

## KADAR GLUKOSA DARAH DAN GAMBARAN HISTOLOGIS PANKREAS MENCIT (*Mus musculus* L.) YANG DIINDUKSI ALOKSAN SETELAH PERLAKUAN EKSTRAK RIMPANG TEMU MANGGA (*Curcuma mangga* Val.)

### BLOOD GLUCOSE LEVEL AND PANCREAS HISTOLOGICAL SECTION OF MICE (*Mus musculus* L.) INDUCED BY ALLOXAN AFTER TREATMENT OF *Curcuma mangga* Val. RHIZOME EXTRACT

MADIHAH, FITRIANI ALFINA DAN YETTY YUSRI GANI

Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Padjadjaran

Jl. Raya Bandung-Sumedang. Km. 21 Jatinangor Sumedang 45363

Email: madihah@unpad.ac.id

#### INTISARI

Pengembangan obat berbahan herbal untuk diabetes mellitus terus berkembang untuk dalam rangka mencari alternatif atas penggunaan obat sintesis yang harganya relatif mahal. Penelitian ini bertujuan untuk menguji potensi ekstrak rimpang temu mangga (*Curcuma mangga* Val.) dalam menurunkan kadar glukosa darah dan memperbaiki kerusakan struktur histologis kelenjar pankreas pada mencit (*Mus musculus* L.) jantan galur Swiss-Webster yang telah diinduksi oleh aloksan. Metode yang digunakan yaitu eksperimental dengan 5 perlakuan dan 5 ulangan. Dosis aloksan yang digunakan adalah 200 mg/kg bb, sedangkan dosis ekstrak rimpang temu mangga adalah 100, 200, 400 dan 800 mg/kg bb. Parameter yang diukur yaitu berat badan, kadar glukosa darah puasa dengan menggunakan metode tes toleransi kadar glukosa darah, dan persentase sel  $\beta$  pankreas yang mengalami nekrosis. Data dianalisis dengan ANAVA dengan taraf kepercayaan 95% dan dilanjutkan dengan uji jarak berganda Duncan. Hasil pengamatan menunjukkan tidak terdapat perbedaan pada berat badan hewan uji pada semua perlakuan. Persentase penurunan kadar glukosa darah puasa perlakuan ekstrak temu mangga dosis 400 mg/kg bb (48,712%) berbeda nyata dengan perlakuan aloksan (0,588%) ( $p < 0,05$ ). Persentase sel  $\beta$  yang mengalami nekrosis antar perlakuan ekstrak temu mangga dosis 200, 400 dan 800 mg/kg bb berbeda nyata dengan aloksan (22,75 $\pm$ 3,68 %) ( $p < 0,05$ ). Hal ini menunjukkan ekstrak rimpang temu mangga dosis 400 mg/kg optimum untuk menurunkan kadar glukosa darah dan memperbaiki struktur histologis pankreas pada mencit yang diinduksi aloksan.

*Kata kunci: kadar glukosa darah puasa, rimpang temu mangga, sel  $\beta$  pankreas,*

#### ABSTRACT

Herbal-based drug development for diabetes mellitus continues to grow in order to find alternatives of the use of synthetic drugs which is relatively expensive. The present study examined the potency of temu mangga (*Curcuma mangga* Val.) rhizome extract in decreasing blood glucose levels and repairing histological damage of pancreas endocrine gland in male mice (*Mus musculus* L.) Swiss-Webster that has been induced by alloxan. The experimental method with 5 treatments and 5 replications were used. The dose of alloxan was 200 mg/kg bw, while the dose of temu mangga extract were 100, 200, 400 and 800 mg/kg bw. The measured parameters were the body weight, fasting blood glucose levels by using blood glucose tolerance test, and the percentage of pancreatic  $\beta$  cells that undergo necrosis. Data were analyzed by ANOVA with 95% confidence level and continued with Duncan's multiple range tests. The results showed no difference on body weight of test animals in all treatments. The reduction percentage of fasting blood glucose levels from temu mangga rhizome extract by dosage of 400 mg/kg bw (48.712%) was significantly different from the treatment of alloxan (0.588%) ( $p < 0.05$ ). The percentage of  $\beta$  cells that undergo necrosis from temu mangga rhizome by dosages of 200, 400, and 800 mg/kg bw were significantly different with alloxan (22.75 $\pm$ 3.68 %) ( $p < 0.05$ ). In conclusion, temu mangga rhizome extract by dosage of 400 mg/kg was optimum to decrease blood glucose levels and repair the pancreas histological damage in mice that were induced by alloxan.

