

Teripang Pasir Meningkatkan Kandungan Antioksidan Superoksida Dismutase pada Pankreas Tikus Diabetes

(SEA CUCUMBER INCREASED ANTIOXIDANT SUPEROXIDE DISMUTASE
IN THE PANCREATIC TISSUE OF DIABETIC RATS)

Tutik Wresdiyati^{1*}, Ani Karmila¹,
Made Astawan², Rahman Karnila³

¹Lab Histologi, Departemen Anatomi, Fisiologi, dan Farmakologi,
Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor,
Jl. Agathis Kampus IPB Dramaga Bogor 16880,
Telp. 0251-8626064, Fax. 0251-8629464, e-mail : tutikwr@gmail.com.

²Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan,
Fakultas Teknologi Pertanian, IPB.

³Jurusan Teknologi Hasil Perikanan,
Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Riau

ABSTRAK

Kadar glukosa darah yang tinggi merupakan indikator kondisi diabetes melitus (DM). Kondisi tersebut disebabkan karena rendahnya sekresi insulin atau berkurangnya sensitivitas reseptor insulin. Jumlah penderita DM meningkat setiap tahun. Menurut *World Health Organization*, jumlah penderita DM di Indonesia menempati urutan ke-empat terbanyak di dunia setelah Cina, India, dan Amerika Serikat. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis efek teripang laut (*Holothuria scabra* J) pada profil antioksidan *copper*, *zinc-superoxide dismutase* (Cu,Zn-SOD) jaringan pankreas tikus DM. Sejumlah 25 ekor tikus jantan putih galur *Sprague Dawley* telah digunakan pada penelitian ini, yang dibagi menjadi lima kelompok perlakuan, yaitu : (1) Kontrol negatif (KN), (2) Kontrol positif, tikus DM (KP), (3) Tikus DM yang diberi hidrolisat protein teripang laut (HDL), (4) Tikus DM yang diberi konsentrat protein teripang laut (KST), dan (5) Tikus DM yang diberi isolat protein teripang laut (ISL). Kondisi DM didapatkan dengan induksi *alloxan* 110 mg/kg bb pada tikus percobaan. Perlakuan teripang laut dilakukan selama 28 hari. Pada akhir perlakuan, tikus dikorbankan nyawanya dan organ pankreas diambil. Organ pankreas selanjutnya difiksasi dengan larutan Bouin, kemudian diproses dengan metode standard *embedding* menggunakan parafin. Potongan jaringan selanjutnya diwarnai secara imunohistokimia menggunakan antibodi monoklonal Cu,Zn-SOD. Hasil pewarnaan menunjukkan bahwa perlakuan teripang laut meningkatkan kandungan antioksidan Cu, Zn-SOD baik di pulau Langerhans maupun di sel-sel asinar jaringan pankreas tikus DM. Perlakuan dengan hidrolisat protein teripang laut menunjukkan efek yang paling bagus dalam meningkatkan kandungan antioksidan Cu, Zn-SOD pada jaringan pankreas tikus DM.

Kata-kata kunci : antioxidant Cu, Zn-SOD, diabetes mellitus, imunohistokimia, pankreas, teripang pasir (*Holothuria scabra* J).

ABSTRACT

High level of blood glucose is an indicator for diabetes mellitus (DM) condition. The condition is caused by low level of insulin secretion or impairment of insulin receptor. The number of DM patient increases every year. The World Health Organization reported that the number of DM patient in Indonesia was the 4th highest in the world, after following China, India, and the United States of America, respectively. This study was conducted to analyze the effect of sea cucumber (*Holothuria scabra* J) on the profile of antioxidant copper, zinc-superoxide dismutase (Cu, Zn-SOD) in the pancreatic tissues of diabetic rats. A total of 25 male white rats (Sprague Dawley) were used in this study. They were divided into five groups; (1) negative control (KN), (2) positive control, diabetic rats (KP), (3) diabetic rats treated with hydrolyzated protein of sea cucumber (HDL), (4) diabetic rats treated with concentrated protein of sea cucumber (KST), and (5) diabetic rats treated with isolated protein of sea cucumber (ISL), respectively. Diabetic condition was obtained by alloxan injection 110 mg/kg bw. The treatments were done for 28 days. At the end of treatment period, the rats were sacrificed and pancreatic tissues were collected and fixed in Bouin solution

