

PEMBERIAN EKSTRAK DAUN SIRSAK (*Annona muricata*) UNTUK MEMPERBAIKI KERUSAKAN SEL BETA PANKREAS MELALUI PENURUNAN KADAR GLUKOSA DARAH, ADVANCED GLYCATION AND PRODUCT DAN 8-HIDROKSI-2-DIOKSIGUANOSIN PADA TIKUS WISTAR HIPERGLIKEMIA

Ni G. A. M. Dwi Adhi Suastuti, I G. A. Kunti Sri Panca Dewi, dan Ni Komang Ariati

Jurusan Kimia FMIPA Universitas Udayana, Bukit Jimbaran, Bali

*Email : duadhi@yahoo.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektifitas ekstrak daun sirsak untuk memperbaiki kerusakan sel beta pankreas pada tikus Wistar hiperglikemia yang diinduksi aloksan. Penelitian ini menggunakan rancangan *randomized posttest control only group design*. Penelitian ini menggunakan 24 ekor tikus Wistar yang dibagi menjadi empat kelompok, yaitu kelompok kontrol (K), dan tiga kelompok perlakuan (P). Kelompok P1 adalah kelompok perlakuan dosis ekstrak daun sirsak 50 mg/kg bb/hari. Semua kelompok diinduksi aloksan dengan dosis 150 mg/kg bb untuk memperoleh kondisi hiperglikemia.

Hasil penelitian menunjukkan terjadinya penurunan kadar glukosa darah setelah perlakuan. kadar glukosa pada kelompok K, P1, P2, dan P3 secara berurutan yaitu 208,0 mg/dL; 177,5 mg/dL; 164,7 mg/L dan 137,0 mg/dL. Setelah perlakuan 2 minggu terjadi juga penurunan kadar 8-OHdG dan kadar AGEs yang diamati, dimana kadar terendah terjadi pada perlakuan P3 dengan dosis 150 mg/bb/kg berturut-turut 1,664ng.mL dan 0,033 mol/L, terjadinya perbaikan sel beta pankreas setelah pemberian ekstrak daun sirsak (*Annona muricata*) dengan dosis 150 mg/kg bb/hari. Berdasarkan hasil analisis GCMS, senyawa yang terdeteksi adalah kariofilen, etil tetradekanoat, asam 2-sikloheksana-1-on, 4-hidroksi-3,5,6-trimetil-4-(3-oxo-1 butenil), etil heksa dekanat, fitol, Tiazol-2,4(3H, 5H)_dion, 5 benzilideno-3[etifenilamino]metal, asam 9-oktadekanoat, etil linoteat, etil oleat dan etil oktadekanoat.

Kata kunci : Daun sirsak, Glukosa Darah, Hiperglikemia, AGEs, 8-OHdG

ABSTRACT

This research aimed to determine the effectivity of soursop leaf extract to repair beta pancreatic cells damaged in Wistar rats induced by alloxan. This experiment used *randomized posttest-only control group design*. In this experiment, 24 Wistar rats were used which divided into four groups, control group (K), and three treatment groups (P). P1 was the group tretment with a dose of 50 mg/kg bw/day, P2 with a dose of 100 mg/kg bw/day, and P3 was the group treatment with a dose of 150 mg/kg bw/day extract. All groups were induced by alloxan with a dose of 150 mg/kg bw to obtain condition of hyperglycemia.

