

RESEARCH STUDY

Indonesian Version

OPEN ACCESS

Pengaruh Kefir Susu Kambing Terfortifikasi Vitamin D3 terhadap Kadar hs-CRP Tikus Rattus Norvegicus DM Tipe 2: Studi Eksperimental

The Effect of Vitamin D3-Fortified Goat Milk Kefir on hs-CRP Levels of Type 2 Diabetic Rattus Norvegicus Rats: An Experimental Study

Fairuz Zulfa¹, Astika Widy Utomo³, Martha Ardiaria³, Ahmad Syaury^{1,2}, Rachma Purwanti^{1,2}, Yanti Ernalina⁴, Tania Masha¹, Mutiara Irma Maharani¹, Amelia Faradina⁵, Binar Panunggal^{1,2,5*}

¹Department of Nutrition Science, Faculty of Medicine, Universitas Diponegoro, Semarang, Indonesia

²Center of Nutrition Research, Faculty of Medicine, Universitas Diponegoro, Semarang, Indonesia

³Department of Pharmacology and Therapy, Faculty of Medicine, Universitas Diponegoro, Semarang, Indonesia

⁴Nutrition Study Program, Faculty of Agriculture and Animal Science, Universitas Islam Negeri Sultan Syarif Kasim, Riau, Indonesia

⁵School of Nutrition and Health Sciences, Taipei Medical University, Taiwan

INFO ARTIKEL

Received: 08-01-2024

Accepted: 07-11-2025

Published online: 21-11-2025

*Koresponden:

Binar Panunggal

panunggalbinar@live.undip.ac.id



DOI:

10.20473/amnt.v9i4.2025.667-678

Tersedia secara online:

<https://e-journal.unair.ac.id/AMNT>

Kata Kunci:

Kefir, Susu Kambing, hs-CRP, Fortifikasi Vitamin D3, Diabetes Mellitus

ABSTRAK

Latar Belakang: Resistensi insulin dan hiperglikemia kronis pada diabetes mellitus merangsang sintesis hs-CRP (High-sensitivity C-Reactive Protein) sebagai biomarker inflamasi. Kefir susu kambing dan vitamin D memiliki efek anti-diabetes dan anti-inflamasi.

Tujuan: Mengetahui pengaruh kefir susu kambing yang difortifikasi vitamin D₃ terhadap kadar Hs-CRP tikus diabetes mellitus tipe 2.

Metode: Sebanyak 21 ekor tikus jantan Rattus norvegicus dibagi secara acak ke dalam 4 kelompok penelitian selama 35 hari: Kontrol (K), Diabetes Melitus (DM), Perlakuan kefir susu kambing tanpa fortifikasi (P1), dan Perlakuan kefir susu kambing yang difortifikasi vitamin D₃ (P2). Diabetes diinduksi melalui injeksi intraperitoneal streptozotisin (STZ) sebesar 65 mg/kg BB dan nikotinamida (NA) sebesar 230 mg/kg BB. Kefir susu kambing diberikan secara oral sebanyak 2 mL/200 g BB/hari, dengan dosis fortifikasi vitamin D₃ sebesar 600 IU per 100 mL kefir. Kadar glukosa darah puasa dan hs-CRP serum diukur sebelum dan sesudah perlakuan menggunakan metode GOD-PAP dan ELISA. Data dianalisis menggunakan analisis bivariat dan multivariat dengan GraphPad Prism 8.

Hasil: Terdapat penurunan kadar hs-CRP yang tidak signifikan pada kelompok P2 (p -value=0,21) dan P1 (p -value=0,63), diperkirakan tidak ada dampak peradangan yang berarti. Di sisi lain, terjadi penurunan signifikan kadar GDP pada kelompok P1 (Δ GDP -81,63 $\pm$ 50,07 mg/dL dan p -value=0,05) dan P2 (Δ GDP -65,50 $\pm$ 35,44 mg/dL dan p -value=0,03).

Kesimpulan: Terdapat pengaruh pemberian kefir susu kambing terfortifikasi vitamin D₃ terhadap kadar hs-CRP tikus Rattus norvegicus diabetes mellitus, namun tidak signifikan. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan sampel lebih banyak. Kefir yang difortifikasi memiliki potensi manfaat dalam menurunkan glukosa darah pasien DM.

PENDAHULUAN

Diabetes Mellitus (DM) telah menjadi masalah kesehatan global yang serius. Sekitar 90% dari penderita diabetes di seluruh dunia menderita diabetes tipe 2, suatu penyakit metabolik kronis yang disebabkan oleh resistensi insulin dan ditandai dengan kondisi hiperglikemia sebagai akibatnya¹. Menurut data laporan Organisasi Kesehatan Dunia (WHO) pada tahun 2016, jumlah orang dewasa penderita diabetes di seluruh dunia (usia 18 tahun ke atas) meningkat hampir empat kali lipat,

dari sekitar 108 juta pada tahun 1980 menjadi 422 juta pada tahun 2014, dan diperkirakan akan mencapai 463 juta pada tahun 2019^{1,2}. Sementara itu, prevalensi diabetes mellitus pada populasi berusia 20-79 tahun di Indonesia pada tahun 2019 diperkirakan mencapai 10,7 juta orang dan akan terus meningkat menjadi 16,9 juta orang pada tahun 2045, menjadikan Indonesia salah satu dari 10 negara dengan tingkat diabetes tertinggi di dunia¹.

Perkembangan diabetes mellitus tipe 2 merupakan proses yang kompleks dan dipengaruhi oleh berbagai faktor, dan banyak aspek yang masih perlu diteliti secara mendalam. Namun, jelas bahwa terdapat hubungan yang kuat antara obesitas, kurangnya aktivitas fisik, dan peningkatan risiko resistensi insulin serta diabetes tipe 2. Peningkatan risiko ini terutama disebabkan oleh peradangan yang berkaitan dengan stres pada jaringan lemak, yang pada akhirnya menyebabkan ketidakpekaan reseptor insulin³. Diabetes mellitus tipe 2 berhubungan dengan berbagai komplikasi serius, termasuk penyakit kardiovaskular dan risiko kematian⁴. Komplikasi ini berkaitan dengan hiperglikemia dan resistensi insulin pada individu dengan diabetes tipe 2 yang tidak terkontrol. Hiperglikemia adalah gejala klinis yang disebabkan oleh kerusakan sel β pankreas, yang mengganggu produksi hormon insulin dan meningkatkan kadar glukosa darah⁵. Kombinasi resistensi insulin dan hiperglikemia yang berkepanjangan memicu peradangan, yang memicu pelepasan sitokin pro-inflamasi seperti interleukin (IL) 1 dan 6, serta Tumor Necrosis Factor- α (TNF- α). Hal ini, pada gilirannya, merangsang sintesis Protein C-Reaktif (CRP) dalam sel hepatosit, yang berfungsi sebagai penanda inflamasi^{6,7}. Peningkatan kadar hs-CRP sebagai penanda peradangan menunjukkan respons fase akut⁸. Secara umum, individu yang berisiko mengalami komplikasi diabetes atau mengalami peradangan kronis ringan memiliki kadar CRP yang lebih rendah. Uji CRP standar mungkin tidak mendeteksi hal ini, sehingga diperlukan penggunaan uji protein C-reaktif sensitivitas tinggi (hs-CRP) untuk menilai kemungkinan komplikasi kardiovaskular⁹. Penelitian sebelumnya telah mengidentifikasi hubungan yang kuat antara tingkat hs-CRP dan diabetes mellitus tipe 2¹⁰. Dalam penelitian lain, hs-CRP diidentifikasi sebagai biomarker prognosis yang lebih kuat terhadap risiko kematian akibat berbagai penyebab, bukan hanya penyakit kardiovaskular. Temuan ini menunjukkan bahwa penggunaan hs-CRP dapat meningkatkan deteksi dini serta pencegahan penyakit fatal, bahkan melampaui perannya pada penyakit kardiovaskular pada penderita diabetes mellitus tipe 2 tahap awal¹¹.

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa DM tipe 2 (T2DM) dan T2DM dengan komplikasi berhubungan dengan defisiensi vitamin D^{12,13}. Dalam studi tindak lanjut selama lima tahun yang melibatkan populasi Asia, ditemukan bahwa kejadian diabetes mellitus tipe 2 secara signifikan lebih tinggi pada kelompok dengan defisiensi vitamin D dibandingkan dengan kelompok dengan insufisiensi maupun kecukupan vitamin D. Dampak positif pemberian vitamin D terhadap produksi dan resistensi insulin, profil lipid, serta indikator peradangan dan stres oksidatif kemungkinan disebabkan oleh pengaruh vitamin D dalam mengaktifkan ekspresi reseptor insulin, menekan produksi sitokin, dan mengurangi sekresi hormon paratiroid¹⁴. Potensi vitamin D dalam memengaruhi kontrol glikemik dan risiko diabetes mellitus tipe 2 diyakini terutama berasal dari sifat anti-inflamasinya¹⁵. Vitamin D berperan penting dalam meningkatkan toleransi glukosa dan bertindak sebagai agen anti-inflamasi, sekaligus menurunkan kadar hs-CRP pada individu dengan Diabetes Mellitus Tipe 2 (T2DM)¹⁶. Vitamin D menekan

