

Uji efek ekstrak daun sirih hutan (*Piper aduncum* L.) terhadap kadar gula darah pada tikus wistar (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi aloksan

¹Silvia R. H. Sitinjak

²Jane Wuisan

³Christi Mambo

¹Kandidat Skripsi Fakultas Kedokteran Universitas Sam Ratulangi Manado

²Bagian Farmakologi dan Terapi Fakultas Kedokteran Universitas Sam Ratulangi Manado

Email: silvia01sitinjak@gmail.com

Abstract: Forest betel leaf (*Piper aduncum* L.) has been known by public to have efficacy in wound healing, stop vomiting, reducing nausea, aiding digestion, as an antiseptic, as well as killing bacteria, fungi and viruses. Dewi et al. found that 50 mg/kgBW and 100 mg/kgBW red betel leaf extract caused a decrease blood glucose levels in Wistar rats (*Rattus norvegicus*) induced by alloxan. This study was aimed to identify the effect of forest betel leaf extract on blood glucose levels on Wistar rats induced by alloxan. Subjects were Wistar rats with total of 15 samples divided into five groups: a negative control group and four hyperglycemic groups induced by 130 mg/kgBW of alloxan. Forest betel leaf extract was administered with dose of 25 mg/kgBW, 50 mg/kgBW, and 100 mg/kgBW on each groups of hyperglycemic rats, and group 0.4 IU/100grBW of novomix injection was administered on the positive control group. Blood glucose levels were measured in the 0, 30, 60, 90, and 120 minutes on day one, two, and three. The results showed that 25 mg/kgBW, 50 mg/kgBW, and 100 mg/kgBW of forest betel leaf extract had a tendency to decrease blood glucose levels of Wistar rats induced by alloxan.

Keywords: *piper aduncum* L., forest betel leaf, blood glucose levels, alloxan

Abstrak: Daun sirih hutan (*Piper aduncum* L.) telah dikenal oleh masyarakat dan mempunyai khasiat dalam penyembuhan luka, menghentikan muntah, mengurangi mual, melancarkan pencernaan, sebagai antiseptik, membunuh bakteri dan jamur serta virus. Menurut penelitian Dewi dkk, pemberian ekstrak daun sirih merah dengan dosis 50 mg/kgBB dan 100 mg/kgBB menyebabkan penurunan kadar gula darah pada tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi dengan aloksan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek ekstrak daun sirih hutan terhadap kadar gula darah pada tikus Wistar yang diinduksi dengan aloksan. Subjek penelitian berupa tikus Wistar berjumlah 15 ekor yang dibagi dalam 5 kelompok terdiri atas kelompok kontrol negatif dan 4 kelompok tikus Wistar yang diberi aloksan dengan dosis 130 mg/kgBB tikus yang menyebabkan tikus Wistar dalam keadaan hiperglikemik. Tikus hiperglikemik diberi ekstrak daun sirih hutan dengan dosis 25 mg/kgBB tikus, 50 mg/kgBB tikus, dan 100 mg/kgBB tikus, dan yang terakhir kelompok kontrol positif diberi suntikan novomix 0,4 IU/100grBB tikus. Data diperoleh dari pemeriksaan kadar gula darah pada semua kelompok pada hari pertama, kedua, dan ketiga pada menit ke-0, 30, 60, 90, dan 120. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun sirih hutan dengan dosis 25 mg/kgBB tikus, 50 mg/kgBB dan 100 mg/kgBB tikus memiliki kecenderungan untuk menurunkan kadar gula darah tikus Wistar yang diinduksi oleh aloksan.

Kata kunci: *piper aduncum*L., daun sirih hutan, kadar gula darah, aloksan

Diabetes melitus (DM) adalah suatu penyakit metabolik dengan karakteristik hiperglikemia yang terjadi karena kelainan sekresi insulin, kerja insulin, atau keduanya.^{1,2} DM merupakan penyakit kronis yang masih menjadi masalah utama dalam kesehatan di Indonesia.³

Hasil Riset Kesehatan Dasar tahun 2013 menyatakan prevalensi diabetes yang terdiagnosis dokter tertinggi terdapat di DI Yogyakarta (2,6%), DKI Jakarta (2,5%), Sulawesi Utara (2,4%) dan Kalimantan Timur (2,3%).⁴ Menurut penelitian epidemiologi yang dilaksanakan di Indonesia, prevalensi diabetes di Manado adalah sebesar 6%.⁵

Tumbuhan sebagai obat-obatan tradisional merupakan tumbuhan yang diketahui dan dipercaya masyarakat, mempunyai khasiat obat dan telah digunakan sebagai bahan baku obat tradisional.⁶ Obat tradisional Indonesia merupakan warisan budaya bangsa sehingga perlu dilestarikan, diteliti dan dikembangkan.⁷

Daun sirih hutan (*Piper aduncum* L.) telah dikenal oleh masyarakat dan mempunyai khasiat dalam penyembuhan luka, menghentikan muntah, mengurangi mual, melancarkan pencernaan, sebagai antiseptik, membunuh bakteri dan jamur serta virus.⁸ Penelitian Dewi et al. menunjukkan pemberian ekstrak daun sirih merah dengan dosis 50 mg/kgBB dan 100 mg/kgBB menyebabkan penurunan kadar gula darah pada tikus Wistar yang diinduksi dengan aloksan.⁹ Berdasarkan informasi diatas, penulis mersa tertarik untuk mengetahui apakah ekstrak daun sirih hutan (*Piper aduncum* L.) berefek terhadap kadar gula darah pada tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi aloksan.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental yang dilakukan di Laboratorium Fitokimia dan Laboratorium Farmakologi FMIPA Universitas Sam Ratulangi. Subyek penelitian terdiri dari 15 ekor tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) dengan berat badan rata-rata 100 gr.