The results showed that blood glucose levels decreased after treatment with the extracts. Glucose levels in group K, P1, P2, and P3 were 208.0 mg/dL; 177.5mg/dL; 164.7 mg/L and 137.0 mg/dL respectively. After 2 weeks of treatment, the level of 8-OHdG and AGEs were also reduced. The lowest level was observed in P3 treatment which the level of 8-OHdG 1.664ng.mL and 0.033 mol/L for AGEs level. In conclusion the soursop leaf (*Annona muricata*) extract given at a dose of 150 mg/kg bw/day can improve beta pancreatic cells resulted from antioxidant activity content in the extract which function as antihyperglycemia. Based on GC-MS spectra analysis, the the soursop leaf (*Annona muricata*) extract consisted of caryophyllene, ethyl tetradekanoat, acid 2-cyclohexane-1-one, 4-hydroxy-3,5,6-trimethyl-4-(3-oxo-1-butenyl), hexa ethyl decanoate , phytol, thiazole-2,4 (3H, 5H) _dion, 5 benzilideno-3 [etifenilamino) metal], 9-octadecanoic acid, ethyl linoteat, ethyl oleate and ethyl octadecanoic.

Keywords : Soursop leaf, blood glucose levels, hyperglycemia, AGEs, 8-OHdG

PENDAHULUAN

Hiperglikemia adalah suatu keadaan dimana terjadi peningkatan kadar glukosa darah puasa penderita di atas 110 mg/dL serta glukosa darah 2 jam pp (*post prandial*) di atas 140 mg/dl. (PERKEMI, 2012). Hiperglikemia dapat meningkatkan senyawa *reactive oxygen species* (ROS) baik melalui proses enzimatis yaitu reaksi oksidasi dan fosforilasi (*ox-phos*) serta reaksi ADPH-Oksidase dan melalui proses non-enzimatis dengan cara membentuk *gluco oxidant* dan *glycation* (Evans *et al.*, 2002)

Hiperglikemia disebabkan karena kelainan sekresi insulin, atau gangguan kerja dari insulin. Keadaan hiperglikemia pada diabetes menyebabkan peningkatan pembentukan radikal bebas dan penurunan sejumlah anti oksidan dan akhirnya terjadi peristiwa yang disebut stres oksidatif. Hiperglikemia dapat menginduksi peningkatan radikal bebas melalui autooksidasi glukosa, pembentukan *Advance Glycation End product* (AGEs), dan peningkatan aktivitas jalur *polyol* (sorbitol). Bila memperhatikan Organisasi Kesehatan Dunia (WHO) tahun 2000 memperkirakan bahwa 177 juta penduduk dunia mengidap diabetes dan jumlah ini akan meningkat sampai melebihi 300 juta pada tahun 2025. Indonesia tahun 2000 menempati urutan keempat dalam jajaran negara dengan jumlah penderita diabetes melitus terbanyak di dunia setelah India (31,7 juta orang), Cina (20,8 juta orang) dan Amerika Serikat (17,7 juta orang). Angka ini diperkirakan akan meningkat menjadi 21,3 juta orang pada tahun 2030 (Wild, *et al.*, 2004). Pada resistensi insulin berkepanjangan sel pankreas tidak lagi mampu melakukan kompensasi insulin maka terjadilah hiperglikemia.

Hiperglikemia dan pelepasan asam lemak bebas yang berlebihan akan menjadi bahan untuk pembentukan trigliserida di hati. Adanya proses autooksidasi pada hiperglikemia dan reaksi glikasi mengakibatkan terjadinya pelepasan elektron. Pelepasan elektron ini akan memicu pembentukan radikal bebas (RB) khususnya radikal superoksida ($^{\circ}\text{O}_2$), dan hidrogen peroksida ($\text{H}_2\text{O}_2^{\circ}$) dan melalui reaksi Haber-Weis dan Fenton akan membentuk radikal hidroksil (OH°). Bahan-bahan ini dikenal sebagai radikal bebas oksigen (RBO) yang dapat merusak membran sel, menjadi lipid peroksida

dikenal dengan malondialdehida (MDA) (Tjokropriworo, 1993)