ekspresi sitokin proinflamasi yang berhubungan dengan resistensi insulin dan menurunkan aktivitas nuclear factor kappa B (NF- κ B), sehingga menghambat sekresi hs-CRP pada sel hepatosit^{17,18}. Hubungan terbalik antara High-sensitivity C-Reactive Protein (hs-CRP) sebagai biomarker inflamasi dengan kadar vitamin D dipengaruhi oleh efek vitamin D terhadap kadar hormon paratiroid, yang berpotensi menurunkan konsentrasi hs-CRP. Suplementasi vitamin D₃ selama satu bulan terbukti meningkatkan status vitamin D dan secara signifikan menurunkan kadar sitokin proinflamasi tanpa memengaruhi kadar serum Ca^{2+} , PO_4^{2-} , maupun profil lipid pada subjek sehat asal Arab Saudi¹⁹. Penelitian pada anak-anak dengan kadar vitamin D di bawah 15 ng/mL menunjukkan adanya hubungan yang kuat dengan peningkatan kadar CRP. Pemberian suplementasi vitamin D selama enam bulan pada subjek dengan peradangan kronis terkait obesitas terbukti secara signifikan menurunkan kadar CRP. Efek anti-inflamasi utama vitamin D terutama terjadi melalui penurunan kadar CRP serta membantu mempertahankan konsentrasi IL-10 yang stabil²⁰. Sebuah penelitian terkontrol acak menemukan bahwa fortifikasi vitamin D₃ pada susu dan air menghasilkan penyerapan yang lebih baik dibandingkan dengan makanan lain seperti jus²¹. Selain itu, penelitian lain pada tikus T2DM yang diberikan intervensi selama 28 hari menggunakan susu kerbau fermentasi yang difortifikasi dengan vitamin D₃ menunjukkan manfaat signifikan dalam menurunkan kadar hs-CRP²². Susu kambing juga memiliki potensi efek anti-inflamasi berkat kandungan oligosakaridanya, yang berperan dalam mencegah kerusakan sel hepatosit yang dapat memicu sekresi CRP sebagai bagian dari respons fase akut melalui sitokin inflamasi²³. Penelitian menunjukkan bahwa susu kambing mengandung lebih banyak oligosakarida dibandingkan susu sapi maupun domba²⁴. Selain itu, susu kambing juga mengandung Medium-Chain Triglycerides (MCT) dan asam lemak rantai pendek, yang keduanya mudah dicerna dan dimetabolisme²⁵. Lebih lanjut, kadar laktosa dalam susu kambing lebih rendah dibandingkan susu sapi, sehingga menjadikannya alternatif yang sesuai bagi individu dengan intoleransi laktosa^{26,27}. Namun demikian, perlu diperhatikan bahwa susu kambing mengandung vitamin B₆, C, dan D dalam jumlah yang lebih rendah dibandingkan jenis susu lainnya^{26,28}.

Sebuah meta-analisis terbaru menunjukkan bahwa kefir, produk olahan susu fermentasi, memiliki potensi untuk secara signifikan menurunkan kadar CRP. Efek ini tampak lebih menonjol pada populasi Asia dan individu yang didiagnosis dengan sindrom metabolik²⁹. Dalam penelitian yang melibatkan pasien penyakit Crohn, Yilmaz *et al.* melaporkan bahwa konsumsi kefir secara teratur dapat meredakan gejala dan meningkatkan kualitas hidup jangka pendek, sekaligus memberikan pengaruh positif terhadap penanda biokimia seperti kadar hemoglobin, CRP, dan laju endap eritrosit³⁰. Sebagai pangan fungsional yang mengandung bakteri, kefir juga mampu menekan sekresi sitokin proinflamasi³¹. Kefir merupakan produk susu fermentasi yang dibuat dengan menambahkan butiran kefir (*kefir grains*) yang mengandung bakteri asam laktat (LAB) dan ragi ke dalam susu³². Diperkaya dengan ragi dan strain bakteri spesifik

yang tidak terdapat dalam yogurt, seperti *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus kefir*, *Lactococcus lactis*, *Lactobacillus kefirianofaciens*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Acetobacter ghanensis*, *Leuconostoc pseudomesenteroides*, and *Acetobacter orientalis*, kefir berpotensi menyediakan ragam bakteri probiotik yang lebih luas bagi saluran pencernaan dibandingkan yogurt^{33,34}. Kefir berpotensi menjadi terapi bagi penderita diabetes karena dapat menurunkan kadar glukosa darah puasa dan HbA1C³⁵. Sebuah penelitian mengenai efek kombinasi kefir dari susu kambing dan susu kedelai dengan dosis 2 mL per 200 g berat badan pada tikus yang diinduksi diabetes menggunakan streptozotisin (STZ) dan nikotinamid (NA) menunjukkan penurunan kadar glukosa darah puasa setelah intervensi selama 35 hari³⁶. Sebaliknya, probiotik yang terdapat dalam kefir memiliki potensi untuk mengatur mikrobiota usus, yang berpengaruh terhadap pengendalian kadar glukosa darah dan lipid^{28,37}. Selain itu, probiotik tersebut juga dapat menghambat pelepasan sitokin proinflamasi melalui modulasi sistem imun dan antiinflamasi, sehingga meningkatkan produksi IL-10 dan TGF- β . Mekanisme ini penting dalam menurunkan kadar CRP^{38,39}.

Fortifikasi vitamin D₃ pada kefir susu kambing perlu dilakukan untuk meningkatkan kandungan gizinya, karena kadar vitamin D dalam susu kambing relatif rendah²⁸. Berdasarkan penelitian sebelumnya, dosis optimal kelarutan vitamin D₃ adalah 600 IU⁴⁰. Rekomendasi Asupan Gizi yang Dianjurkan (RDA) maupun Angka Kecukupan Gizi (AKG) Indonesia tahun 2019 juga menetapkan bahwa dosis harian rata-rata vitamin D₃ untuk orang dewasa berusia 19–70 tahun adalah 15 μ g (600 IU)⁴¹. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mengkaji pengaruh kefir susu kambing yang difortifikasi dengan 600 IU vitamin D₃ terhadap kadar hs-CRP pada tikus *Rattus norvegicus* dengan diabetes melitus.

METODE

Penelitian eksperimental ini dilakukan dengan menggunakan rancangan *pre-post control group design* pada bulan Desember 2019 hingga Januari 2020. Uji *in vivo* dilaksanakan di Laboratorium Uji Hewan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro. Pemeriksaan glukosa darah puasa dilakukan di Laboratorium Kesehatan Daerah Kota Semarang, Provinsi Jawa Tengah. Sementara itu, kadar serum hs-CRP dianalisis di Laboratorium GAKI Rumah Sakit Nasional Diponegoro, dan kefir susu kambing yang difortifikasi vitamin D₃ dipersiapkan di Laboratorium Pusat Penelitian Gizi Universitas Diponegoro. Dalam penelitian ini, kadar hs-CRP berperan sebagai variabel dependen, sedangkan pemberian kefir susu kambing yang difortifikasi vitamin D₃ merupakan variabel independen. Variabel kontrol meliputi strain hewan uji (*Rattus norvegicus*) serta faktor-faktor seperti usia, jenis kelamin, berat badan, pola makan, cara penanganan, lingkungan kandang, dan kebersihan serta sanitasi kandang.

Sampel dalam penelitian ini adalah tikus jantan (*Rattus norvegicus*) galur Wistar yang diperoleh dari Farhan Farm Mouse, Semarang. Tikus dipilih karena memiliki kesamaan fisiologis dengan manusia, mudah beradaptasi, jinak, bersifat omnivora, tahan terhadap perlakuan tanpa memengaruhi hormon estrogen,

memiliki kemampuan metabolisme yang cepat, jarang mengalami muntah, mudah dikendalikan, serta dapat meminimalkan bias. Selain itu, pengambilan serum melalui pleksus retroorbital relatif mudah dilakukan pada tikus⁴². Kriteria inklusi mencakup tikus jantan galur Wistar (*Rattus norvegicus*) berusia 8–12 minggu dengan berat badan antara 180–200 g. Tikus yang digunakan harus dalam kondisi sehat, menunjukkan perilaku dan aktivitas normal, tidak memiliki cacat fisik maupun kondisi yang dapat memperumit penelitian, serta memiliki kadar glukosa darah puasa lebih dari 140 mg/dL. Sementara itu, kriteria eksklusi mencakup tikus dengan penurunan berat badan di bawah 180 g selama penelitian, kematian, atau adanya perubahan perilaku yang mencolok seperti kelemahan dan/atau kehilangan nafsu makan.

Jumlah sampel dihitung menggunakan rumus Federer (1997) dengan mempertimbangkan kemungkinan *dropout* sebesar 10%, sehingga diperoleh total 28 ekor tikus, masing-masing tujuh ekor untuk setiap kelompok. Pada tahap awal, subjek ditempatkan dalam kandang individu selama tujuh hari pada suhu 22–25°C dengan kelembapan 40–70%, siklus terang-gelap 12:12 jam, serta diberi pakan BR-2 dan air minum *ad libitum*. Kandang dibersihkan setiap hari, dan berat badan tikus dicatat setiap minggu. Setelah masa adaptasi, sampel dibagi secara acak menjadi empat kelompok, yaitu kelompok kontrol (K), kelompok diabetes melitus (DM), kelompok diabetes yang diberi kefir susu kambing tanpa fortifikasi (P1), dan kelompok diabetes yang diberi kefir susu kambing terfortifikasi vitamin D₃ (P2), masing-masing terdiri dari tujuh ekor tikus. Pembagian kelompok dilakukan dengan metode *simple randomization*, di mana setiap kandang diberi nomor 1–28. Proses pengacakan dilakukan dengan sistem undian berdasarkan urutan kelompok kontrol, DM, P1, dan P2. Tikus pada kelompok DM, P1, dan P2 dipuasakan semalaman sebelum diinduksi diabetes melalui injeksi nikotinamid (NA) sebanyak 230 mg/kg berat badan yang dilarutkan dalam larutan natrium klorida 0,9%. Setelah jeda selama 15 menit, tikus diberikan injeksi streptozotisin (STZ) dengan dosis 65 mg/kg berat badan yang dilarutkan dalam buffer natrium sitrat 0,1 M pada pH 4,5. Kombinasi dosis ini telah distandarkan dalam model tikus diabetes melitus tipe 2 dan dirancang untuk meniru progresi T2DM pada manusia. Kondisi tersebut menghasilkan peningkatan kadar glukosa darah dan keadaan diabetes yang lebih stabil, sehingga sesuai untuk menguji efek terapeutik jangka panjang dari pemberian kefir dalam penelitian ini⁴³. Dosis fortifikasi vitamin D₃ yang digunakan adalah 600 IU per 100 mL kefir, mengacu pada penelitian sebelumnya⁴⁰. Sampel dari kelompok K, DM, P1, dan P2 dipuasakan semalaman sebelum dilakukan pengukuran kadar glukosa darah puasa dan hs-CRP pra-intervensi. Pengambilan sampel darah dilakukan melalui pleksus retroorbital menggunakan tabung hematokrit sebanyak ± 3 mL, lima belas hari setelah induksi diabetes. Teknik yang sama digunakan untuk memperoleh sampel serum pascaintervensi. Tikus dikategorikan menderita diabetes apabila kadar glukosa darah puasanya mencapai lebih dari 140 mg/dL⁴⁴.