and then processed to paraffin embedding standard method. The tissues were then stained with immunohistochemical staining techniques using monoclonal antibody of Cu, Zn-SOD. The results showed that treatment of HDL, KST, and ISL of sea cucumber (*Holothuria scabra J*) increased the content of antioxidant Cu, Zn-SOD either in Langerhans islets and acinar cells of pancreatic tissues-diabetic rats. The HDL of sea cucumber treatment gave the best effect in increasing the antioxidant content of Cu, Zn-SOD in pancreatic tissue of diabetic rats.

Keywords : antioxidant Cu,Zn-SOD, diabetes mellitus, immunohistochemistry, pancreas,sea cucumber (*Holothuria scabra J*).

PENDAHULUAN

Diabetes melitus (DM) adalah penyakit degeneratif yang terjadi akibat kelainan metabolisme karbohidrat. Keadaan DM terjadi ketika pankreas tidak mampu memproduksi insulin atau sensitivitas reseptor sel terhadap insulin sangat rendah. Insulin sangat diperlukan oleh sel tubuh untuk mengambil glukosa dari darah yang bersirkulasi. Pada penderita DM, glukosa tidak dapat masuk ke dalam sel sehingga kadar glukosa dalam darah tinggi atau hiperglikemia (Kitabchiet *et al.*, 2009). Hal ini merupakan indikator DM yang diikuti dengan tingginya hasil pemeriksaan *glycated haemoglobin A1c* (HbA1c).

Menurut *World Health Organization / WHO* (2010), jumlah penderita DM di Indonesia menempati urutan ke-empat terbanyak di dunia setelah Cina, India, dan Amerika Serikat. Pada penderita DM, terjadi peningkatan produksi radikal bebas, *reactive oxygen species* (ROS) yang meningkatkan terjadinya stres oksidatif (Artunay *et al.*, 2009). Telah dilaporkan bahwa kondisi stres oksidatif pada tikus DM menunjukkan produksi radikal bebas secara berlebihan sehingga kandungan antioksidan *copper, zinc-superoxidedismutase* (Cu,Zn-SOD) menurun pada jaringan pankreas tikus DM (Wresdiyati *et al.*, 2008), juga pada jaringan hati dan ginjal tikus DM (Wresdiyati *et al.*, 2010). Kandungan antioksidan Cu,Zn-SOD di hati monyet ekor panjang DM juga dilaporkan menurun (Wresdiyati *et al.*, 2003). Dalam jangka panjang penyakit DM dapat menyebabkan gangguan atau kerusakan pada jantung, pembuluh darah, mata, ginjal, dan saraf (WHO, 2010). Dengan demikian sangat diperlukan penanggulangan stres oksidatif pada penderita DM.

Indonesia merupakan negara yang kaya akan keanekaragaman sumberdaya hayati, baik yang ada di daratan maupun yang ada di lautan. Indonesia adalah negara kepulauan yang memiliki garis pantai terpanjang di dunia,

sehingga kaya akan hasil laut. Salah satu hasil laut Indonesia yang memiliki nilai ekonomi dan mulai banyak dikonsumsi masyarakat adalah teripang. Teripang disebut juga dengan *sea cucumber, teat fish* atau ginseng laut. Teripang memiliki potensi yang cukup besar sebagai sumber biofarmaka hasil laut dan sebagai makanan kesehatan (Dance *et al.*, 2003). Teripang mengandung banyak zat-zat aktif yang bermanfaat bagi kesehatan manusia. Salah satu jenis teripang yang bermanfaat bagi kesehatan adalah teripang pasir (*Holothuria scabra J*). Kandungan kimia daging teripang tersebut secara umum terdiri atas air 87,3% berat basah (bb), protein 72,9% berat kering (bk), abu 16,5% bk, lemak 3,5% bk, dan karbohidrat 7%bk (Karnila *et al.*, 2011a). Teripang juga berpotensi untuk dijadikan sebagai bahan pangan atau produk kesehatan alami yang dapat mengatasi gangguan kesehatan, antara lain untuk mengontrol glukosa darah sehingga teripang diduga dapat mengatasi gangguan DM (Karnila, 2012). Namun demikian, belum ada laporan tentang khasiat teripang dalam menanggulangi stres oksidatif pada penderita DM.