Winarto *et al.*, (2008), melaporkan bahwa salah satu tumbuhan obat tradisional yang berpotensi untuk dikembangkan menjadi obat antidiabetes adalah daun sirsak. Daun sirsak dimanfaatkan sebagai antidiabetik, karena secara tradisional telah digunakan untuk mengobati berbagai penyakit, seperti : kencing manis, peradangan (inflamasi). Berdasarkan analisis uji fitokimia dan analisis GC-MS menunjukkan bahwa daun sirsak diketahui mengandung beberapa senyawa kimia, diantaranya; seskuiterpenoid, asam fenolat dan satu senyawa baru dengan berat molekul (m/z) 302 yaitu senyawa 2,3-dihidrobenzofuran termasuk dalam golongan 2,3-dihidrobenzofuran yaitu suatu senyawa yang diketahui memiliki aktivitas sebagai antioksidan dan berfungsi untuk memproduksi hormon insulin yang berperan menurunkan kadar glukosa darah. Astuti (2003) pemberian ekstrak daun sirsak dapat meningkatkan superoksida dismutase (SOD) dan menurunkan kadar malondialdehid (MDA), sehingga dapat melindungi sel dari serangan stress oksidatif pada tikus jantan.

Ekstrak daun sirsak (*Annona muricata*) memiliki efek antioksidan yang cukup baik dengan persentase peredaman di atas 50% yaitu 82,90%. Hasil ini membuktikan bahwa ekstrak daun sirsak berpotensi meningkatkan kapasitas antioksidan dan menurunkan stres oksidatif. Setelah diperoleh senyawa aktif. Senyawa 2,3-dihidrobensofuran, terdapat beberapa senyawa turunan fenolat juga berfungsi sebagai antioksidan. Ada dua macam antioksidan yang diketahui, yakni antioksidan enzimatis dan non enzimatis. Antioksidan enzimatis adalah antioksidan yang dimiliki oleh organisme misalnya superoksid dismutase (SOD), katalase (CAT), glutathion peroksidase (GPx). Sedangkan antioksidan non enzimatis adalah antioksidan yang diperoleh dari luar tubuh organisme, misalnya vitamin C, vitamin E, beta-karoten. Antioksidan eksogen tersebut dapat diperoleh langsung dari buah-buahan dan sayuran atau dari pemisahan senyawa bahan alam tumbuhan tertentu, dilanjutkan uji hiperglikemia menggunakan hewan percobaan berupa tikus wistar secara *in vivo* yang diinduksi dengan aloksan untuk mengetahui keefektifan penurunan

kadar glukosa darah, MDA dan 8-OHdG. Menurut Adji (2011) menyebutkan bahwa bagian tanaman sirsak yang dimanfaatkan untuk bahan obat adalah buah, kulit kayu, bunga dan bijinya. Khasiat sirsak antara lain sebagai antibakteri, antivirus, antikanker, antitumor, antiinflamasi, pestisida karena memiliki kansungan senyawa flafoniod, senyawa fenolat dan terpeniod.

Jenis penyakit diabetes militus banyak ditemukan dimasyarakat, dari usia muda sampai dewasa. Berdasarkan usia penderita penyakit ini dikelompokkan dua yaitu juvenil-onset (kejadian dimulai senjak anak) dan adult-onset (kejadian dimulai setelah dewasa). Berdasarkan ketergantungan terhadap insulin penyakit ini dibedakan menjadi insulin-independent dna non-insulin –dependent (Masharani, et al., 2004).

MATERI DAN METODE

Bahan

Bahan penelitian yang digunakan adalah serbuk daun sirsak, akuades, etanol, bufer fosfat, BSA, darah, serum darah, Elisa Kit (8-OHdG), DPPH, aloksan, obat bius ketamin.

Peralatan

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari seperangkat alat gelas, spektrofotometer, *vacuum rotary evaporator* Elisa Kit Reader, spuit, alat sonde, alat sampling darah timbangan tikus, dan neraca analitik.