Selanjutnya, setelah memenuhi kriteria inklusi, subjek ditempatkan dalam kandang individu selama 35 hari pada suhu 22–25°C dengan kelembapan 40–70% dan

siklus terang-gelap 12:12 jam. Sampel pada kelompok kontrol dan diabetes melitus (C dan DM) hanya diberikan pakan standar (BR-2) dan air minum *ad libitum*. Sementara itu, kelompok P1 diberikan pakan standar dan kefir susu kambing tanpa fortifikasi, sedangkan kelompok P2 diberikan pakan standar dan kefir susu kambing yang difortifikasi vitamin D₃, masing-masing dengan dosis 2 mL/200 g berat badan per hari selama 35 hari, sesuai dengan penelitian sebelumnya. Setelah intervensi selama 35 hari, kadar glukosa darah puasa dan serum hs-CRP diukur kembali. Pemeriksaan glukosa darah puasa dilakukan menggunakan metode *Glucose Oxidase-Peroxidase Aminoantipyrine* (GOD-PAP) dengan panjang gelombang 500 nm. Metode GOD-POD bekerja secara linear hingga kadar 500 mg/dL dan memiliki presisi yang baik dengan koefisien variasi (CV) sebesar 0,7–1,4% serta deviasi rata-rata –0,97%. Metode ini dikenal sederhana, cepat, ekonomis, dan sensitif, sehingga sesuai untuk analisis rutin menggunakan kolorimeter⁴⁵. Pengukuran kadar hs-CRP dilakukan menggunakan metode *colourimetric rat hs-CRP sandwich* dengan teknik *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) pada sampel serum, kemudian dibaca menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 450 nm ± 2 nm. Teknik ELISA mampu mendeteksi kadar *High-sensitivity C-Reactive Protein* (hs-CRP) yang sangat rendah dengan sensitivitas 0,094 ng/mL dan rentang deteksi antara 0,156 hingga 10 ng/mL⁴⁶. Metode ini menunjukkan tingkat presisi yang tinggi (CV <10%) dan tingkat pemulihan antara 80% hingga 120%⁴⁷. Selain itu, metode ini telah tervalidasi untuk kuantifikasi hs-CRP pada serum dan plasma hewan pengerat, dengan reaktivitas silang yang minimal terhadap protein lain.

Data yang dikumpulkan meliputi data *pre-test* dan *post-test* berupa berat badan, kadar glukosa darah puasa, serta kadar serum hs-CRP. Data tersebut kemudian dianalisis menggunakan perangkat lunak GraphPad Prism 8. Uji normalitas data dilakukan dengan menggunakan uji Shapiro–Wilk. Perbedaan antara kadar

glukosa darah puasa dan kadar serum hs-CRP sebelum dan sesudah perlakuan dianalisis secara bivariat menggunakan uji *paired t-test* apabila data berdistribusi normal, dan uji Wilcoxon apabila data tidak berdistribusi normal. Selain itu, perbedaan antar kelompok dianalisis menggunakan uji One-Way ANOVA atau uji Kruskal–Wallis, tergantung pada hasil distribusi normalitas data (dengan *confidence interval* 95% dan nilai $p=0,05$). Penelitian ini telah memperoleh persetujuan etik dengan nomor 04/EC/H/FK-UNDIP/I/2020 tertanggal 20 Januari 2025 dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan (KEPK) Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro bekerja sama dengan RSUP Dr. Kariadi, Kota Semarang, Provinsi Jawa Tengah, Indonesia.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik Awal Subjek

Berdasarkan Tabel 1, setelah dilakukan induksi diabetes pada subjek dalam kelompok DM, P1, dan P2, terlihat bahwa data berat badan sebelum intervensi berdistribusi normal dan tidak terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok ($p\text{-value}=0,20$). Sampel pada kelompok kontrol memiliki kadar glukosa darah puasa normal sebelum intervensi (96,98 mg/dL) karena STZ-NA tidak diberikan. Sementara itu, kadar glukosa darah puasa pada kelompok diabetes (DM, P1, dan P2) telah mencapai lebih dari 140 mg/dL, dengan rata-rata±SD tertinggi pada kelompok P1 (196,0±46,63 mg/dL). Terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol dengan kelompok DM, P1, dan P2 ($p\text{-value} < 0,001$). Selain itu, kadar serum hs-CRP pada kelompok kontrol menunjukkan nilai tertinggi di antara seluruh kelompok (rata-rata±SD=2,48±0,542), meskipun kelompok ini tidak termasuk kelompok diabetes. Namun demikian, kadar serum hs-CRP seluruh kelompok sampel masih berada dalam rentang normal (<3,0 mg/L). Hasil uji *post-hoc* menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang signifikan antar semua kelompok ($p\text{-value}=0,6040$).

Tabel 1. Karakteristik awal subjek

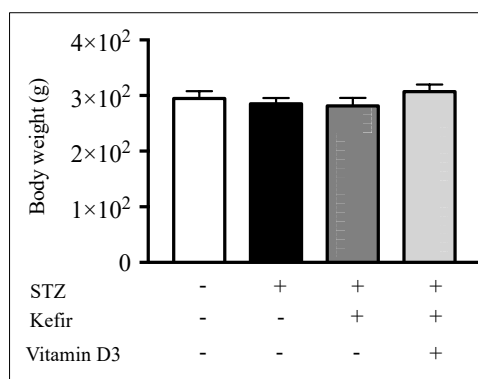
Variabel	Kelompok Tikus				<i>p-value</i>
	Kontrol (K)	Diabetes Mellitus (DM)	Diabetes + Kefir Non-Fortifikasi (P1)	Diabetes + Kefir Fortifikasi Vitamin D ₃ (P2)	
Berat Badan (g)	276,8±23,20	266,1±29,00	255,8±19,29	291,8±18,84	0,202
Glukosa Darah Puasa (mg/dL)	96,98±19,27 ^a	155,2±16,34 ^b	196,0±46,63 ^b	181,8±40,32 ^b	<0,001*
Serum hs-CRP (mg/dL)	2,48±0,524	2,09±0,575	1,88±1,13	2,20±0,66	0,604

Nilai disajikan dalam Mean±SD; * $p\text{-value}<0,05$; analisis One-Way ANOVA. Notasi berbeda (a, b) pada baris yang sama menunjukkan perbedaan signifikan pada uji *post-hoc*

Karakteristik Berat Badan setelah Intervensi

Beralih pada berat badan, sebagaimana ditunjukkan pada Gambar 1, seluruh kelompok mengalami peningkatan selama masa intervensi, namun peningkatan tersebut tidak signifikan secara statistik ($p\text{-value} \Delta BW=0,89$). Sebaliknya, kelompok P1 menunjukkan

peningkatan tertinggi, yaitu sekitar 25,75 g (ΔBW P1). Hasil uji One-Way ANOVA setelah intervensi menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antar kelompok ($p\text{-value}=0,04$), di mana terdapat perbedaan signifikan antara kelompok DM dan kelompok P2 berdasarkan uji *post-hoc* Tukey HSD ($p\text{-value}=0,04$).



Gambar 1. Karakteristik berat badan subjek setelah intervensi

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa seluruh kelompok mengalami peningkatan berat badan selama masa intervensi, meskipun peningkatan tersebut tidak signifikan secara statistik, sebagaimana ditunjukkan pada Gambar 1. Hasil ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang melaporkan bahwa intervensi kefir selama 35 hari dapat memberikan pengaruh positif terhadap berat badan tikus diabetes yang diinduksi dengan streptozotocin (STZ) dan nikotinamida (NA)⁴⁹. Pemberian STZ sebesar 65 mg/kg BB dan NA sebesar 230 mg/kg BB bertujuan untuk menghasilkan kondisi diabetes melitus tipe 2 non-obesitas⁴³. Salah satu penjelasan yang mungkin terhadap peningkatan berat badan pada tikus diabetes adalah adanya polifagia, yaitu gejala umum diabetes yang menyebabkan peningkatan nafsu makan^{50,51}. Hasil pengamatan perilaku selama penelitian menunjukkan bahwa tikus diabetes mengalami perubahan pola makan setelah diagnosis, yang disertai dengan aktivitas fisik terbatas akibat penempatan individu di kandang terpisah. Kombinasi kedua faktor ini kemungkinan menyebabkan ketidakseimbangan energi, yang kemudian berkontribusi pada peningkatan berat badan.

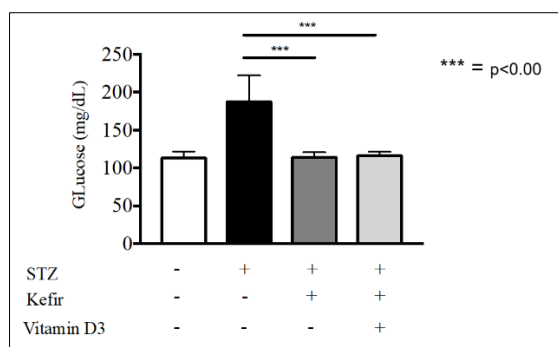
Temuan ini menegaskan pentingnya faktor risiko yang dapat dimodifikasi, seperti pola makan dan aktivitas fisik, dalam perkembangan diabetes melitus tipe 2⁵². Sebaliknya, peningkatan berat badan yang diamati pada kelompok kontrol, P1, dan P2 kemungkinan disebabkan oleh homeostasis glukosa yang normal. Secara khusus, kelompok P1 dan P2 menunjukkan perbaikan dalam regulasi glukosa, yang dibuktikan dengan penurunan kadar glukosa darah puasa. Hal ini mengindikasikan bahwa kombinasi kefir dan fortifikasi vitamin D3 dapat berkontribusi terhadap peningkatan kesehatan metabolik, membantu menjaga keseimbangan energi, serta mencegah penurunan berat badan berlebihan yang umumnya terjadi pada kondisi diabetes.