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis efek pemberian teripang pasir (*H. scabra J*) terhadap profil imunohistokimia antioksidan Cu,Zn-SOD pada jaringan pankreas tikus DM. Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah terkait manfaat teripang pasir untuk penanganan stres oksidatif pada penderita DM.

METODE PENELITIAN

Bahan utama penelitian ini adalah teripang pasir, yang diambil dari Lampung. Hewan percobaan berupa tikus putih jantan galur *Sprague Dawley* digunakan untuk uji *in vivo* khasiat hidrolisat, konsentrat, dan isolat protein teripang pasir pada profil antioksidan Cu,Zn-SOD pankreas tikus DM. Bahan-bahan kimia untuk memproses daging teripang laut untuk

mendapatkan hidrolisat, konsentrat, dan isolat protein teripang laut, yaitu tripsin, aseton, NaOH 35%, dan HCl 6N.

Pembuatan Hidrolisat (HDL), Konsentrat (KST) dan Isolat (ISL) Protein Teripang Laut.

Teripang pasir yang diambil dari Lampung, dibersihkan dan dicuci, kemudian dilakukan pemisahan daging teripang dengan bagian tubuh lainnya. Daging teripang dipotong-potong, selanjutnya dilakukan *freeze drying* dan penggilingan, kemudian disaring sehingga didapatkan tepung dengan ukuran 60 mesh. Selanjutnya tepung teripang pasir diproses untuk mendapatkan hidrolisat, konsentrat, dan isolat protein teripang pasir. Pembuatan hidrolisat mengacu pada metode Astawan *et al.*, (1995), dengan cara menghidrolisis ikatan polipeptida protein menjadi ikatan yang lebih pendek dari bahan dasar tepung daging teripang menggunakan enzim tripsin. Pembuatan konsentrat mengacu pada metode Nurjanah (2008) dengan melakukan ekstraksi lemak dari bahan dasar tepung daging teripang menggunakan aseton, sedangkan pembuatan isolat mengacu pada Kanetro *et al.*, (2008) dengan melakukan isolasi pada protein dari bahan dasar tepung daging teripang dengan pengaturan terhadap pH.

Hewan Percobaan dan Perlakuan

Sebanyak 25 ekor tikus putih jantan, dikelompokkan menjadi lima kelompok perlakuan, yaitu : (1) Kontrol negatif (KN), (2) Kontrol positif (KP) yaitu kelompok tikus DM, (3) Kelompok tikus DM yang diberi hidrolisat protein teripang (HDL), (4) Kelompok tikus DM yang diberi konsentrat protein teripang (KST), dan (5) Kelompok tikus DM yang diberi isolat protein teripang (ISL). Konsentrasi hidrolisat (HDL), konsentrat (KST), dan isolat (ISL) yang diberikan adalah 300 mg/kgbb, secara *per oral* dengan sonde.

Kondisi DM didapatkan dengan cara menginduksi aloksan 110 mg/kgbb secara *intraperitoneal* pada tikus percobaan (Wresdiyati *et al.*, 2010). Aloksan merusak sel β pankreas, sehingga fungsi pankreas menjadi terganggu. Pankreas tidak mampu menghasilkan insulin atau menurunkan sekresi insulin, sehingga timbul gangguan metabolisme karbohidrat berupa DM, dengan indikasi kadar glukosa darah tinggi (>200mg/dL). Masa perlakuan

terhadap hewan percobaan selama 28 hari. Ransum basal dan air minum diberikan *ad libitum*. Pada akhir masa perlakuan, tikus percobaan dikorbankan nyawanya dan organ pankreas diambil untuk pewarnaan imunohistokimia.