Cara Kerja

Ekstraksi Serbuk Daun Sirsak

Sebanyak 1800 gram daun sirsak yang sudah berbentuk serbuk kering dimaserasi dengan etanol 96 % selama 24 jam, secara bertahap sampai dihasilkan filtrat yang bening. Setelah melalui proses penyaringan filtrat / ekstrak diuapkan dengan *vacuum rotary evaporator* sampai diperleh ekatrak kental. Ekstrak kental dianalisis dengan GC-MS untuk mengetahui jenis komponen senyawa yang terkandung di dalamnya. Ekstrak ini juga diuji aktifitasnya dalam memperbaiki sel beta pankreas melalui pengukuran kadar glukosa darah, AGEs dan 8-OHdG.

Penyiapan Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus Wistar jantan dengan umur rata 2 bulan. Sebelum diberikan perlakuan hewan uji diadaptasikan terhadap lingkungannya selama 2 minggu. Selama adaptasi berlangsung hewan uji diberikan pakan standar dan diberikan air minum (PDAM) secara *ad libitum*.

Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilakukan mengikuti metode eksperimental sesungguhnya (True experimental) dengan menggunakan rancangan *Randomized Posttest Only Control Group Design* (Pocock, 2008). Hewan uji dikelompokkan menjadi 4 kelompok dimana semua hewan uji dalam kelompok diinduksi aloksan dengan dosis 150 mg/kg bb dan diukur kadar glukosa darahnya. Tikus yang sudah hiperglikemia selanjutnya diberi perlakuan konsumsi ekstrak daun sirsak yaitu Kolompok kontrol, Perlakuan 1 (P1) dengan dosis 50 mg/bb/hari, Perlakuan 2 (P2) dengan dosis 100 mg/bb/gari dan Perlakuan 3 (P3) dengan dosis 150 mg/bb/hari.

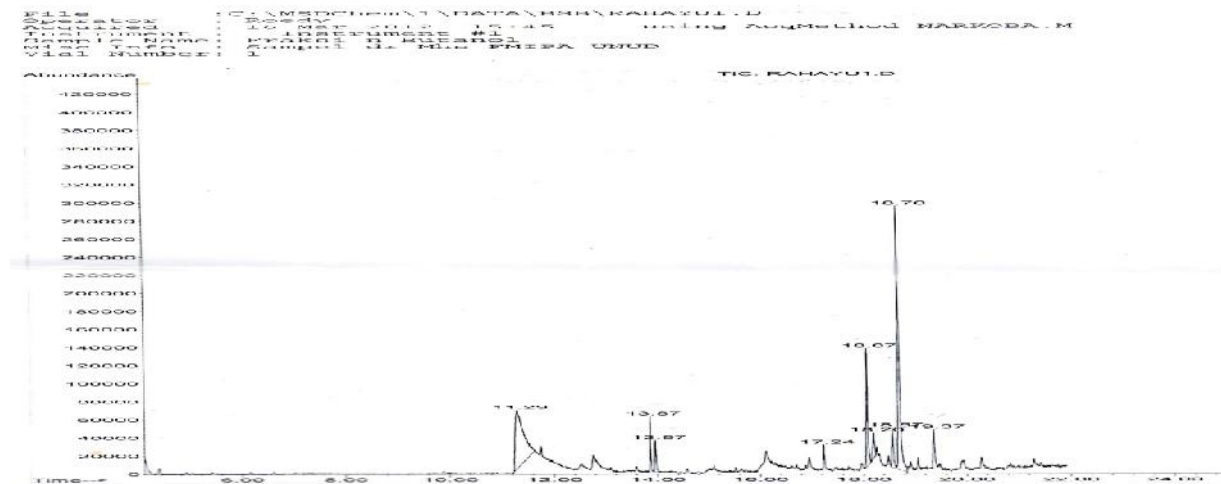
HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik Ekstrak daun Sirsak

Hasil maserasi dari 1800 gram daun sirsak menggunakan etanol teknis 96 % sebanyak 11 liter diperoleh ekstrak kental etanol yang berwarna hijau pekat sebanyak 147 gram. Hasil uji skrining ekstrak kental daun sirsak menghasilkan 11 puncak seperti terlihat pada Gambar 1 dengan waktu retensi (tr) dan kelimpahan (%) masing-masing seperti tercantum pada Tabel 1 dengan hasil kromatogram, yang mana terdapat 11 puncak menunjukkan bahwa senyawa yang terkandung di dalam ekstrak terdiri dari 11 komponen seperti disajikan pada Tabel 1.