*Keywords : fasting blood glucose level, temu mangga,  $\beta$  cell pancreas,*

## PENDAHULUAN

Diabetes mellitus (DM) merupakan suatu kondisi kelainan metabolisme yang merupakan gabungan dari berbagai gangguan dalam sistem metabolisme tubuh akibat kondisi hiperglikemia kronis yang berkaitan dengan kelainan metabolisme karbohidrat, lemak, dan protein (World Health Organization, 1999). Pada penderita diabetes terlihat gejala khas 3P yaitu poliuria, polidipsi dan polifagia, yang disertai dengan hasil pemeriksaan glukosa darah sewaktu lebih dari 200 mg/dl atau glukosa darah puasa lebih dari 126 mg/dl (Yuriska, 2009). Hiperglikemia kronis pada penderita DM biasanya berhubungan dengan disfungsi/kerusakan sel  $\beta$  pankreas. Kerusakan ini dapat disebabkan oleh infeksi virus (Roivainen *et al.*, 2000), reaksi autoimun berupa serangan antibodi terhadap sel-sel  $\beta$  (Koczwara *et al.*, 2004), zat diabetogenik (stropozotosin, aloksan) (Szkudelski, 2001), toksisitas glukosa (Robertson *et al.*, 2004), kegemukan, dan faktor genetik (Suarsana *et al.*, 2008). Kerusakan yang disebabkan oleh invasi virus, reaksi autoimun dan zat diabetogenik merupakan penyebab terbesar DM tipe 1 (Szkudelski, 2001).

Pengobatan diabetes mellitus memerlukan jangka waktu lama dan biayanya tidak murah, sedangkan obat sintesis yang dikonsumsi harganya cukup mahal. Hal ini menyebabkan banyak penderita diabetes yang beralih pada obat-obatan tradisional, karena harganya relatif lebih murah dan efek sampingnya pun lebih kecil. Secara tradisional, berbagai tanaman diketahui berkhasiat menurunkan kadar glukosa darah, diantaranya temu mangga (*Curcuma mangga* Val.). Menurut Depkes RI (1999), rimpang temu mangga dipadu dengan temu putih (*Curcuma zedoaria*) dapat menyembuhkan diabetes. Temu mangga kaya akan kandungan bioaktif seperti tanin, kurkumin, gula, minyak atsiri, damar, flavonoid, dan protein toksis (Hariana, 2006 dalam Cholis, 2009). Berdasarkan beberapa penelitian, tumbuhan yang mengandung senyawa bioaktif seperti tannin dan flavonoid mempunyai aktivitas antidiabetes (Velayutham *et al.*, 2012; Babu *et al.*, 2013). Namun demikian potensi temu mangga sebagai herbal antidiabetes belum diuji secara ilmiah. Oleh karena itu, pada penelitian ini akan diuji potensi ekstrak rimpang temu mangga dalam menurunkan kadar glukosa darah dan pengaruhnya terhadap struktur histologis kelenjar pankreas, untuk memperluas penggunaan dan pengembangan tanaman ini sebagai herbal antidiabetes.

Pada penelitian ini, mencit akan diinduksi menggunakan aloksan agar mengalami kondisi diabetik (hiperglikemik) eksperimental. Aloksan adalah suatu substrat yang secara struktural merupakan derivat pirimidin sederhana dan berperan sebagai senyawa diabetogenik, yang dapat digunakan secara intravena, intraperitoneal dan subkutan (Szkudelski, 2001; Rees dan Alcolado, 2005). Aloksan bersifat toksik secara selektif terhadap sel  $\beta$  karena dapat terakumulasi di sel-sel  $\beta$

sebagai analog glukosa yang masuk ke dalam sel melalui transporter glukosa GLUT2 (Lenzen, 2008).