Pemrosesan Jaringan Pankreas dan Pewarnaan Imunohistokimia

Jaringan pankreas dicuci dengan NaCl fisiologi, kemudian difiksasi dalam larutan Bouin selama 24 jam. Selanjutnya jaringan diproses dengan metode standar *embedding* menggunakan alkohol, silol, dan parafin. Blok jaringan dipotong menggunakan mikrotom. Potongan jaringan setebal 4 μ m selanjutnya diproses dengan pewarnaan imunohistokimia terhadap sel-sel penghasil Cu,Zn-SOD menggunakan metanol, hidrogen peroksida, aquabidest, *neophren*, *toluene*, *phosphat buffered saline* (PBS), serum normal, *biocare's background sniper*, antibodi monoklonal Cu,Zn-SOD (Sigma S2147), *trekkie universal link*, *trek-avidin-HRP*, dan kromogen *diaminobenzidine* (DAB) untuk mendeteksi kandungan antioksidan dan Cu,Zn-SOD pada jaringan pankreas tikus (Wresdiyati *et al.*, 2008).

Observasi dan Analisis Data

Potongan jaringan pankreas hasil pewarnaan imunohistokimia diamati secara kualitatif terhadap kandungan Cu,Zn-SOD. Reaksi positif (+) terhadap keberadaan Cu,Zn-SOD ditunjukkan dengan adanya warna coklat. Pengamatan dilakukan terhadap produk reaksi positif pada pulau Langerhans (PL) dan sel-sel asinar jaringan pankreas, dengan membandingkan intensitas warna coklat yang terbentuk dan distribusinya pada seluruh bagian pada setiap preparat yang diamati. Intensitas warna coklat tersebut menunjukkan kadar kandungan Cu,Zn-SOD. Warna coklat yang semakin tua dan semakin merata berarti mengandung semakin banyak Cu,Zn-SOD. Reaksi negatif (-) ditunjukkan dengan adanya warna biru pada inti sel dan sitoplasma.

Semua jaringan pankreas didokumentasikan dengan mikroskop berkamera (Nikon E6000). Data yang didapat dari kelima kelompok perlakuan dibandingkan secara kualitatif untuk mendapatkan simpulan bagaimanakah profil kandungan Cu,Zn-SOD pada jaringan pankreas tikus DM yang diberi perlakuan hidrolisat, konsentrat, dan isolat protein teripang laut.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pewarnaan imunohistokimia jaringan pankreas tikus perlakuan terhadap enzim antioksidan Cu,Zn-SOD menunjukkan jaringan pankreas positif mengandung antioksidan Cu,Zn-SOD pada inti sel dan sitoplasma sel-sel PL maupun pada sel-sel asinar (Gambar 1 dan 2). Kandungan antioksidan Cu,Zn-SOD pada jaringan pankreas tikus DM atau kelompok kontrol positif (KP) menunjukkan paling rendah dibandingkan kelompok lainnya (Tabel 1) baik pada sel-sel PL (Gambar 1) maupun pada sel-sel asinar (Gambar 2). Hal ini menunjukkan bahwa tikus DM, yang diinduksi aloksan, pada kondisi stres oksidatif.

Tabel 1. Kandungan enzim antioksidan *copper, zinc-superoxide dismutase* (Cu,Zn-SOD) pada pulau Langerhans dan sel-sel asinar jaringan pankreas tikus percobaan

Kelompok	Kandungan Cu,Zn-SOD	
	Pulau Langerhans	Sel-sel asinar
KN	+++++	+++++
KP	+	+
HDL	++++	++++
KST	++	++
ISL	+++	+++

KN = kontrol negatif; KP = kontrol positif; HDL = hidrolisat protein teripang pasir; KST = konsentrat protein teripang pasir; ISL = isolat protein teripang pasir; tanda (+) menunjukkan kandungan antioksidan Cu,Zn-SOD. Semakin banyak tanda (+) semakin tinggi kandungan enzim tersebut dalam jaringan pankreas tikus.