Dari Tabel 1 dapat dilihat bahwa ekstrak kental daun sirsak terdapat minimal 11 senyawa seperti kariofilen, fitol, senyawa golongan ester dan asam-asam organik .

Uji *skrining* fitokimia digunakan untuk mengidentifikasi golongan senyawa yang terdapat dalam ekstrak daun sirsak dengan berbagai macam pereaksi pendeteksi (Tiwari *et al*, 2011).



Gambar 1. GC-MS dari ekstral Daun Sirsak(*Annona muricata*)

Tabel 1. Waktu retensi dan persen area tiap puncak

| Puncak | Waktu Retensi (t _R) (menit) | % Area | Hasil KG-SM |
|-----------|---|--------|---|
| Puncak 1 | 14,20 | 3,74 | Kariofilen |
| Puncak 2 | 18,51 | 7,37 | Asam Tetradekanoid, etil ester |
| Puncak 3 | 18,67 | 5,47 | Asam 2-sikloheksena-1-on, 4-hidroksi-3,5,6-trimetil-4-(3-oxo-1-butenil) |
| Puncak 4 | 20,24 | 11,93 | n-hexadekanoid |
| Puncak 5 | 20,52 | 17,74 | Asam Hexadekanoid, etil ester |
| Puncak 6 | 21,67 | 12,91 | Fitol |
| Puncak 7 | 21,71 | 2,82 | Thiazole-2,4(3H, 5H)_dion, 5-benzilideno-3-[(etifenilamino)metil] |
| Puncak 8 | 21,93 | 9,49 | Asam 9-Octadecanoid |
| Puncak 9 | 22,10 | 5,42 | Asam Linoleat etil ester |
| Puncak 10 | 22,15 | 18,80 | Etil oleat |
| Puncak 11 | 22,37 | 4,30 | Asam Oktadekanoid, etil ester |

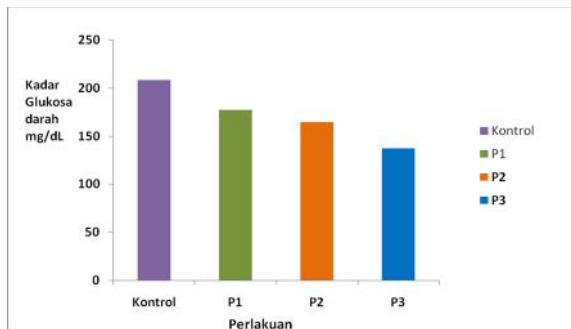
Penurunan Kadar Glukosa Darah Tikus Wistar Hiperglikemia

Data rerata kadar glukosa darah tikus wistar hiperglikemia baik setelah perlakuan disajikan pada Tabel 2 sedangkan profil kadar glukosa darah setelah perlakuan dari beragam dosis ekstrak daun sirsak disajikan pada Gambar 2.

Dari Tabel 2 dapat dilihat terjadi penurunan kadar glukosa darah pada kelompok K, P1, P2, dan P3 secara berurutan yaitu 208,0 mg/dL; 177,5 mg/dL; 164,7 mg/L dan 137,0 mg/dL. Kadar glukosa darah terendah terjadi pada perlakuan P3 yaitu dengan dosis 150 mg/bb/hari sebesar 137 mg/dL.