Secara keseluruhan, peningkatan berat badan yang signifikan pada kelompok P2 dibandingkan dengan

kelompok DM menunjukkan potensi manfaat kefir yang difortifikasi vitamin D3 dalam mengurangi penurunan berat badan yang terkait dengan kondisi diabetes. Temuan ini mengindikasikan bahwa kefir terfortifikasi dapat berperan dalam mempertahankan berat badan pada kondisi diabetes. Diperlukan penelitian lebih lanjut untuk menjelajahi mekanisme yang mendasari efek kefir terfortifikasi terhadap berat badan dan regulasi metabolik. Pemahaman yang lebih mendalam mengenai mekanisme tersebut dapat memberikan wawasan baru tentang peran kefir dalam pengaturan metabolisme.

Karakteristik Glukosa Darah Puasa setelah Intervensi

Berkaitan dengan kadar glukosa darah puasa (GDP) sebagaimana ditunjukkan pada Gambar 2, terlihat bahwa kelompok kontrol dan DM mengalami peningkatan masing-masing sekitar 16,20 mg/dL dan 52,96 mg/dL, dari 96,98±19,27 mg/dL dan 155,2±16,34 mg/dL pada fase pra-intervensi menjadi 113,2±8,592 mg/dL dan 208,1±103,2 mg/dL setelah 35 hari (Δ GDP). Namun, peningkatan tersebut tidak signifikan secara statistik (p -value=0,07 dan 0,47 berturut-turut). Pemberian streptozotocin (STZ) sebesar 65 mg/kgBB dan nikotinamid (NA) sebesar 230 mg/kgBB menyebabkan apoptosis sel pankreas, yang mengakibatkan defisiensi insulin relatif dan selanjutnya meningkatkan kadar glukosa darah puasa⁵³. Mekanisme tersebut kemungkinan terjadi pada kelompok DM, di mana kadar GDP terus meningkat hingga akhir fase intervensi, meskipun peningkatannya tidak signifikan secara statistik. Pemberian dosis NA yang tinggi diduga memberikan perlindungan yang lebih baik terhadap kerusakan sel β pankreas akibat injeksi STZ⁴³. Berbeda dengan penelitian ini, peningkatan kadar glukosa darah puasa pada tikus kontrol DM selama periode 35 hari dalam penelitian Nurliyani disebabkan oleh induksi diabetes dengan dosis STZ 45 mg/kgBB dan NA 120 mg/kgBB³⁶.



Gambar 2. Kadar glukosa darah subjek setelah intervensi

Di sisi lain, sampel pada kelompok P1 dan P2 mengalami penurunan kadar GDP yang signifikan secara statistik, masing-masing sekitar $\Delta P1$ -81,63 mg/dL dan $\Delta P2$ -65,50 mg/dL, dari sekitar 196,0 $\pm$ 46,63 mg/dL dan 181,8 $\pm$ 40,32 mg/dL (kondisi diabetes) menjadi 114,4 $\pm$ 6,183 mg/dL dan 116,3 $\pm$ 5,123 mg/dL secara berurutan (kondisi normal) setelah 35 hari intervensi (p -value=0,05 dan 0,03 berturut-turut). Selain itu, terdapat perbedaan yang signifikan secara statistik pada ΔGDP antara kelompok DM dan kelompok P1 (p -value=0,001) serta antara kelompok DM dan kelompok P2 (p -value=0,01). Lebih lanjut, berdasarkan data pasca-intervensi, uji Kruskal-Wallis menunjukkan adanya perbedaan signifikan kadar GDP antar kelompok setelah 35 hari intervensi (p -value=0,001). Uji lanjut Dunn's Multiple Comparison (post-hoc) menunjukkan perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol dan kelompok DM (p -value=0,01) serta antara kelompok DM dan kelompok P1 (p -value=0,03). Hasil penelitian ini sejalan dengan hasil penelitian Alsayadi et al., yang menunjukkan bahwa intervensi kefir air selama 35 hari menghasilkan perbedaan signifikan dalam penurunan kadar glukosa darah puasa antara kelompok kontrol diabetes dan kelompok perlakuan kefir. Namun, tidak terdapat perbedaan signifikan di antara kelompok yang menerima kefir dengan berbagai konsentrasi⁴⁹.

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa peningkatan kronis kadar GDP dapat memicu pembentukan radikal bebas, sehingga meningkatkan stres oksidatif dan inflamasi^{54,55}. Bakteri probiotik diketahui mampu menstimulasi penyerapan glikogen di hati dan meningkatkan status antioksidan untuk mengurangi radikal bebas. Probiotik yang terdapat dalam kefir telah diidentifikasi sebagai agen yang bermanfaat dalam meningkatkan kapasitas antioksidan dan sekresi insulin, yang berperan dalam pengendalian kadar glukosa darah. Probiotik ini juga dapat menurunkan kadar Malondialdehyde (MDA), sebuah penanda peroksidasi lipid, serta menekan sitokin proinflamasi seperti IL-1, IL-6, and TNF- α ⁵⁶. Mekanisme ini diperkuat oleh temuan Lee and Kang⁵⁷, yang melaporkan bahwa probiotik seperti *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium* mampu menurunkan kadar MDA sebesar 0,61 hingga 0,68 kali lipat. Dengan menurunkan stres oksidatif dan peradangan, probiotik membantu melindungi sel β pankreas dari kerusakan lebih lanjut serta memungkinkan regenerasi parsial, sehingga meningkatkan sekresi insulin^{35,58}. Selain itu, bakteri probiotik juga efektif menurunkan penyerapan glukosa di saluran pencernaan melalui produksi Glucose-

dependent Insulinotropic Polypeptide (GIP) dan Glucagon-Like Peptide-1 (GLP-1), yang merangsang penyerapan glukosa oleh sel otot³⁵. Efek ini didukung oleh penelitian sebelumnya yang menunjukkan bahwa konsumsi 1 mL kefir per hari selama 10 minggu dapat meningkatkan penyerapan glukosa pada sel otot, sehingga mengurangi resistensi insulin⁵⁹. Selain itu, komponen bioaktif eksopolisakarida (EPS) yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat pada kefir berperan dalam mengatur pelepasan insulin, menjaga homeostasis glukosa, dan menekan toksisitas glukosa melalui aktivasi adenosine monophosphate (cAMP), protein kinase A, serta siklus sensitivitas ion Ca^{2+} , yang pada akhirnya menurunkan kadar glukosa darah^{60,61}.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa kefir yang difortifikasi vitamin D3 memberikan efek yang sedikit lebih signifikan dalam menurunkan kondisi hiperglikemia pada sampel kelompok P2 (p -value=0,03) dibandingkan dengan kelompok P1 yang menerima kefir tanpa fortifikasi (p -value=0,05). Tikus dalam kelompok P2 diberikan kefir susu kambing yang difortifikasi vitamin D3 dengan dosis 600 IU/100 mL kefir (15 μ g/100 mL), dan untuk setiap 200 g berat badan menerima 2 mL kefir terfortifikasi. Dosis fortifikasi vitamin D3 ini sesuai dengan penelitian sebelumnya, dan hasil penelitian kami juga menunjukkan kesamaan dengan penelitian-penelitian terdahulu^{62,63}. Sebuah studi tinjauan sistematis dan meta-analisis menunjukkan bahwa vitamin D memiliki efek yang lebih nyata dalam meningkatkan kadar serum 25(OH)D serta menurunkan resistensi insulin jika diberikan dalam dosis besar dan jangka waktu singkat, khususnya pada pasien dengan defisiensi vitamin D, pasien non-obesitas, atau mereka yang memiliki kadar glikemik awal yang masih optimal⁶⁴. Vitamin D3 berperan secara tidak langsung dalam menormalkan kadar kalsium ekstraseluler, memastikan agar kalsium dapat masuk melalui membran sel dan memediasi aktivasi enzim endopeptidase yang bergantung pada kalsium dalam sel β pankreas, sehingga memecah proinsulin menjadi insulin dan meningkatkan transport glukosa ke dalam sel otot^{17,65}. Menurut Mitrašinović-Brulić et al., pemberian STZ menyebabkan peningkatan kadar MDA, yang berhubungan dengan meningkatnya stres oksidatif. Namun, perlakuan dengan vitamin D3 secara signifikan menurunkan kadar MDA, yang menunjukkan bahwa vitamin D3 dapat memberikan efek protektif terhadap kerusakan membran sel akibat oksidasi⁶⁶. Selain itu, vitamin D3 juga secara langsung menstimulasi ekspresi reseptor insulin di jaringan perifer,

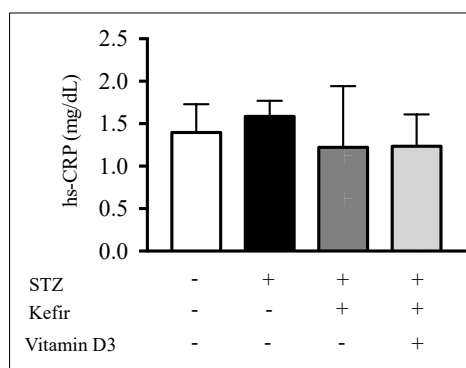
sehingga meningkatkan aktivitas insulin dalam proses transport glukosa⁶⁷.

Sebagai kesimpulan, penurunan kadar glukosa yang diamati dalam penelitian ini kemungkinan besar disebabkan oleh efek gabungan antara probiotik pada kefir dan peran vitamin D3 dalam mengatur sekresi insulin serta metabolisme glukosa. Sinergi antara keduanya menegaskan potensi terapeutik dari kefir yang difortifikasi vitamin D3. Secara keseluruhan, kefir terfortifikasi ini berpotensi menjadi intervensi yang efektif dalam pengelolaan hiperglikemia pada penelitian-penelitian di masa mendatang.

Karakteristik Kadar Hs-CRP setelah Intervensi

Berdasarkan kadar hs-CRP yang ditampilkan pada Gambar 3, seluruh kelompok mengalami sedikit

penurunan dari awal hingga akhir periode intervensi. Kelompok DM menunjukkan kadar hs-CRP terendah, dengan penurunan yang secara statistik signifikan ($p\text{-value}=0,02$), yaitu sekitar $-1,00\pm0,79$ mg/dL ($\Delta\text{hs-CRP mean}\pm\text{SD}$), dari $2,09\pm0,58$ mg/dL menjadi $1,09\pm0,59$ mg/dL. Uji Kruskal-Wallis menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang signifikan kadar hs-CRP antar kelompok setelah intervensi ($p\text{-value}=0,20$). Meskipun perbedaan tersebut tidak signifikan, hasil ini menunjukkan bahwa kefir susu kambing terfortifikasi vitamin D3 mampu menurunkan kadar hs-CRP pada sampel kelompok P2 ($p\text{-value}=0,21$) lebih besar dibandingkan dengan kelompok P1 yang diberikan kefir susu kambing tanpa fortifikasi ($p\text{-value}=0,63$).