## MATERI DAN METODE

### Materi

Bahan uji yang digunakan adalah ekstrak rimpang temu mangga (*Curcuma mangga* Val.) dan aloksan (Aloxan monohydrate, Sigma Aldrich). Hewan uji yang digunakan pada penelitian ini adalah mencit (*Mus musculus L.*) jantan galur Swiss Webster berumur 10-12 minggu dengan berat 20-25 g yang diperoleh dan dipelihara di Departemen Biologi, FMIPA-UNPAD. Mencit diberi pakan butiran pakan (CP 551, PT. Charoen Pokphand Indonesia) dan diberi minum air ledeng secara *ad libitum*. Kandang diberi alas sekam dan ditempatkan di dalam ruangan dengan pencahayaan lampu selama 12 jam (pukul 06.00 - 18.00). Kebersihan kandang dijaga dengan cara mengganti alas sekam dua kali seminggu. Suhu di dalam ruang pemeliharaan berkisar antara 23-32°C.

### Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan enam perlakuan dan empat kali pengulangan. Perlakuan tersebut antara lain (i) kontrol negatif (KN), mencit hanya diberi larutan PGA 2%; (ii) kontrol positif (KP), mencit diinduksi aloksan dosis 200 mg/kg bb secara intraperitoneal (Zhou *et al.*, 2009); dan (iii) P1, P2, P3, dan P4, mencit diinduksi aloksan dosis 200 mg/kg bb secara intraperitoneal dan ekstrak rimpang temu mangga berturut-turut masing-masing dosis 100, 200, 400 dan 800 mg/kg bb secara oral yang dilarutkan dalam larutan PGA 2%. Perlakuan dilakukan selama 24 hari. Parameter yang diukur adalah berat badan, kadar glukosa darah puasa dan struktur histologis kelenjar pankreas mencit berupa persentase sel  $\beta$  yang mengalami nekrosis.

### Tata Kerja Perlakuan

Dua puluh empat ekor mencit jantan dipuasakan terlebih dahulu selama kurang lebih 12 jam, tetapi tetap diberikan minum secara *ad libitum*, kemudian disuntik dengan aloksan dosis 200 mg/kg bb (Zhou *et al.*, 2009) secara intraperitoneal. Mencit selanjutnya dipelihara selama tiga hari hingga mengalami diabetes tipe 1 dengan ciri-ciri terjadi peningkatan kadar glukosa darah puasa yang melebihi 11 mmol/L (200 mg/dL) (Zhou *et al.*, 2009). Ekstrak temu mangga diberikan secara oral pada hari ke-3, ke-10, ke-17 dan ke-24. Pada penelitian ini, kadar glukosa darah mencit diukur dengan menggunakan alat pengukur kadar glukosa darah (glukometer) digital dengan merk *Accu-Chek®* (Diniz *et al.*, 2008).

Pengamatan histologis organ pankreas mencit dilakukan untuk mengetahui efek antidiabetes ekstrak rimpang temu mangga. Pada hari perlakuan ke-28,

Tabel 1. Rata-rata dan Persentase Penurunan Kadar Glukosa Darah Puasa pada Mencit Sebelum dan Setelah Perlakuan.

Perlakuan	Rata-rata Kadar Glukosa Darah (mg/dL)					Persentase Penurunan Kadar Glukosa Darah Puasa (%)
	Sebelum Perlakuan Alokasan		Setelah Perlakuan Alokasan			
	Hari ke-0	Hari ke-3	Hari ke-10	Hari ke-17	Hari ke-24	
KN	94,0±33,19	105,8±20,56	104,8±19,65	129,0±10,61	125,3±33,73	-23,241 <sup>a</sup>
KP	138,0±35,73	266,5±67,69	256,3±114,56	269,0±96,87	179,5±96,69	0,588 <sup>ab</sup>
P1	132,5±18,48	371,8±178,88	324,8±160,22	383,8±198,51	379,3±205,69	0,162 <sup>ab</sup>
P2	131,5±45,11	370,8±139,10	159,5±115,32	262,3±123,03	249,3±118,47	31,545 <sup>bc</sup>
P3	104,8±3,68	260,0±73,86	190,8±109,17	120,3±57,22	133,8±53,51	48,712 <sup>c</sup>
P4	112,0±10,23	283,5±59,83	275,5±43,39	287,8±129,78	307,3±66,80	15,983 <sup>abc</sup>