Tabel 2. Kadar Glukosa Darah rata Sesudah Perlakuan

| Perlakuan | Pengamatan Kadar Glukosa darah (mg/dL) |
|--|--|
| Kontrol | 208 |
| Ekstrak daun sirsak dosis 50 mg /kg bb/hari | 177,5 |
| Ekstrak daunsirsak dosisi 100 mg /kg bb/hari | 164,7 |
| Ekstrak daun sirsak 150 mg/kg bb/hari | 137,0 |



Gambar 2. Kadar Glukosa Darah Tikus Uji Setelah Perlakuan

Terjadinya penurunan kadar glukosa darah selama perlakuan pemberian ekstrak kental daun sirsak kemungkinan disebabkan oleh kandungan antioksidan dimana ekstrak kental daun sirsak mempunyai daya peredaman sebesar 72,93 persen.

Aktivitas antioksidan mampu menangkap radikal bebas penyebab kerusakan sel beta pankreas dan menghambat kerusakan sel beta pankreas, sehingga sel beta yang tersisa masih tetap berfungsi. Antioksidan tersebut diperkirakan mampu melindungi sejumlah sel-sel beta yang tetap normal, sehingga memungkinkan terjadinya regenerasi sel-sel beta yang masih ada melalui proses mitosis atau melalui pembentukan pulau baru dengan cara proliferasi dan diferensiasi endokrin dari sel-sel *ductal* dan *ductular* (Suryani, dkk., 2013).

Penurunan Kadar 8-OHdG

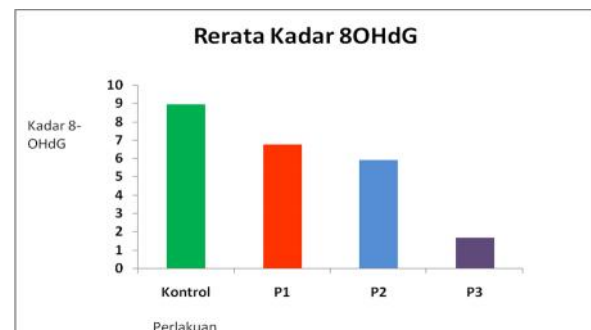
Kadar 8-OHdG selama perlakuan dan kontrol dapat dilihat pada Tabel 3. Profil kadar 8-OHdG selama perlakuan pemberian ekstrak daun sirsak selama dua minggu disajikan dalam Gambar 3. Dari Tabel 3 dapat dilihat bahwa terjadi penurunan kadar 8-OHdG setelah perlakuan pada kelompok K, P1, P2, dan P3 secara berurutan yaitu 8,958 ng/mL; 6,740 ng/mL; 5,790 mg/mL dan 1,664 ng/mL. Kadar 8-OHdG terendah terjadi pada perlakuan P3 (dosis 150 mg/bb/hari) yaitu sebesar 1,664 ng/mL.

Gangguan rantai respirasi sel disamping menurunkan produksi energi juga meningkatkan ROS (*Reactive Oxygen Species*) termasuk radikal bebas yang bersifat sebagai oksidator. Sasaran oksidasi ROS adalah lipid, protein dan DNA (Sein dan Menck, 1992 dalam Sudjarwo, 2004). Pada oksidasi DNA, nukleotida guanin adalah nukleotida

yang rawan terhadap reaksi oksidasi ROS. Senyawa yang dihasilkan dari proses oksidasi guanin adalah 8-hidroksi-deoksiganosin (8-OHdG). Teroksidasinya guanin dalam untai DNA, mengakibatkan untai DNA kehilangan nukleotida guanine. Kehilangan guanine tergantung pada kandungan ROS, dan bila reaksi berkelanjutan dapat mengakibatkan kerusakan mDNA dan nDNA (Oszawa, 1995 dalam Sujarwo, 2004). Kerusakan DNA ini dapat menghambat proses pembelahan sel pada spermatogenesis dan mitokondria serta mengganggu respirasi yang dapat menurunkan energi sel (Sohal dan Brunk, 1992 dalam Sujarwo, 2004).