Gambar 3. Kadar hs-CRP setelah intervensi

Gambar 2 dan 3 menunjukkan bahwa kadar hs-CRP pada kelompok P1 dan P2 menurun seiring dengan turunnya kadar glukosa darah puasa (GDP) hingga mencapai kondisi normal. Perbaikan kondisi ini kemungkinan disebabkan oleh pemberian kefir susu kambing, baik yang terfortifikasi (P2) maupun tanpa fortifikasi (P1), yang sejalan dengan penelitian sebelumnya⁶⁸. Selain itu, fortifikasi dengan vitamin D3 juga dapat berkontribusi terhadap penurunan kadar hs-CRP. Hal ini didukung oleh penelitian yang menemukan korelasi positif antara penurunan kadar hs-CRP dan glukosa darah pada tikus yang diberi dadih terfortifikasi vitamin D3 sebanyak 900 IU dengan dosis 4 g per 200 g berat badan per hari selama 28 hari. Berbeda dengan dosis yang digunakan dalam penelitian ini, penelitian tersebut menginduksi diabetes menggunakan STZ dosis 45 mg/kgBB dan NA 110 mg/kgBB²². Namun, hasil penelitian kami berbeda dengan penelitian tersebut, yang melaporkan penurunan kadar hs-CRP secara signifikan. Perlu dicatat bahwa resistensi insulin dapat memicu peradangan, yang kemudian meningkatkan sitokin proinflamasi dan menstimulasi produksi CRP di hati^{6,69}. Oligosakarida yang terdapat dalam susu kambing memiliki efek menguntungkan dalam mencegah terjadinya inflamasi⁷⁰. Di sisi lain, kefir merupakan probiotik alami yang mengandung bakteri asam laktat yang dapat memodulasi sistem imun untuk menghasilkan sitokin antiinflamasi seperti IL-10, serta menurunkan kadar IL-6, TNF- α , IFN- γ , dan hs-CRP⁷¹⁻⁷³. Penelitian yang dilakukan oleh Wisudanti (2017) menunjukkan peningkatan signifikan kadar IL-10 pada subjek yang

mengonsumsi kefir dengan konsentrasi 0,5%, 1%, 2%, dan 5% selama empat hari⁷⁴. Dalam sistem kekebalan bawaan, probiotik kefir berperan penting sebagai ligan untuk *toll-like receptor* (TLR), yang memengaruhi jalur pensinyalan NF- κ B, *mitogen-activated protein kinase* (MAPK), *phosphoinositide-3-kinase-protein kinase B/Akt* (PI3K-PKB/Akt), dan *peroxisome proliferator-activated receptor* γ (PPAR- γ). Mekanisme ini menyebabkan penurunan ekspresi sitokin proinflamasi (IL-12, IL-6, dan TNF- α) yang memicu hati untuk memproduksi CRP^{75,76}.

Penurunan kadar hs-CRP pada kelompok P1 dan P2 dalam penelitian ini tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan. Hal tersebut kemungkinan disebabkan oleh efek protektif dari induksi nikotinamida dosis 230 mg/kgBB, yang menyebabkan kondisi diabetes tingkat sedang, sehingga sitokin proinflamasi seperti TNF- α dan IL-1 β tetap berada di bawah nilai yang terdeteksi⁷⁷. Sebaliknya, penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa kadar hs-CRP pada pria dan wanita yang baru didiagnosis menderita diabetes selama sekitar enam bulan meningkat hingga $>3,0$ mg/L¹⁸. Penelitian yang dilakukan oleh Medany et al⁷⁸, juga menunjukkan bahwa pemberian STZ dosis 65 mg/kgBB bersamaan dengan nikotinamida 230 mg/kgBB menyebabkan peningkatan kadar glukosa darah puasa dan hs-CRP pada tikus dalam kelompok diabetes kontrol dibandingkan dengan kelompok kontrol sehat setelah delapan minggu perlakuan. Selanjutnya, pemberian suplemen dapagliflozin selama delapan minggu menunjukkan penurunan signifikan kadar glukosa darah puasa serum dibandingkan kelompok diabetes kontrol. Namun, tidak

terdapat perbedaan signifikan dalam penurunan kadar hs-CRP antara kedua kelompok tersebut. Penurunan kadar hs-CRP yang lebih nyata diamati pada kelompok yang menerima kombinasi atorvastatin dan dapagliflozin, dibandingkan dengan kelompok diabetes kontrol maupun kelompok yang hanya menerima dapagliflozin. Hasil tersebut menunjukkan bahwa intervensi kombinasi yang ditujukan untuk memperbaiki profil glukosa dan lipid memberikan efek yang lebih kuat dalam menurunkan kadar hs-CRP. Sebaliknya, penelitian lain sebelumnya menunjukkan hasil yang serupa dengan penelitian kami, di mana kadar hs-CRP pada tikus yang diinduksi diabetes dengan STZ-NA tanpa perlakuan hanya mengalami sedikit peningkatan hingga sekitar <2 mg/L setelah 28 hari penelitian⁷⁹.

Berdasarkan kadar hs-CRP setelah intervensi yang ditunjukkan pada Gambar 3, hasil penelitian ini menunjukkan bahwa kelompok P2 mengalami penurunan lebih besar (p -value=0,21) dibandingkan dengan kelompok P1 (p -value=0,63), meskipun tidak signifikan secara statistik. Hal ini kemungkinan berkaitan dengan pemberian perlakuan kefir susu kambing yang difortifikasi vitamin D3 pada sampel kelompok P2. Penelitian ini membuktikan bahwa kefir susu kambing yang difortifikasi vitamin D3 dapat menurunkan kadar hs-CRP setelah 35 hari intervensi, meskipun penurunan tersebut tidak signifikan secara statistik. Hasil ini sejalan dengan beberapa penelitian lain yang menunjukkan bahwa vitamin D3 tidak memberikan pengaruh signifikan terhadap kadar hs-CRP pada pasien penyakit ginjal kronis (CKD)⁸⁰. Selain itu, penelitian sebelumnya juga melaporkan bahwa suplementasi kefir selama tiga minggu tidak menyebabkan penurunan kadar hs-CRP⁸¹. Studi lain menunjukkan bahwa kefir dapat memiliki efek penurunan hs-CRP jika dibandingkan dengan susu yang tidak difermentasi setelah 12 minggu, namun penurunan tersebut tidak signifikan secara statistik⁸². Hal ini mungkin disebabkan karena kadar hs-CRP pada kelompok tersebut sebelum intervensi tidak terlalu tinggi (<5 mg/L), sehingga manfaat fortifikasi vitamin D3 tidak dapat terlihat secara maksimal⁸³. Temuan-temuan ini juga sejalan dengan hasil penelitian Qinna NA, yang mengungkapkan bahwa status antioksidan total, biomarker inflamasi, serta parameter darah lengkap lainnya (kecuali HCT) tidak menunjukkan perubahan signifikan pada tikus yang diinduksi STZ-NA setelah 42 hari⁸⁴. Sebagai tambahan, kadar hs-CRP sebesar 2 mg/L telah dikaitkan dengan peningkatan risiko kejadian kardiovaskular dan mortalitas⁴.

Di sisi lain, penurunan kadar hs-CRP yang tidak signifikan pada subjek kelompok P2 kemungkinan disebabkan oleh toksisitas ginjal akibat pemberian STZ, yang memengaruhi aktivasi vitamin D3, sehingga menghambat efek maksimal dari perlakuan kefir susu kambing yang difortifikasi vitamin D3^{53,85}. Vitamin D3 mengatur protein pengikat kalsium yang bergantung pada vitamin D, yaitu Calbindin-D28k, yang berperan penting dalam menghambat pembentukan radikal bebas untuk melindungi sel β pankreas dari kematian yang dimediasi oleh sitokin^{86,87}. Selain itu, Calbindin-D28k juga dapat mempengaruhi pelepasan insulin melalui pengaturan ion kalsium pada sel β pankreas⁸⁸. Vitamin D3 juga memiliki efek antiinflamasi melalui penghambatan

jalur NF- κ B dengan mekanisme interaksi antara reseptor vitamin D (VDR) dan inhibitor NF- κ B (I κ B- α), yang menghambat pembentukan kompleks I κ B kinase (I κ BK) yang diinduksi oleh TNF- α dan dengan demikian mencegah fosforilasi I κ B- α ⁸⁹. Penelitian sebelumnya juga menunjukkan bahwa pemberian vitamin D dapat meningkatkan aktivitas VDR⁹⁰. Penurunan kadar hs-CRP pada kelompok DM (p -value=0,02) dalam penelitian ini mungkin disebabkan oleh tingginya status antioksidan endogen pada kelompok tersebut dibandingkan dengan kelompok lainnya⁹¹. Selain itu, kondisi obesitas dan diabetes pada kelompok DM serta kelompok perlakuan (P1 dan P2) kemungkinan menyebabkan terganggunya aktivasi jalur TLR-4, yang berakibat pada penurunan produksi sitokin proinflamasi seperti IL-1 β , IL-6, dan TNF- α , sehingga mempengaruhi sekresi CRP⁹². Namun demikian, penelitian ini tidak menilai status antioksidan endogen maupun kadar vitamin D, sehingga mekanisme tersebut masih memerlukan konfirmasi lebih lanjut.