Keterangan :  
 Data dianalisis dengan ANAVA dengan taraf kepercayaan 95 %.  
 Huruf yang berbeda pada satu kolom menandakan bahwa terdapat perbedaan yang nyata antar perlakuan berdasarkan uji jarak berganda Duncan ( $p < 0,05$ ).

dilakukan isolasi organ pankreas, lalu pankreas difiksasi dalam larutan Bouin. Sediaan histologis pankreas dibuat preparat dengan metode parafin dan diwarnai dengan Hematoksin-Floksin (Humason, 1967 dengan modifikasi). Parameter yang diamati adalah frekuensi sel  $\beta$  yang mengalami nekrosis per 100 sel  $\beta$  yang diamati.

**Analisis Data**

Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan ANAVA (Analisis Variansi) pada taraf kepercayaan 95% untuk mengetahui potensi ekstrak rimpang temu mangga dalam menurunkan kadar glukosa darah dan memperbaiki struktur pankreas, dan jika terdapat perbedaan nyata antar perlakuan dilanjutkan dengan Uji Jarak Berganda Duncan (Gomez dan Gomez, 1995).

**HASIL**

Hasil penelitian menunjukkan tidak terjadi perubahan berat badan yang signifikan pada setiap perlakuan. Hasil rata-rata dan persentase penurunan kadar glukosa darah puasa serta hasil uji jarak berganda Duncan pada semua perlakuan disajikan pada Tabel 1. Pemberian aloksan dosis 200 mg/kg bb terbukti dapat meningkatkan kadar glukosa darah puasa mencit hingga di atas 200 mg/dL (KP, P1, P2, P3, dan P4) pada 3 hari setelah perlakuan. Hasil ini sesuai dengan penelitian Zhou *et al.* (2009). Pemberian ekstrak temu mangga cenderung dapat menurunkan kadar glukosa darah yang dimulai pada hari ke-10 hingga ke-24, terutama pada perlakuan P2 dan P3. Berdasarkan hasil analisis statistik didapatkan bahwa penurunan kadar glukosa darah pada perlakuan P2 dan P3 berbeda nyata dengan perlakuan KP ( $p < 0,05$ ), tetapi penurunan kadar glukosa darah yang paling tinggi terdapat pada perlakuan P3 dengan persentase 48,71%. Penurunan kadar glukosa darah pada perlakuan P3 ini menunjukkan bahwa dengan dosis pemberian ekstrak rimpang temu mangga 400mg/kg bb mampu memperbaiki kinerja sel  $\beta$  pankreas yang diduga meningkatkan jumlah insulin sehingga kadar glukosa darah menurun. Data penurunan kadar glukosa darah ini didukung dengan adanya data persentase penurunan sel  $\beta$  yang mengalami nekrosis.