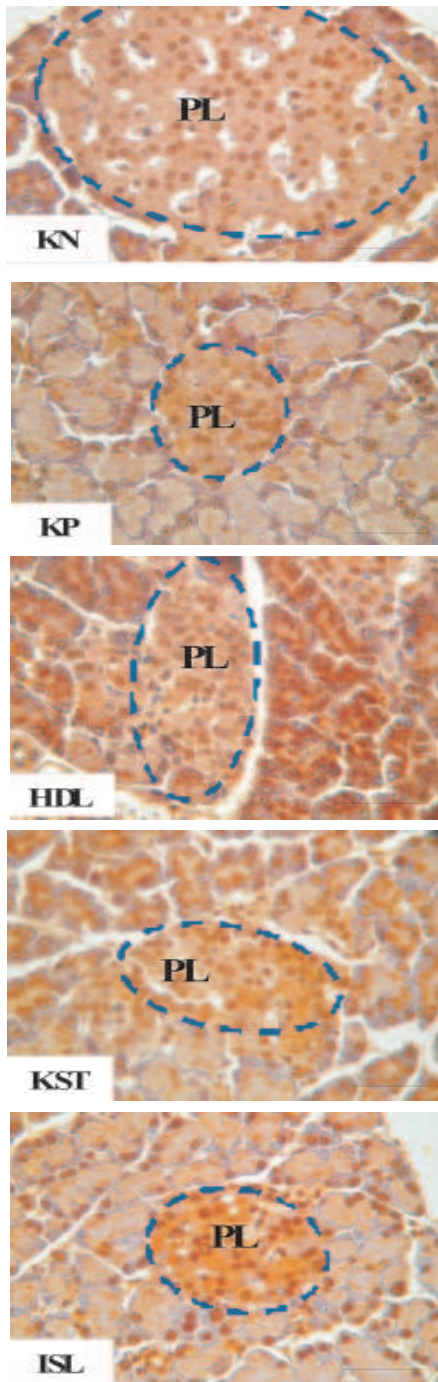
Enzim antioksidan Cu,Zn-SOD adalah salah satu enzim endogen yang berperan sebagai *scavengers* radikal bebas. Selain Cu,Zn-SOD, enzim yang dapat berperan sebagai *scavengers* radikal bebas adalah glutathion peroksidase (GPx), katalase (Valko *et al.*, 2007), serta antioksidan eksogen seperti vitamin-C (Girish *et al.*, 2011).

Pada penderita DM terjadi hiperglikemia karena pengangkutan glukosa ke dalam sel berkurang akibat gangguan produksi insulin, karena berkurangnya sensitivitas reseptor insulin atau keduanya. Rendahnya glukosa