Penelitian ini memiliki beberapa keterbatasan yang berpotensi menimbulkan bias terhadap hasil. Eksperimen dilakukan menggunakan 21 ekor tikus Wistar jantan yang dibagi menjadi empat kelompok (Kontrol, DM, P1, dan P2). Jumlah tikus yang relatif kecil pada tiap kelompok ($n=4-7$) membatasi kekuatan statistik (statistical power) dan dapat menyebabkan tidak terdeteksinya efek kecil namun signifikan. Penggunaan tikus jantan dimaksudkan untuk meminimalkan variabilitas hormonal, namun hal ini mengecualikan potensi pengaruh perbedaan biologis terkait jenis kelamin terhadap respons inflamasi dan metabolisme glukosa, sehingga menimbulkan bias seleksi dan mempengaruhi generalisasi hasil penelitian. Kami menetapkan kriteria khusus untuk tikus diabetes, yaitu memiliki kadar glukosa darah puasa (GDP) >140 mg/dL sebelum intervensi. Namun, variasi alami kadar glukosa dan hs-CRP pada baseline masih dapat memengaruhi hasil meskipun telah dilakukan randomisasi. Tikus dengan penurunan berat badan ekstrem, perubahan perilaku, atau yang mati selama penelitian dikeluarkan dari analisis. Pengecualian ini dapat menimbulkan bias kelangsungan hidup (survivorship bias), yang berpotensi mengurangi estimasi terhadap efek negatif diabetes maupun perlakuan yang diberikan. Meskipun kondisi kandang dan pakan dijaga secara konsisten, perbedaan dalam penanganan hewan dapat tetap memengaruhi tingkat stres dan respons inflamasi. Selain itu, penggunaan tikus dari satu pemasok tunggal (Farhan Farm Mouse) menimbulkan kekhawatiran mengenai keseragaman genetik, yang dapat membatasi validitas eksternal dari penelitian ini.

KESIMPULAN

Pemberian kefir susu kambing yang difortifikasi vitamin D3 dengan dosis 2 mL/200 g berat badan (setara dengan 600 IU/hari vitamin D3) dapat menurunkan kadar hs-CRP sebesar sekitar 0,83 mg/L pada tikus jantan *Rattus norvegicus* model diabetes melitus tipe 2, meskipun penurunan tersebut tidak signifikan secara statistik (p -value=0,21). Namun demikian, perlakuan ini secara signifikan menurunkan kadar glukosa darah puasa sekitar 65,50 mg/dL (p -value=0,03). Hasil ini menunjukkan bahwa kefir dapat membantu mempertahankan kadar

glukosa darah normal pada tikus diabetes, baik dalam bentuk tanpa fortifikasi maupun dengan fortifikasi vitamin D3.

ACKNOWLEDGEMENT

Penulis mengucapkan terima kasih kepada para dosen, asisten laboratorium, rekan penelitian, dan seluruh pihak yang telah berpartisipasi dalam penelitian ini.

KONFLIK KEPENTINGAN DAN SUMBER PENDANAAN

Seluruh penulis menyatakan tidak memiliki konflik kepentingan dalam artikel ini. Penelitian ini didanai oleh Pengembangan dan Penerapan Penelitian Universitas Diponegoro dengan nomor: 385-16/UN7.P4.3/PP/2018.

KONTRIBUSI PENULIS

FZ, BP: konseptor, investigasi, metodologi; BP, MA, AR: supervisi, penulisan *review* and *editing*; BP, AF, YE: analisis formal; YE: analisis formal, penyedia sumber dana; FZ, BP: penulisan draf asli.

REFERENSI

1. International Diabetes Federation. *IDF Diabetes Atlas Ninth Edition 2019: 463 Million People Living with Diabetes*. (2019).
2. World Health Organization. *Global Report on Diabetes*. (2016).
3. Prasad, M., Chen, E. W., Toh, S. A. & Gascoigne, N. R. J. Autoimmune Responses and Inflammation in Type 2 Diabetes. *J. Leukoc. Biol.* **107**, 739–748 (2020). DOI: 10.1002/JLB.3MR0220-243R.
4. Carrero, J. J., Andersson Franko, M., Obergfell, A., Gabrielsen, A. & Jernberg, T. Hs-Crp Level and the Risk of Death or Recurrent Cardiovascular Events in Patients with Myocardial Infarction: A Healthcare-Based Study. *J. Am. Heart Assoc.* **8**, e012638 (2019). DOI: 10.1161/JAHA.119.012638.
5. Antar, S. A. *et al.* Diabetes Mellitus: Classification, Mediators, and Complications; A Gate to Identify Potential Targets for the Development of New Effective Treatments. *Biomed. Pharmacother.* **168**, 115734 (2023). DOI: 10.1016/j.biopha.2023.115734.
6. Missel, A. L. *et al.* Association Between Fasting Insulin and C-Reactive Protein among Adults without Diabetes using a Two-Part Model: NHANES 2005–2010. *Diabetol. Metab. Syndr.* **13**, 29 (2021). DOI: 10.1186/s13098-021-00645-4.
7. Gupta, R. & Soni, S. An Overview on Inflammatory Biomarkers for Diabetes Mellitus. *Madridge J. Diabetes* **3**, 63–65 (2019). DOI: 10.18689/mjd-1000112.
8. Yerizel, E., Hendra, P., Edward, Z. & Bachtar, H. Pengaruh Hiperglikemia terhadap High Sensitive C Reactive Protein (hs-CRP) pada Penderita Diabetes Melitus Tipe 2. in *Prosiding Seminar Ilmiah Perhimpunan Biokimia & Biologi Molekuler Indonesia* (eds. Yuwono, T. *et al.*) 51–55 (Bagian Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada, 2015).
9. Kalma. Studi Kadar C-Reactive Protein (CRP) pada Penderita Diabetes Melitus Tipe 2. *J. Media Anal. Kesehat.* **1**, 62–68 (2018). DOI: <https://doi.org/10.32382/mak.v1i1.222>
10. Elimam, H., Abdulla, A. M. & Taha, I. M. Inflammatory Markers and Control of Type 2 Diabetes Mellitus. *Diabetes Metab. Syndr. Clin. Res. Rev.* **13**, 800–804 (2019). DOI: 10.1016/j.dsx.2018.11.061.
11. Gedebjerg, A. *et al.* CRP, C-Peptide, and Risk of First-Time Cardiovascular Events and Mortality in Early Type 2 Diabetes: A Danish Cohort Study. *Diabetes Care* **46**, 1037–1045 (2023). DOI: 10.2337/dc22-1353.
12. Bayani, M. A., Akbari, R., Banasaz, B. & Saeedi, F. Status of Vitamin-D in Diabetic Patients. *Casp. J. Intern. Med.* **5**, 40–2 (2014). PMID: 24490013.
13. Xiao, Y., Wei, L., Xiong, X., Yang, M. & Sun, L. Association between Vitamin D Status and Diabetic Complications in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus: A Cross-Sectional Study in Hunan China. *Front. Endocrinol. (Lausanne)*. **11**, 564738 (2020). DOI: 10.3389/fendo.2020.564738.
14. Mitri, J. & Pittas, A. G. Vitamin D and Diabetes. *Endocrinol. Metab. Clin. North Am.* **43**, 205–232 (2014). DOI: 10.1016/j.ecl.2013.09.010.
15. Chai, X., Jin, Y., Wei, Y. & Yang, R. The Effect of Vitamin D Supplementation on Glycemic Status and C-Reactive Protein Levels in Type 2 Diabetic Patients with Ischemic Heart Disease: A Protocol for Systematic Review and Meta-Analysis. *Medicine (Baltimore)*. **101**, e32254 (2022). DOI: 10.1097/MD.00000000000032254.
16. Yu, Y., Tian, L., Xiao, Y., Huang, G. & Zhang, M. Effect of Vitamin D Supplementation on Some Inflammatory Biomarkers in Type 2 Diabetes Mellitus Subjects: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Ann. Nutr. Metab.* **73**, 62–73 (2018). DOI: 10.1159/000490358.
17. Acharya, A. & Halemani, S. S. Role of Vitamin D in Diabetes Mellitus. *Int. J. Pharm. Sci. Res.* **7**, 1881–1888 (2016). DOI: 10.13040/IJPSR.0975-8232.7(5).1881-88.
18. Gupta, A., Kumar, D., Rajvanshi, S., Kumar, A. & Arya, T. To Study the Association of High Sensitivity C-Reactive Protein with Newly Diagnosed DM Type 2. *Journal, Indian Acad. Clin. Med.* **16**, 12–15 (2015).
19. AlGhamdi, S. A. *et al.* A single oral vitamin D3 bolus reduces inflammatory markers in healthy Saudi males. *Int. J. Mol. Sci.* **23**, 11992 (2022). DOI: 10.3390/ijms231911992.
20. Krajewska, M. *et al.* Vitamin D Effects on Selected Anti-Inflammatory and Pro-Inflammatory Markers of Obesity-Related Chronic Inflammation. *Front. Endocrinol. (Lausanne)*. **13**, 1–10 (2022). DOI: 10.3389/fendo.2022.920340.
21. Espersen, R. *et al.* Influence of Food Matrix Delivery System on the Bioavailability of Vitamin D3: A Randomized Crossover Trial in Postmenopausal Women. *Nutrition* **107**, 111911 (2023). DOI:10.1016/j.nut.2022.111911.