Pulau Langerhans terdiri atas sel  $\alpha$ , sel  $\delta$ , dan sel

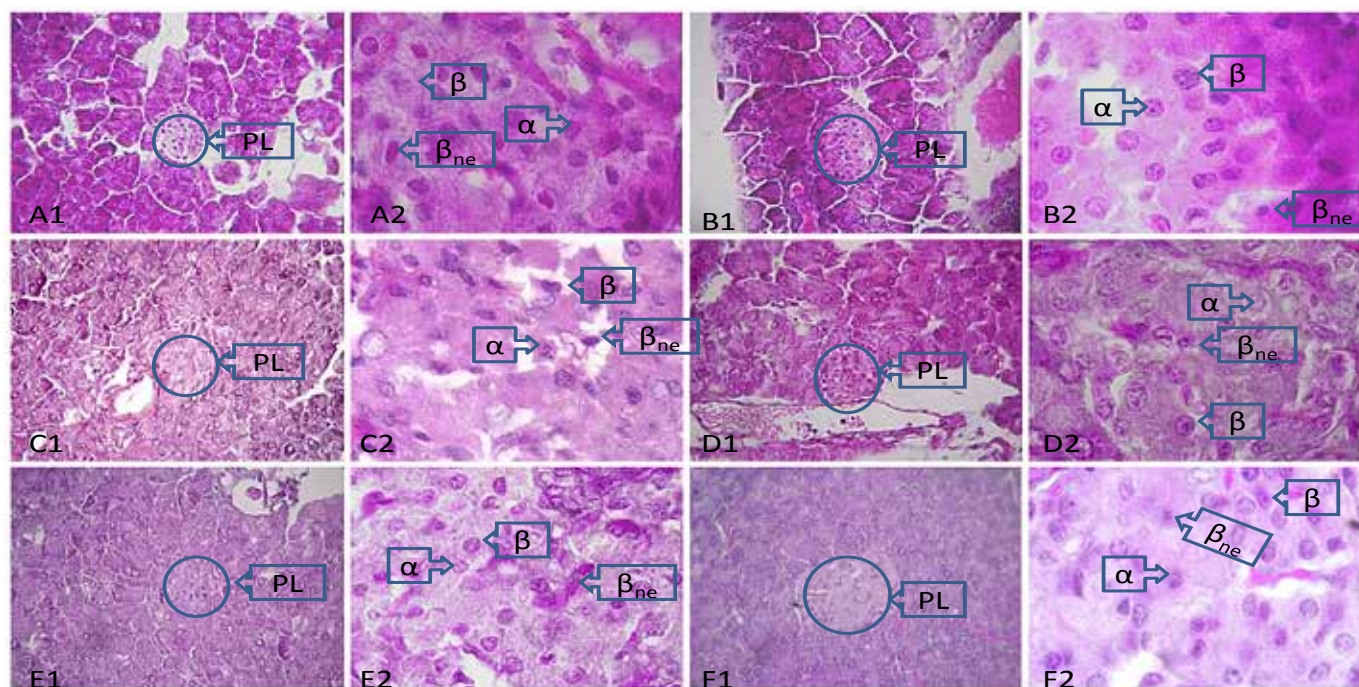
$\beta$ . Sel  $\alpha$  dan sel  $\delta$  jumlahnya lebih sedikit dan terletak di bagian perifer pulau Langerhans, sedangkan sel  $\beta$  jumlahnya lebih banyak dan terletak di bagian tengah pulau Langerhans. Dengan menggunakan pewarnaan haematoksin-floksin sel  $\alpha$  akan berwarna merah, dan sel  $\beta$  akan berwarna biru (Eroschenko, 2003). Berdasarkan hasil pengamatan histologis, terdapat kerusakan sel  $\beta$  pankreas pada seluruh perlakuan berupa nekrosis, dan pada penelitian ini terjadinya nekrosis terutama diduga karena pemberian aloksan. Sel  $\beta$  yang mengalami nekrosis, memiliki inti sel yang berwarna lebih hitam dan mengerut jika dibandingkan dengan sel  $\beta$  normal, seperti yang ditampilkan pada Gambar 1.