Tabel 3. Rerata Kadar 8-OHdG

| No | Perlakuan | Rerata Kadar 8-OHdG (ng/mL) |
|----|-------------------------------------|-----------------------------|
| 1 | Kontrol | 8,958 |
| 2 | Perlakuan dosis 50 mg/bb/hari (P1) | 6,740 |
| 3 | Perlakuan dosis 100 mg/bb/hari (P2) | 5,790 |
| 4 | Perlakuan dosis 150 mg/bb/hari (P3) | 1,664 |



Gambar 3. Kadar 8-OHdG

Penurunan Kadar AGEs

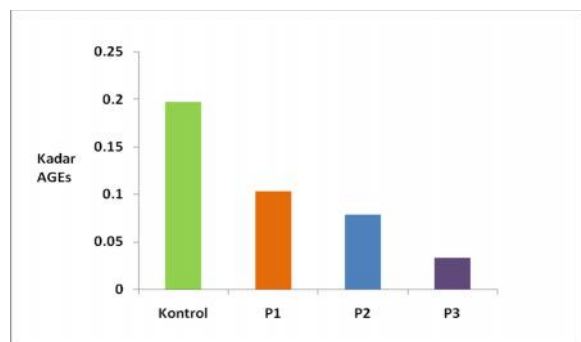
Rerata kadar AGEs selama perlakuan 2 minggu disajikan pada Tabel 4 dan profil kadar AGEs setelah perlakuan pemberian ekstrak kental daun sirsak disajikan pada Gambar 4.

Dari Tabel 4 dapat dilihat bahwa terjadi penurunan kadar kadar AGEs. Kadar AGEs terendah terjadi pada perlakuan P3 dengan dosis 150 mg/kg bb/hari yaitu sebesar 0,033 mol/L. Penurunan kadar AGEs ini sejalan dengan penurunan kadar glukosa darah tikur wistar. Seperti diketahui bahwa reaksi antara gugus

karbonil dengan gugus amino dapat membentuk advanced glycation end products, sebagai produk cross linking dan browning pada protein (Soesilowati, 2003 dan Carr, *et al.*, 1999 di dalam Setiawan, 2005). Adanya senyawa AGEs merupakan salah satu produk penanda modifikasi protein sebagai akibat reaksi antara gula pereduksi dengan gugus amino (Carr, *et al.*, 1999 di dalam Setiawan, 2005). Terjadinya akumulasi senyawa AGEs dalam jaringan adalah sumber utama radikal bebas yang dapat menyebabkan peningkatan stress oksidatif (Droge, 2002 di dalam Setiawan dan Suhartono, 2005).

Tabel 4. Rerata Kadar AGEs selama perlakuan

| No | Perlakuan | Rerata Kadar AGEs (mol/L) |
|----|-------------------------------------|---------------------------|
| 1 | Kontrol | 0,197 |
| 2 | Perlakuan dosis 50 mg/bb/hari (P1) | 0,103 |
| 3 | Perlakuan dosis 100 mg/bb/hari (P2) | 0,079 |
| 4 | Perlakuan dosis 150 mg/bb/hari (P3) | 0,033 |



Gambar 4. Kadar AGEs

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

1. Setelah perlakuan pemberian ekstrak kental daun sirsak selama 2 minggu pada tikus Wistar hiperglikemia, terjadi penurunan kadar glukosa, kadar 8-OHdG dan kadar AGEs.
2. Kadar glukosa, 8-OHdG dan AGEs terendah terjadi pada perlakuan P3 (dosis 150 mg/bb/hari) dengan kadar masing-masing 137 mg/dL, 1,664ng/L dan 0,033 mol/dL

Saran

Dari hasil yang diperoleh ini disarankan sebaiknya dilakukan Analisis histopatologi untuk mengetahui perbedaan jumlah sel pancreas tikus diabetes dan tikus yang sehat.