22. Meilina, A., Anjani, G. & Djamiatun, K. The Effect of Fortified Dadih (Fermented Buffalo Milk) with Vitamin D3 on Caecum Cholesterol Concentration and High Sensitivity C-Reactive Protein (hs-CRP) Level in Type 2 Diabetes Mellitus Rat Model. *Slovak J. Food Sci.* **14**, 960–966 (2020). DOI: <https://doi.org/10.5219/1446>.
23. Safitri, G. R. & Saktini, F. Pengaruh Pemberian Susu Kambing terhadap Gambaran Mikroskopis Hepar dan Kadar SGPT Tikus Wistar yang Terpapar Asap Kendaraan Bermotor. *Media Med. Muda* **4**, 834–848 (2015).
24. Leeuwen, S. S. van et al. Goat Milk Oligosaccharides: Their Diversity, Quantity, and Functional Properties in Comparison to Human Milk Oligosaccharides. *J. Agric. Food Chem.* **68**, 13469–13485 (2020). DOI: [10.1021/acs.jafc.0c03766](https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c03766).
25. Abbas, H. M., Hassan, F. A. M., El-Gawad, M. A. M. A. & Enab, A. K. Physicochemical Characteristics of Goat's Milk. *Life Science J.* **11**, 307–317 (2014).
26. Kibre, D., Tkue, T. & Fesseha, H. The Composition and Role of Goat Milk in Lactose Intolerance - A Review. *World Appl. Sci. J.* **38**, 302–308 (2020). DOI: [10.5829/idosi.wasj.2020.302.308](https://doi.org/10.5829/idosi.wasj.2020.302.308).
27. Stergiadis, S., Nørskov, N. P., Purup, S., Givens, I. & Lee, M. R. F. Comparative Nutrient Profiling of Retail Goat and Cow Milk. *Nutrients* **11**, 2282 (2019). DOI: [10.3390/nu11102282](https://doi.org/10.3390/nu11102282).
28. Fauziyyah, F., Panunggal, B., Afifah, D. N., Rustanti, N. & Anjani, G. Microbiological Characteristic and Nutrition Quality of Goat Milk Kefir Based on Vitamin D3 Fortification Time. in *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* vol. 116 012040 (2018).
29. Zhang, X. et al. Effects of Fermented Dairy Products on Inflammatory Biomarkers: A Meta-Analysis. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* **33**, 471–482 (2023). DOI: [10.1016/j.numecd.2022.12.014](https://doi.org/10.1016/j.numecd.2022.12.014).
30. Yilmaz, İ., Enver Dolar, M. & Özpınar, H. Effect of Administering Kefir on the Changes in Fecal Microbiota and Symptoms of Inflammatory Bowel Disease: A Randomized Controlled Trial. *Turkish J. Gastroenterol.* **30**, 242–253 (2019). DOI: [10.5152/tjg.2018.18227](https://doi.org/10.5152/tjg.2018.18227).
31. Azizi, N. F. et al. Kefir and Its Biological Activities. *Foods* **10**, 1210 (2021). DOI: [10.3390/foods10061210](https://doi.org/10.3390/foods10061210).
32. Setyawardani, T., Sumarmono, J., Rahardjo, A. H. D., Sulistyowati, M. & Widayaka, K. Kualitas Kimia, Fisik dan Sensori Kefir Susu Kambing yang Disimpan pada Suhu dan Lama Penyimpanan Berbeda. *Bul. Peternak.* **41**, 298–306 (2017). DOI: <https://doi.org/10.21059/buletinpeternak.v41i3.18266>.
33. Tóth, A. G. et al. A Glimpse of Antimicrobial Resistance Gene Diversity in Kefir and Yoghurt. *Sci. Rep.* **10**, 22458 (2020). DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-80444-5>.
34. Bourrie, B. C. T., Willing, B. P. & Cotter, P. D. The Microbiota and Health Promoting Characteristics of the Fermented Beverage Kefir. *Front. Microbiol.* **7**, 647 (2016). DOI: [10.3389/fmicb.2016.00647](https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00647).
35. Ostadrahimi, A. et al. Effect of Probiotic Fermented Milk (Kefir) on Glycemic Control and Lipid Profile in Type 2 Diabetic Patients: A Randomized Double-Blind Placebo-Controlled Clinical Trial. *Iran. J. Public Health* **44**, 228–237 (2015). PMID: 25905057.
36. Nurliyani, Harmayani, E. & Sunarti. Antidiabetic Potential of Kefir Combination from Goat Milk and Soy Milk in Rats Induced with Streptozotocin-Nicotinamide. *Korean J. Food Sci. Anim. Resour.* **35**, 847–858 (2015). DOI: [10.5851/kosfa.2015.35.6.847](https://doi.org/10.5851/kosfa.2015.35.6.847).
37. Hasan Al-Sheraji, S., Ismail, A., Azlan, A. & Manap, M. Nutrigenomic Effects of Fermented Milk Containing Bifidobacterium Longum Bb536 on Hepatic Cholesterologenic Genes in Hypercholesterolemic Rats. *Adv. Dairy Res.* **07**, 220 (2019). DOI: [10.35248/2329-888X.19.7.220](https://doi.org/10.35248/2329-888X.19.7.220).
38. Rasipin, R., Dharmana, E., Hadisaputro, S. & S. The Effects of Kefir on the Inflammatory Status and Thyroid Function (Experimental Study on Wistar Rats After Exposed to Chlorpyrifos). *Asian J. Pharm. Clin. Res.* **9**, 165 (2016). DOI: [10.22159/ajpcr.2016.v9i5.13122](https://doi.org/10.22159/ajpcr.2016.v9i5.13122).
39. Nurliyani, Harmayani, E. & Sunarti. Nitric Oxide and Inflammatory Cytokine Productions in Diabetic Rats Supplemented with Goat Milk and Soy Milk Kefir. *J. Food Nutr. Res.* **3**, 384–391 (2015). DOI: [10.12691/jfnr-3-6-5](https://doi.org/10.12691/jfnr-3-6-5).
40. Abyyudha, D., Widyastuti, N. & Anjani, G. Kelarutan Vitamin D3 (Cholecalciferol) dalam Sistem Kefir Susu Kambing. *J. Nutr. Coll.* **8**, 138–145 (2019). DOI: <https://doi.org/10.14710/jnc.v8i3.25803>.
41. Menteri Kesehatan RI. Peraturan Menteri Kesehatan Nomor 28 Tahun 2019 tentang Angka Kecukupan Gizi yang Dianjurkan untuk Masyarakat Indonesia. *Database Peraturan JDIH BPK* 1–33 <https://peraturan.bpk.go.id/Details/138621/permenkes-no-28-tahun-2019> (2019).
42. Sharma, A. et al. Safety and Blood Sample Volume and Quality of a Refined Retro-Orbital Bleeding Technique in Rats using a Lateral Approach. *Lab Anim. (NY)*. **43**, 63–66 (2014). DOI: [10.1038/labana.432](https://doi.org/10.1038/labana.432).
43. Yan, L. J. The Nicotinamide/Streptozotocin Rodent Model of Type 2 Diabetes: Renal Pathophysiology and Redox Imbalance Features. *Biomolecules* **12**, 1225 (2022). DOI: [10.3390/biom12091225](https://doi.org/10.3390/biom12091225).
44. Pangaribuan, A. & Batubara, F. R. Relationship of Adrenaline Administration to Increased Blood Sugar Levels in Male Rattus Norvegicus Rats. *J. Complement. Altern. Med. Res.* **21**, 1–7 (2023). DOI: [10.9734/JOCAMR/2023/v21i3436](https://doi.org/10.9734/JOCAMR/2023/v21i3436).
45. Ambade, V. N., Sharma, Y. & Somani, B. Methods for Estimation of Blood Glucose : A Comparative Evaluation. *Med. J. Armed Forces India* **54**, 131–133 (1998). DOI: [10.1016/S0377-1237\(17\)30502-6](https://doi.org/10.1016/S0377-1237(17)30502-6).
46. Fine Test. *Rat hs-CRP (High Sensitivity C-Reactive*