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa persentase nekrosis pada perlakuan P1 berbeda nyata dengan perlakuan KN namun tidak berbeda nyata dengan perlakuan KP (Tabel 2.) dan diduga dosis ekstrak rimpang temu mangga yang diberikan belum dapat memperbaiki kerusakan sel  $\beta$  pankreas akibat pemberian aloksan. Untuk perlakuan P2 terlihat berbeda nyata dengan KN dan terdapat penurunan rata-rata persentase nekrosis. Hasil perlakuan P3 dan P4 tidak berbeda nyata dengan perlakuan KN dan nilai rata-rata persentase nekrosis mendekati nilai KN, namun berbeda nyata dengan KP ( $p < 0,05$ ). Perbedaan jumlah sel nekrosis yang terjadi pada setiap perlakuan tersebut diduga sebagai respons perbedaan senyawa flavonoid yang terkandung dalam dosis ekstrak rimpang temu mangga terhadap hewan uji yang menderita diabetes. Hal ini menunjukkan bahwa dengan kandungan flavonoid dalam dosis yang lebih tinggi dari ekstrak rimpang temu mangga mampu mengurangi kerusakan sel  $\beta$  pankreas dan menurunkan kadar glukosa darah puasa.

Tabel 2. Persentase Rata-rata Nekrosis Sel  $\beta$  Pankreas setelah Perlakuan

Perlakuan	Rata-rata Jumlah sel $\beta$ Normal	Rata-rata Jumlah sel $\beta$ Nekrosis	Rata-rata Persentase Nekrosis (%)
KN	87,25 ± 0,96	12,75 ± 0,96	12,75 ± 0,96 <sup>a</sup>
KP	77,25 ± 3,68	22,75 ± 3,68	22,75 ± 3,68 <sup>c</sup>
P1	78,50 ± 3,87	21,50 ± 3,87	21,50 ± 3,87 <sup>c</sup>
P2	83,00 ± 2,94	17,00 ± 2,94	17,00 ± 2,94 <sup>b</sup>
P3	84,25 ± 1,25	15,75 ± 1,26	15,75 ± 1,26 <sup>ab</sup>
P4	84,25 ± 1,25	15,75 ± 1,26	15,75 ± 1,26 <sup>ab</sup>

Ket : Data dianalisis dengan ANAVA dengan taraf kepercayaan 95 %.



Gambar 1. Sayatan Melintang Pankreas Mencit Normal dan Mencit Model Diabetes Pasca Perlakuan. Pewarnaan Hematoksilin-floksin. Pembesaran 400X.

Keterangan.: A1: KN (P: 400x)      A2: KN (P. 1000x)      B1: KP (P: 400x)      B2: KP (P. 1000x)  
 C1: P1 (P: 400x)      C2: P1 (P. 1000x)      D1: P2 (P: 400x)      D2: P2 (P. 1000x)  
 E1: P3 (P: 400x)      E2: P3 (P. 1000x)      F1: P4 (P: 400x)      F2: P4 (P. 1000x)  
 PL: Pulau Langerhans      α = sel α normal      β = sel β normal      β<sub>ne</sub> = sel β nekrosis

Huruf yang berbeda pada satu kolom menandakan bahwa terdapat perbedaan yang nyata antar perlakuan berdasarkan uji jarak berganda Duncan ( $p < 0,05$ )

## PEMBAHASAN

Pemberian aloksan menyebabkan kerusakan pada sel  $\beta$  pankreas yang membuat kadar glukosa darah meningkat dan terjadilah *insulin dependent diabetes mellitus* pada hewan percobaan. Aloksan merusak sel  $\beta$  pankreas dengan cara mengaktifkan oksigen reaktif (*Reactive Oxygen Species/ROS*) yang diawali dengan reaksi reduksi aloksan. Aloksan memiliki aktivitas yang tinggi terhadap senyawa seluler yang mengandung gugus -SH, sistein dan senyawa sulfhidril terikat protein. Hasil dari proses reduksi aloksan adalah asam dialurat, yang direoksidasi menjadi aloksan kembali dan membentuk siklus reaksi redoks yang menghasilkan radikal superoksida. Radikal superoksida akan mengalami dismutasi menjadi hidrogen peroksida secara spontan. Salah satu target dari ROS adalah DNA di sel-sel pulau Langerhans pankreas. Aloksan juga dapat meningkatkan konsentrasi ion kalsium bebas sitosolik pada sel  $\beta$  pankreas yang mengakibatkan depolarisasi sel  $\beta$  pankreas. Selain itu, aloksan juga diduga berperan dalam penghambatan glukokinase yang berperan dalam proses glikolisis dalam proses metabolisme energi (Szkudelski, 2001).