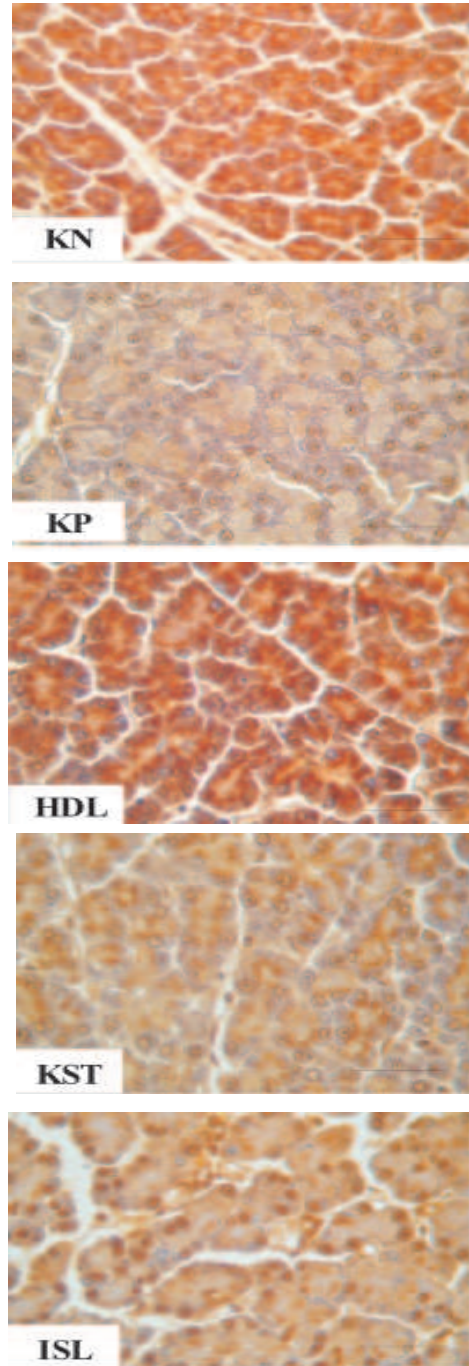
yang masuk ke dalam sel, membuat sel kekurangan energi, sehingga sel akan melakukan proses glikogenolisis (pemecahan glikogen) dan glukoneogenesis (pembentukan glukosa dari bahan selain karbohidrat), pemecahan asam lemak, dan katabolisme protein untuk memenuhi kebutuhannya. Semua proses ini menghasilkan produk sampingan berupa radikal bebas yang toksik bagi sel (Wresdiyati *et al.*, 2003). Hiperglikemia juga memicu terjadinya proses autooksidasi glukosa. Autooksidasi glukosa, *oxidative phosphorylation, nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase* (NADPH), *xanthine oxidase*, pelepasan lipoksigenase, dan monooksigenase sitokrom P450 menghasilkan efek samping berupa radikal bebas (Niedowicz dan Daleke, 2005). Tingginya produksi radikal bebas pada penderita DM menimbulkan stres oksidatif (Fiorentino *et al.*, 2013) yang dapat menyebabkan kerusakan pada jaringan pankreas tikus. Stres oksidatif dapat menyebabkan kerusakan pada sel asinar, disfungsi sel β pulau Langerhans, dan menyebabkan degenerasi serta kematian pada sel (Karunakaran dan Park, 2013).

Radikal bebas yang terbentuk dalam tubuh akan dinetralkan oleh antioksidan tubuh antara lain Cu,Zn-SOD. Antioksidan Cu,Zn-SOD mengkatalis anion superoksida (O_2^-) menjadi hydrogen peroksida (H_2O_2) yang kemudian dikatalisasi dengan cepat oleh enzim katalase dan glutathion peroksidase (GPx) menjadi oksigen (O_2) dan air (H_2O) (Menvielle-Bourg, 2005). Tingginya radikal bebas pada penderita DM menyebabkan penggunaan antioksidan endogen yang tinggi seperti Cu,Zn-SOD, sehingga kandungannya sangat menurun seperti terlihat pada kelompok kontrol positif (KP) pada penelitian ini.

Kandungan antioksidan Cu,Zn-SOD pada tikus DM yang diberi hidrolisat, konsentrat, dan isolat protein teripang pasir (HDL, KST, dan ISL) menunjukkan kandungan lebih tinggi dibandingkan yang tidak diberi (KP), baik pada sel-sel PL maupun sel-sel asinar (Tabel 1). Hal ini menunjukkan bahwa teripang pasir mampu mengatasi stres oksidatif pada tikus DM. Kandungan antioksidan Cu,Zn-SOD kelompok HDL paling tinggi dibandingkan kelompok KST dan ISL. Bahkan kandungan antioksidan Cu,Zn-SOD pada kelompok HDL hampir menyamai kelompok kontrol negatif (Gambar 1 dan 2). Hal ini menunjukkan hidrolisat teripang pasir



Gambar 1. Fotomikrograf pulau Langerhans (PL) jaringan pankreas tikus percobaan dengan pewarnaan imunohistokimia terhadap enzim antioksidan Cu,Zn-SOD. Kandungan Cu,Zn-SOD pada kelompok hidrolisat (HDL), konsentrat (KST), dan isolat (ISL) teripang pasir menunjukkan lebih tinggi dari kelompok kontrol positif (KP). Skala= 50 µm. Lingkaran = pulau Langerhans.