UCAPAN TERIMA KASIH

Dalam kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada Ibu Dr. Ir. Sri Wahjuni, M.Kes., Antonia Purti Yolanda, dan Ni Nyoman Astuti Wulandari serta semua pihak yang telah membantu dalam penyelesaian penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Astuti, S.N., 2003, Uji Pendahuluan Efek Aphrodisiak Ekstrak Biji Pranajiwa Manis (*Euchresta javanica* R. Br) pada Tikus Putih jantan Dewasa, *Skripsi*, Universitas Widya Mandala, Surabaya;
- Evans, J. L.Gollfine, I.D. Maddux, B.A and Grodsky, G.G., 2002, Oxidative Stress-Activated Sognating Pathway : A *Unifying Hypothesis of Type 2 Diabetes Endocrine Review*, 23 : 599 - 622
- Iflah M.A., Suaniti, N. M., dan Astiti Asih, I. A. R., 2014, Penentuan Kadar 8-hidroksi-2-dioksiganosin (8-OHdG) dalam Urin Tikus Setelah Terpapar Etanol dan Asap Rokok, *Jurnal Kimia*, 8 (1) : 42 – 46
- Masharani, U, Karam, J.H., and German, 2004, *Pancreatic Hormones & Diabetes mellitus In. Greenpans FS. Gardner DGEDitor Basic & Clinical Endicornologu 7th Ed.*, McGraw-Hill, New York, p. 658-746
- PERKEMI. 2012. *Konsensus Pengelolaan Diabetes pada Diabetes Militus tipe 2*, PB Perkemi, Jakarta
- Pocock, S.J., 2008, *Clinical Trial a Practical Approach*, Chichester-New York, Jon Wiley & Son Ltd, Singapore
- Setiawan, B., 2005, Model pembentukan advanced glycation end products dan modifikasi protein akibat reaksi glikosilasi, *Maj. Kedokt. Indon*, 55 (11) : 681-85
- Setiawan, B. dan Eko Suhartono, 2005, Stres oksidatif dan Peranan Antioksidan pada

- Diabetes Militus, *Maj. Kedokteran Indon*, 55 (2) : 86 - 91
- Sudjarwo, 2004, 8-hidroksi-Deoksiganin Sebagai Salah Satu Indikator Infertilitas Pria, *Berk. Penel. Hayati* : 10 : 43 – 47
- Suryani, Nani, Endang, Tinny, dan Aulanni'am, 2013, Pengaruh Ekstrak Biji Metanol terhadap Peningkatan Kadar Insulin, Penurunan Ekspresi TNF- dan Perbaikan Jaringan Pankreas Tikus Diabetes, *Jurnal Kedokteran Brawijaya*, 27 (23) :
- Tiwari, P., Bimlesh, K., Mandeep, K., Gurpreet, K., and Harleen, K., 2011, Phytochemical screening and Extraction: A Review, Department of Pharmaceutical Sciences, Lovely School of Pharmaceutical Sciences, Phagwara, Punjab, India
- Tjokroprawiro, A., 1993, *Radikal Bebas, Aspek Klinik dan Kemungkinan Aplikasi Terapi, Dalam : Simposium Oksidan dan Antioksidan*, Tjokroprawiro Edt, Persatuan Ahli Penyakit Dalam Cabang Surabaya, h. 11-36
- Wild, S., Roglic, G., Green, A., Sicree, R., and King, H. 2004, Global Prevalence of Diabetes estimates for the year 2000 and projections for 2030, *Diabetes Care*, 27 (5) : 1047-1053
- Winarto A, Adnyana, dan I Ketut Mudite, 2008, Efek Pemakaian Jangka Panjang Ekstrak Daun Sambiloto Sebagai Insulin Sekretagog terhadap Ketahanan Sel Beta Pankreas, *Indonesian Science & Techno*