Nekrosis yang terjadi pada sel  $\beta$  pankreas diduga terjadi karena adanya depolarisasi membran sel  $\beta$

pankreas akibat pemberian aloksan. Kerusakan membran akan mempermudah terjadinya kerusakan sel  $\beta$  pankreas sehingga produksi insulin menurun. Selain itu, Nugroho (2004; 2006) dalam Yuriska (2009) menyatakan bahwa perusakan substansi esensial di dalam sel  $\beta$  pankreas menyebabkan berkurangnya granula-granula pembawa insulin yang menyebabkan metabolisme glukosa terganggu, sehingga kadar glukosa darah akan meningkat (Yuriska, 2009).

Kandungan flavonoid pada ekstrak rimpang temu mangga berperan sebagai penangkal radikal bebas (ROS) yang diakibatkan oleh aloksan. Widowati (2008) menyatakan bahwa pemberian komponen senyawa polifenol, termasuk flavonoid dapat menangkap radikal bebas dan mengurangi stres oksidatif akibat pemberian aloksan. Senyawa flavonoid mampu memperbaiki dengan berbagai mekanisme, salah satunya dengan meningkatkan enzim katalase yang akan memecah hidrogen peroksida menjadi oksigen dan air yang tidak berbahaya untuk sel dan pertumbuhan sel. Penambahan senyawa flavonoid pada sel juga dapat mengurangi jumlah ROS sehingga dapat membantu mengembalikan integritas sel dan menambah viabilitas suatu sel (Patel, 2008). Semakin baik struktur histologis pankreas diduga karena senyawa flavonoid yang terkandung dalam ekstrak rimpang temu mangga yang mampu mengikat dan mengurangi jumlah ROS, penyebab nekrosis pada sel  $\beta$  pankreas.

## SIMPULAN

Dari penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa ekstrak rimpang temu mangga (*Curcuma mangga* Val.) dapat menurunkan kadar glukosa darah puasa dan memperbaiki kerusakan struktur histologis kelenjar pankreas mencit (*Mus musculus* L.) yang telah diinduksi aloksan dengan dosis optimum 400 mg/kg bb.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Pada kesempatan ini kami menghaturkan terima kasih kepada Universitas Padjadjaran khususnya Pengelola Dana DIPA BLU yang telah membiaya penelitian ini sesuai SK Rektor No. 3057/UN6.RKT/HK/2011 tanggal 18 Mei 2011.