Gambar 2. Fotomikrograf sel-sel asinar jaringan pankreas tikus percobaan dengan pewarnaan imunohistokimia terhadap antioksidan Cu,Zn-SOD. Kandungan Cu,Zn-SOD pada kelompok hidrolisat (HDL) teripang laut lebih tinggi dibandingkan pada kelompok kontrol positif (KP), konsentrat (KST), dan isolat (ISL) teripang pasir, bahkan hampir menyamai kandungan Cu,Zn-SOD pada sel-sel asinar kelompok kontrol negatif (KN). Skala = 50 µm.

memiliki kemampuan paling baik dalam mempertahankan antioksidan Cu,Zn-SOD pada jaringan pankreas tikus DM.

Hidrolisat protein teripang pasir memiliki daya hipoglikemik yang lebih baik dibandingkan dengan konsentrat dan isolat protein teripang pasir (Karnila 2012). Selain itu, hidrolisat teripang pasir juga mengandung protein dan asam amino bebas yang lebih tinggi dibandingkan dengan konsentrat dan isolat protein teripang pasir. Kandungan protein pada hidrolisat, konsentrat, dan isolat teripang pasir berturut-turut adalah 89,57; 73,07; dan 82,17 % bk, serta kandungan asam amino bebas dari hidrolisat, konsentrat, dan isolat protein teripang pasir secara berturut-turut adalah 2,88; 0,22; dan 0,25% bk (Karnila *et al.*, 2011a; 2011b).

Kanetro *et al.*, (2008) melaporkan potensi asam amino kecambah kedelai dalam menstimulasi sekresi insulin. Asam amino bebas mampu meregulasi sekresi insulin oleh sel β pankreas, meningkatkan produksi ATP melalui siklus asam trikarboksilat (TCA) (Newsholme *et al.*, 2006; Liu *et al.*, 2008). Teripang pasir kemungkinan juga mempunyai kemampuan yang sama seperti asam amino pada kecambah kedelai tersebut, sehingga teripang pasir diduga mampu meregulasi dan meningkatkan sekresi insulin, selanjutnya teripang pasir mampu meningkatkan *intake* glukosa ke dalam sel dan menghambat terjadinya hiperglikemia dan menurunkan produksi radikal bebas. Hal ini teramati pada kelompok tikus DM yang diberi hidrolisat teripang pasir mampu mempertahankan kandungan antioksidan Cu,Zn-SOD pada jaringan pankreas. Kemampuan ini selain disebabkan kandungan asam amino bebas, mungkin juga disebabkan komponen aktif lainnya yang terdapat di dalam hidrolisat protein teripang pasir yang secara komprehensif mampu membantu menetralkan radikal bebas pada tikus DM.

SIMPULAN

Pemberian hidrolisat, konsentrat, dan isolat protein teripang pasir dapat meningkatkan kandungan antioksidan Cu,Zn-SOD pada jaringan pankreas tikus DM. Hidrolisat protein teripang pasir mempunyai efek paling baik dalam meningkatkan kandungan enzim antioksidan Cu,Zn-SOD pada jaringan pankreas tikus DM.

SARAN

Sebagai kandidat bahan dasar produk untuk mengatasi kelainan antioksidan jaringan tubuh pada kondisi DM, teripang pasir perlu diteliti lebih lanjut secara klinis pada penderita DM.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini merupakan bagian penelitian yang dibiayai oleh DP2M Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi, Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan, melalui Proyek Penelitian Hibah Bersaing Tahun 2009.

