taken, followed by ALT and AST liver function tests using spectrophotometry, fibrosis area fraction with Sirius red staining, myofibroblast expression using immunohistochemistry with  $\alpha$ -SMA antibody, TGF- $\beta$ 1 and SOD-1 mRNA expression using Reverse Transcriptase-PCR.

**Results :** Higher blood glucose levels in the DM-1 and DM-2 groups compared to the control group. ALT and AST enzyme levels were significantly lower in the VD-0.5 group compared to the DM-2 (p<0.05).  $\alpha$ -SMA protein expression higher in DM-2 group and lower in the VD-0.5 $\mu$ g/kgbb group. The area fraction of fibrosis decreased significantly in the VD-0,25 $\mu$ g/kgbb (p=0.035) and VD-0,5 $\mu$ g/kgbb (p=0.001) groups compared to DM-2 group. Furthermore, TGF- $\beta$ 1 expression was highest in the DM-2 group and significantly lower in the VD-0.5 $\mu$ g group compared to the DM-2 group. The expression of SOD-1 significantly lower in the DM-1 and DM-2 groups and significantly higher in the VD-0.25 $\mu$ g (p=0.001) and VD-0.5 $\mu$ g (p=0.000) groups compared with DM-2 group.

**Conclusion :** Vitamin D has a hepatoprotective effect in improve liver function in DM model, and group VD-0,5 provide more effective on improve ALT and AST enzyme, lower protein  $\alpha$ -SMA expression and fibrosis area fraction, lower mRNA TGF- $\beta$ 1 expression, and higher mRNA SOD-1 expression in diabetes mellitus model.

**Keywords :** Liver, diabetes mellitus, fibrosis, alanin aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), TGF- $\beta$ 1, SOD-1