## KEPUSTAKAAN

- Babu, P.V.A., A. Babua, D. Liub and E.R. Gilbert. 2013. Recent Advances in Understanding the Anti-diabetic Actions of Dietary Flavonoids. *J. Nutr. Biochem* 24:1777-1789.
- Cholis, I.N. 2009. Aktivitas Antiplasmodium Fraksi Semipolar Ekstrak Etanol Rimpang Temu Mangga (*Curcuma mangga* Val.) Terhadap *Plasmodium berghei* Secara *In Vivo*. Skripsi Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta. Surakarta.
- Departemen Kesehatan RI. 1999. Kunir Putih: *Curcuma zedoaria* & *Curcuma mangga*, Depkes. RI. SP. NO. 383/12.01/1999. [Online] Available: "<http://kunirputih.tripod.com/photo.htm>" [16 April 2010].
- Diniz, S.F., F.P.L.G. Amorim, F.F. Cavalcante-Neto, A.L. Bocca, A.C. Batista, G.E.P.M. Simm and T.A. Silva. 2008. Alloxan-Induced Diabetes Delays Repair in a Rat Model of Closed Tibial Fracture. *Brazilian J. Med. Biol. Res.* 41:373-379
- Eroschenko, V.P. 2003. Atlas Histologi di Fiore dengan Korelasi Fungsional alih bahasa Jan Tambayong. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- Gomez, K.A. and A.A. Gomez. 1995. Prosedur Statistik untuk Penelitian Pertanian. Edisi Kedua. Universitas Indonesia Press. Jakarta. Hal: 214-220.
- Humason, G.L. 1967. Animal Tissue Techniques, second edition. W. H. Freeman and Company. San Francisco.
- Kim J.S., J.B. Ju, C.W. Choi and S.C. Kim. 2006. Hypoglycemic and antihyperlipidemic Effect of Four Korean Medicinal Plants in Alloxan Induced Diabetic Rats. *Am. J. Biochem. Biotech.* 2:154-160
- Koczwara K., E. Bonifacio and A. G. Ziegler. 2004. Transmission of Maternal Islet Antibodies and Risk of Autoimmune Diabetes in Offspring of Mothers with Type 1 Diabetes. *Diabetes.* 53:1-4
- Lenzen, S. 2008. The Mechanisms of Alloxan- and Streptozotocin-induced Diabetes. *J. Diabetologia* 51:216-226.
- Lukacinova, A., J. Mojzis, R. Benacka, J. Keller, T. Maguth, P. Kurila, L. Vasko, O. Racz, and F. Nistiar. 2008. Preventive Effects of Flavonoids on Alloxan-Induced Diabetes Mellitus in Rats. *Acta Veterinaria Brno.* 77:175-182
- Patel, J.M. 2008. A Review of Potential Health Benefits of Flavonoids. *Lethbridge Undergraduate Res. J.* 3(2)
- Rees, D.A. and J.C. Alcolado. 2005. Animal Models of Diabetes Mellitus. *Diabetic Medicine* 22:359-370.
- Robertson, R.P., J. Harmon, P.O. Tran and V. Poitout. 2004.  $\alpha$ -Cell Glucose Toxicity, Lipotoxicity, and Chronic Oxidative Stress in Type 2 Diabetes. *Diabetes.* 53:S119-S124.
- Roivainen M., S. Rasilainen, S. Ylipaasto, R. Nissinen, J. Ustinov, L. Bouwens, D. C. L. Eizirik, T. Hovi and T. Otonkoski. 2000. Mechanisms of Cocksackievirus-Induced Damage to Human Pancreatic  $\beta$ -Cells. *J. Clinical Endocrinol. Metabolism* 85:432-440.
- Suarsana, I.N., B.P. Priosoeryanto, M. Bintang and T. Wresdiyati. 2008. Aktivitas Daya Hambat Enzim  $\alpha$ -Glukosidase dan Efek Hipoglikemik Ekstrak Tempe pada Tikus Diabetes. *J. Veteriner* 9(3):122-127.
- Suharmiati. 2003. Pengujian Bioaktivitas Anti Diabetes Melitus Tumbuhan Obat. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Pusat Penelitian dan Pengembangan Pelayanan dan Teknologi Kesehatan Departemen Kesehatan RI, Surabaya. Cermin Dunia Kedokteran.
- Szkudelski, T. 2001. The Mechanism of Alloxan and Streptozotocin Action In  $\beta$  Cells Of The Rat Pancreas. *Physiol. Res.* 50:536-54.
- Velayutham R, Sankaradoss N, and Ahamed KF. 2012. Protective Effect of Tannins from *Ficus racemosa* in Hypercholesterolemia and Diabetes Induced Vascular Tissue Damage in Rats. *Asian Pacific J. Trop. Med.* 5(5):367-73.
- Widowati, W. 2008. Potensi Antioksidan sebagai Antidiabetes. *J. Kes. Mas.* 7:1-10.
- World Health Organization. 1999. Definition, Diagnosis, and Classification of Diabetes Mellitus and Its Complications: Part I. Department of Noncommunicable Disease Surveillance: Geneva.
- Yuriska, A. 2009. Efek Aloksan terhadap Kadar Glukosa Darah Tikus Wistar. Laporan Akhir Penelitian Karya Tulis Ilmiah. Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro. Semarang.
- Zhou, Z.I., L. Jing, G. Cui, Q. Feng and Y. Xiao. 2009. Effect of polysaccharide from *Lycium barbarum* in Alloxan-Induced Diabetic Mice. *African J. Biotech.* 8(23):6634-6637.