DAFTAR PUSTAKA

- Artunay Ö, Uslu E, Ünal M, Aydin S, Devranoğlu K, Bahçeçioğlu H. 2009. Role of antioxidant system and lipid peroxidation in the development of age-related and diabetic cataract. *Glo-Kat* 4: 221-225.
- Astawan M, Wahyuni M, Yasuhara T, Yamada K, Tadokoro T, Maekawa A. 1995. Effect of angiotensin I-converting enzyme inhibitory substances derived from Indonesian dried-salted fish on blood pressure of rats. *J Biosci Biotech Biochem* 59(3): 425-429.
- Dance SK, Lane I, Bell JD. 2003. Variation in short-term survival of cultured sandfish (*Holothuria scabra*) released in mangrove-seagrass and coral reef flat habitats in Solomon Island. *J Aquac* 220: 495-505.
- Fiorentino TV, Prioleto A, Zuo P, Folli F. 2013. Hyperglycemia-induced oxidative stress and its role in diabetes mellitus related cardiovascular diseases. *Curr Pharm* 19(32): 5695-703.
- Girish BN, Rajesh G, Vaidyanathan K, Balakrishnan V. 2011. Assessment of oxidative status in chronic pancreatitis and its relation with zinc status. *Indian J Gastroenterol* 30(2): 84-88.
- Kanetro B, Zuheid N, Sutardi, Retno I. 2008. Potensi protein kecambah kedelai dalam menstimulasi sekresi insulin pada pankreas tikus normal dan diabetes. *Agritech* 28(2): 50-51
- Karnila R. 2012. Daya hipoglikemik hidrolisat, konsentrat, isolat protein teripang pasir (*Holothuria scabra* J) pada tikus percobaan [disertasi]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.

- Karnila R, Astawan M, Wresdiyati T, Sukarno. 2011a. Analisis Kandungan Nutrisi Daging dan Tepung Teripang Pasir (*Holothuria scabra* J) Segar. *J Berkala Perikanan Terubuk* 39(2): 51-60.
- Karnila R, Astawan M, Wresdiyati T, Sukarno. 2011b. Karakteristik Konsentrat Protein Teripang Pasir (*Holothuria scabra* J). *J Perikanan & Kelautan* 16(2): 90-102.
- Karunakaran U, Park KG. 2013. A systematic review of oxidative stress and safety of antioxidants in diabetes: focus on islets and their defense. *Diabetes Metab J* 37(2): 106-112.
- Kitabchi AE, Umpierrez GE, Miles JM, Fisher JN. 2009. Hyperglycemic crises in adult patients with diabetes. *Diabetes Care* 32(7): 1335-43. doi: 10.2337/dc09-9032.
- Liu Z, Jeppesen PB, Gregersen S, Chen X, Hermansen K. 2008. Dose- and glucose-dependent effects of amino acids on insulin secretion from isolated mouse islets and clonal INS-1E beta-cells. *The Rev Diabet Stud.* 5(4): 232-244.
- Menvielle-Bourg FJ. 2005. Superoxide Dismutase (SOD), a powerful antioxidant, is now available orally. *Phytothérapie* 3: 1-4. doi 10.1007/s10298-005.
- Newsholme P, Brennan L, Bender K. 2006. Amino acid metabolism, β -cell function, and diabetes. *Diabetes* 55(2): 39-47.
- Niedowicz DM, Daleke DL. 2005. The role of oxidative stress in diabetic complications. *Cell Biochemistry and Biophysics* 43: 289-330.
- Nurjanah S. 2008. Identifikasi steroid teripang pasir (*Holothuria scabra*) dan bioassay produk teripang sebagai sumber aprodisiaka alami dalam upaya peningkatan nilai tambah teripang. [disertasi]. Bogor : Institut Pertanian Bogor.
- [WHO] World Health Organization. 2010. Diabetes. *NMHHFactSheet* [Internet]. [diunduh 5 Juli 2013]. Tersedia pada: http://www.who.int/nmh/publications/factsheet_diabetes_en.pdf.
- Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MTD, Mazur M, Telser J. 2007. Review : Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Inter J Biochem & Cell Biol* 39: 44-84.
- Wresdiyati T, Lelana RPA, Adnyane IKM, Noor K. 2003. Immunohistochemical study of superoxide dismutase in the liver of alloxan diabetes mellitus *Macaques*. *Hayati J Bioscience* 10 (2): 61-65.
- Wresdiyati T, Astawan M, Kesenja R, Lestari PA. 2008. Pengaruh pemberian tepung buah pare (*Momordica charantia* L) pada sel β dan SOD pankreas tikus diabetes mellitus. *J Bahan Alam Indonesia* 6 (5): 193-200
- Wresdiyati T, Sinulingga TS, Zulfanedi Y. 2010. Effect of *Momordica charantia* L. powder on antioxidant superoxide dismutase in liver and kidney of diabetic rats. *Hayati J Bioscience* 17 (2):53-57.