- Protein) ELISA Kit. Fine Test (Fine Biotech Co., Ltd, 2019).
47. Elabscience. Rat Hs-CRP (High Sesity C-Reactive Protein) ELISA Kit. Elabscience Biotechnology Inc. All Rights Reserved (2017).
48. Tang, Y. et al. The Baseline Levels and Risk Factors for High-Sensitive C-Reactive Protein in Chinese Healthy Population. *Immun. Ageing* **15**, 21 (2018). DOI: 10.1186/s12979-018-0126-7.
49. Alsayadi, M. et al. Evaluation of Anti-Hyperglycemic and Anti-Hyperlipidemic Activities of Water Kefir as Probiotic on Streptozotocin-Induced Diabetic Wistar Rats. *J. Diabetes Mellit.* **04**, 85–95 (2014). DOI: 10.4236/jdm.2014.42015.
50. Barragán-Bonilla, M. I. et al. Combined Administration of Streptozotocin and Sucrose Accelerates the Appearance of Type 2 Diabetes Symptoms in Rats. *J. Diabetes Res.* **2019**, 3791061 (2019). Barragán-Bonilla, M. I. et al. Combined Administration of Streptozotocin and Sucrose Accelerates the Appearance of Type 2 Diabetes Symptoms in Rats. *J. Diabetes Res.* **2019**, 3791061 (2019).
51. Nugroho, F. A., Ginting, R. M. S. & Nurdiana. Kadar Nf- κ B Pankreas Tikus Model Type 2 Diabetes Mellitus dengan Pemberian Tepung Susu Sapi. *Indones. J. Hum. Nutr.* **2**, 91–100 (2015). DOI: <https://doi.org/10.21776/ub.ijhn.2015.002.02.4>
52. Gatlaveau, M. et al. *Adult Obesity and Type 2 Diabetes*. (Public Health England, 2014).
53. Goyal, S. N. et al. Challenges and Issues with Streptozotocin-Induced Diabetes – A Clinically Relevant Animal Model to Understand the Diabetes Pathogenesis and Evaluate Therapeutics. *Chem. Biol. Interact.* **244**, 49–63 (2016). DOI: 10.1016/j.cbi.2015.11.032.
54. Butkowski, E. G. & Jelinek, H. F. Hyperglycaemia, Oxidative Stress and Inflammatory Markers. *Redox Rep.* **22**, 257–264 (2017). DOI: 10.1080/13510002.2016.1215643.
55. Lamb, R. E. & Goldstein, B. J. Modulating an Oxidative-Inflammatory Cascade: Potential New Treatment Strategy for Improving Glucose Metabolism, Insulin Resistance, and Vascular Function. *Int. J. Clin. Pract.* **62**, 1087–1095 (2008). DOI: doi: 10.1111/j.1742-1241.2008.01789.x.
56. Sun, Y. et al. Antioxidant Properties of Fermented Soymilk and Its Anti-Inflammatory Effect on DSS-Induced Colitis in Mice. *Front. Nutr.* **9**, 1088949 (2023). DOI: <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.1088949>.
57. Lee, J. Y. & Kang, C. H. Probiotics Alleviate Oxidative Stress in H2O2-Exposed Hepatocytes and t-BHP-Induced C57BL/6 Mice. *Microorganisms* **10**, 234 (2022). DOI: DOI: 10.3390/microorganisms10020234.
58. Judiono, Purwaningsih, E., Djokomoeljanto, R. & Hadisaputro, S. Pengaruh Pemberian Kefir Bening terhadap Kadar Glukosa Darah pada Tikus Wistar Hiperlikemia yang Dinduksi Streptozotocin (STZ). *Penelit. Gizi dan Makanan* **32**, 131–138 (2009). DOI:
59. Rosa, D. D. et al. Kefir Reduces Insulin Resistance and Inflammatory Cytokine Expression in an Animal Model of Metabolic Syndrome. *Food Funct.* **7**, 3390–3401 (2016). DOI: 10.1039/c6fo00339g.
60. Zhou, W., Chen, G., Chen, D., Ye, H. & Zeng, X. The Antidiabetic Effect and Potential Mechanisms of Natural Polysaccharides based on the Regulation of Gut Microbiota. *J. Funct. Foods* **75**, 104222 (2020). DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jff.2020.104222>.
61. Angelin, J. & Kavitha, M. Exopolysaccharides from Probiotic Bacteria and Their Health Potential. *Int. J. Biol. Macromol.* **152**, 853–865 (2020). DOI: DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2020.06.190.
62. Sun, L.-J., Lu, J.-X., Li, X.-Y., Zheng, T.-S. & Zhan, X.-R. Effects of Vitamin D Supplementation on Glucose and Lipid Metabolism in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus and Risk Factors for Insulin Resistance. *World J. Diabetes* **14**, 1514–1523 (2023). DOI: DOI: 10.4239/wjd.v14.i10.1514.
63. Musazadeh, V., Kavyani, Z., Mirhosseini, N., Dehghan, P. & Vajdi, M. Effect of Vitamin D Supplementation on Type 2 Diabetes Biomarkers: An Umbrella of Interventional Meta-Analyses. *Diabetol. Metab. Syndr.* **15**, 76 (2023). DOI: 10.1186/s13098-023-01010-3.
64. Li, X., Liu, Y., Zheng, Y., Wang, P. & Zhang, Y. The Effect of Vitamin D Supplementation on Glycemic Control in Type 2 Diabetes Patients: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Nutrients* **10**, 375 (2018). DOI: 10.3390/nu10030375.
65. Wu, J., Atkins, A., Downes, M. & Wei, Z. Vitamin D in Diabetes: Uncovering the Sunshine Hormone's Role in Glucose Metabolism and Beyond. *Nutrients* **15**, 1997 (2023). DOI: 10.3390/nu15081997.
66. Mitrašinović-Brulić, M. et al. Vitamin D3 Attenuates Oxidative Stress and Regulates Glucose Level and Leukocyte Count in a Semi-Chronic Streptozotocin-Induced Diabetes Model. *J. Diabetes Metab. Disord.* **20**, 771–779 (2021). DOI: 10.1007/s40200-021-00814-2.
67. Szymczak-Pajor, I. & Sliwinska, A. Analysis of Association between Vitamin D Deficiency and Insulin Resistance. *Nutrients* **11**, 794 (2019). DOI: 10.3390/nu11040794.
68. Sunarti, Nurliyani, Tyas, A. S. A., Kristian, S. D. & Prasetyastuti. The Influence of Goat Milk and Soybean Milk Kefir on IL-6 and CRP Levels in Diabetic Rats. *Rom. J. Diabetes Nutr. Metab. Dis.* **22**, 261–267 (2015). DOI: 10.1515/rjdnmd-2015-0032.
69. Stanimirovic, J. et al. Role of C-Reactive Protein in Diabetic Inflammation. *Mediators Inflamm.* **2022**, 3706508 (2022). DOI: 10.1155/2022/3706508.
70. Kao, H. F. et al. Goat Milk Consumption Enhances Innate and Adaptive Immunities and Alleviates Allergen-Induced Airway Inflammation in Offspring Mice. *Front. Immunol.* **11**, 184 (2020). DOI: 10.3389/fimmu.2020.00184.

71. Davras, F., Zeynep Banu Guzel-Seydim & Tas, T. K. Immunological Effects of Kefir Produced from Kefir Grains Versus Starter Cultures when Fed to Mice. *Funct. Foods Heal. Dis.* **8**, 367–378 (2018). DOI: <https://doi.org/10.31989/ffhd.v8i8.533>.
72. Curciarello, R. *et al.* Probiotic Lactobacilli Isolated from Kefir Promote Down-Regulation of Inflammatory Lamina Propria T Cells from Patients with Active IBD. *Front. Pharmacol.* **12**, 658026 (2021). DOI: 10.3389/fphar.2021.658026.
73. Bohlouli, J. *et al.* Effect of Probiotics on Oxidative Stress and Inflammatory Status in Diabetic Nephropathy: A Systematic Review and Meta-Analysis of Clinical Trials. *Heliyon* **7**, e05925 (2021). DOI: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e05925>.
74. Wisudanti, D. D. The Effect of Kefir on the Immune Response of Healthy Volunteers In Vitro. *J. Agromedicine Med. Sci.* **3**, 28 (2017). DOI:10.19184/ams.v3i2.5067.
75. Mazziotta, C., Tognon, M., Martini, F., Torreggiani, E. & Rotondo, J. C. *Probiotics Mechanism of Action on Immune Cells and Beneficial Effects on Human Health.* *Cells* vol. 12 (2023). DOI: 10.3390/cells12010184.
76. Duan, T., Du, Y., Xing, C., Wang, H. Y. & Wang, R. F. Toll-Like Receptor Signaling and Its Role in Cell-Mediated Immunity. *Front. Immunol.* **13**, 812774 (2022). DOI: 10.3389/fimmu.2022.812774.
77. Cruz, P. L. *et al.* Nicotinamide Attenuates Streptozotocin-Induced Diabetes Complications and Increases Survival Rate in Rats: Role of Autonomic Nervous System. *BMC Endocr. Disord.* **21**, 133 (2021). DOI: 10.1186/s12902-021-00795-6.
78. Mohammed, A. *et al.* Effect of Dapagliflozin and Atorvastatin on the Kidney of Type 2 Diabetic Rat Model. *Senses Sci.* **8**, 1250–1263 (2021). DOI: 10.14616/sands-2021-2-12501263.
79. Sartang, M. M., Mazloomi, S. M., Tanideh, N. & Zadeh, A. R. The Effects of Probiotic Soymilk Fortified with Omega-3 on Blood Glucose, Lipid Profile, Haematological and Oxidative Stress, and Inflammatory Parameters in Streptozotocin Nicotinamide-Induced Diabetic Rats. *J. Diabetes Res.* **2015**, 1–9 (2015). DOI: 10.1155/2015/696372.
80. Lusito, L. *et al.* Vitamin D Insufficiency with Elevated ADMA and Hs-CRP: A Single-Center Study of Chronic kidney Disease Patients Undergoing Hemodialysis. *Indones. J. Kidney Hypertens.* **1**, 20–27 (2024). DOI: <https://doi.org/10.32867/inakidney.v1i2.134>.
81. Pražnikar, Z. J., Kenig, S., Vardjan, T., Bizjak, M. Č. & Petelin, A. Effects of Kefir or Milk Supplementation on Zonulin in Overweight Subjects. *J. Dairy Sci.* **103**, 3961–3970 (2020). DOI: 10.3168/jds.2019-17696.
82. Bellikci-Koyu, E. *et al.* Effects of Regular Kefir Consumption on Gut Microbiota in Patients with Metabolic Syndrome: A Parallel-Group, Randomized, Controlled Study. *Nutrients* **11**, 2089 (2019). DOI: 10.3390/nu11092089.
83. Chen, N. *et al.* Effect of Vitamin D Supplementation on the Level of Circulating High-Sensitivity C-Reactive Protein: A Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Nutrients* **6**, 2206–2216 (2014). DOI: 10.3390/nu6062206.
84. Mojani, M. S. *et al.* Evaluation of Metabolic and Immunological Changes in Streptozotocin-Nicotinamide Induced Diabetic Rats. *Cell. Immunol.* **289**, 145–149 (2014). DOI: 10.1016/j.cellimm.2014.04.004.
85. Mazanova, A. *et al.* The Link between Vitamin D Status and NF-κB-Associated Renal Dysfunction in Experimental Diabetes Mellitus. *Biochim. Biophys. Acta - Gen. Subj.* **1866**, 130136 (2022). DOI: 10.1016/j.bbagen.2022.130136.
86. Alatawi, F. S., Faridi, U. A. & Alatawi, M. S. Effect of Treatment with Vitamin D Plus Calcium on Oxidative Stress in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Saudi Pharm. J.* **26**, 1208–1213 (2018). DOI: 10.1016/j.jsps.2018.07.012.
87. Yang, L.-P. *et al.* Tissue-Specific Regulatory Effects of Vitamin D and Its Receptor on Calbindin- D28K and Calbindin-D9K. *Biochem. Mol. Biol. J.* **4**, 1–9 (2018). DOI: 10.21767/2471-8084.100072.
88. Pujol, J. B. *et al.* Isx9 Regulates Calbindin D28K Expression in Pancreatic β Cells and Promotes β Cell Survival and Function. *Int. J. Mol. Sci.* **19**, 2542 (2018). DOI: 10.3390/ijms19092542.
89. Chen, Y. H. *et al.* Vitamin D3 Inhibits Lipopolysaccharide-Induced Placental Inflammation through Reinforcing Interaction between Vitamin D Receptor and Nuclear Factor Kappa B p65 Subunit. *Sci. Rep.* **5**, 10871 (2015). DOI: <https://doi.org/10.1038/srep10871>.
90. Arafat, E. S., Taha, I. M., Kattan, S. W., Babteen, N. A. & Fawzy, I. Associations between Vitamin D and Type 2 Diabetes Mellitus: The Role of Vitamin D Receptor and Binding Protein. *J. Diabetes Mellit.* **10**, 222–235 (2020). DOI: 10.4236/jdm.2020.104018.
91. Dinić, S. *et al.* Oxidative Stress-Mediated Beta Cell Death and Dysfunction as a Target for Diabetes Management. *Front. Endocrinol. (Lausanne).* **13**, 1006376 (2022). DOI: 10.3389/fendo.2022.1006376.
92. Kuwabara, W. M. T., Yokota, C. N. F., Curi, R. & Alba-Loureiro, T. C. Obesity and Type 2 Diabetes Mellitus Induce Lipopolysaccharide Tolerance in Rat Neutrophils. *Sci. Rep.* **8**, 17534 (2018). DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-018-35809-2>.