Alat dan Bahan Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari wadah makanan, botol minuman, wadah plastik, kawat kasa, blender, oven, toples, corong, batang pengaduk, *vacuum rotary evaporator*, timbangan analitik, gelas ukur, cawan petri, kertas saring dr. Watts no. 1, *Multi Monitoring System Autocheck*, gunting minor set, sonde lambung, *disposable syringe* 1 cc. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun sirih hutan (*Piper aduncum* L.) (Gambar 1), aquades, NaCl 0,9%, CMC 1%, aloksan, novomix, pakan AD2, etanol 96%, alkohol 70%.



Gambar 1. Daun *Piper aduncum* L.

Tikus Wistar dipelihara sebanyak 15 ekor dalam keadaan sehat di dalam kandang yang diberi sekam padi. Selama satu minggu dipelihara tanpa perlakuan agar tidak stres. Tikus Wistar diberi makan pakan AD2 sebanyak 10 gr/hari dan minum dari botol yang diberi pipet.

Pada penelitian ini digunakan aloksan dengan dosis 130 mg/kgBB.¹⁰ Tikus Wistar diberi aloksan secara intraperitoneal dengan menggunakan *disposable syringe* 1 cc.

Dosis insulin yang digunakan untuk manusia dengan berat badan rata-rata 60 kg dan kadar gula darah puasa > 180 mg/dl adalah 6 IU Novomix,¹¹ maka dosis yang digunakan pada tikus adalah:

$$\frac{6 IU}{60 kg} = 0,1 IU/kg.$$

Perhitungan pemberian dosis berdasarkan pada rumus *Human Equivalent Dose (HED) based on Body Surface Area (BSA)*,^{12,13} maka didapatkan hasil:

$$\begin{aligned} \text{HED (mg/kg)} &= \text{Dosis hewan (mg/kg)} \times \frac{\text{faktorkmhewan}}{\text{faktor km manusia}} \\ \text{Dosis hewan (mg/kg)} &= \text{HED (mg/kg)} \times \frac{\text{faktorkmmanusia}}{\text{faktor km hewan}} \\ &= 0,1 \times \frac{37}{6} = 0,61 \text{ dibulatkan } 0,6 \text{ IU/150grBB tikus.} \end{aligned}$$

Jadi, dosis insulin yang akan diberikan untuk 100grBB adalah 0,4 IU/100grBB tikus. Analog insulin diberikan secara subkutan.

Ekstrak daun sirih hutan dibuat dengan proses maserasi menggunakan etanol 96%. Dosis ekstrak daun sirih hutan ditentukan yaitu 25 mg/kgBB/tikus, 50 mg/kgBB/tikus, dan 100 mg/kgBB/tikus.⁹

Lima belas ekor tikus Wistar, diadaptasi selama 1 minggu dan dibagi dalam 5 kelompok yang terdiri masing-masing atas 3 ekor. Sebelum pengukuran pada hari pertama, semua tikus dipuasakan selama 24 jam. Pada hari pertama, diperiksa kadar gula darah puasa pada masing-masing kelompok.

Hewan uji kemudian diberikan aloksan secara intraperitoneal pada setiap kelompok kecuali kelompok kontrol negatif yang hanya diberikan aquades. Pada hari kedua atau 24 jam setelah pemberian aloksan, kadar gula darah tikus diukur kembali pada masing-masing kelompok. Pada hari ketiga atau 48 jam setelah pemberian aloksan, kadar gula darah tikus diukur kembali pada masing-masing kelompok lalu diberikan perlakuan pada masing-masing kelompok sebagai berikut:

1. Kelompok 1 sebagai kontrol negatif hanya diberikan aquades
2. Kelompok 2 sebagai kontrol positif diberikan suntikan novomix 0,4 IU/100grBB tikus.
3. Kelompok 3 sebagai perlakuan 1 diberikan ekstrak daun sirih hutan dengan dosis 2,5 mg/100grBB tikus.
4. Kelompok 4 sebagai perlakuan 2 diberikan ekstrak daun sirih hutan dengan dosis 5 mg/100grBB tikus.
5. Kelompok 5 sebagai perlakuan 3 diberikan ekstrak daun sirih hutan dengan dosis 10 mg/100grBB tikus.

Kadar gula darah semua tikus pada masing-masing kelompok kemudian

diperiksa pada menit ke 0, 30, 60, 90, dan 120. Sampel darah diambil dari ujung ekor tikus yang dipotong menggunakan gunting minor set dan diukur dengan menggunakan *Multi Monitoring System Autocheck*.

HASIL PENELITIAN

Rerata kadar glukosa darah kelompok kontrol negatif yang hanya diberikan aquades pada hari pertama (H1)78,67 mg/dl menjadi 115,33 mg/dl pada hari kedua (H2), selanjutnya pada hari ketiga (H3) menjadi 108 mg/dl, pada H3menit ke-0 menjadi 110,33 mg/dl, menit ke-30 115,33 mg/dl, menit ke-60 100,67 mg/dl, menit ke-90 116,33 mg/dl dan pada menit ke-120 menjadi 118,67 mg/dl.

Rerata kadar glukosa darah kelompok kontrol positif yang diberikan suntikan aloksan dan suntikan novomix, pada hari pertama (H1)67,67 mg/dl menjadi 140,33 mg/dl pada hari kedua (H2) atau 24 jam setelah disuntik aloksan, selanjutnya pada hari ketiga (H3) atau 48 jam setelah disuntik aloksan menjadi 218,33 mg/dl, pada H3 setelah diberi suntikan novomix menit ke-0 menjadi 206,33 mg/dl, menit ke-30 menjadi 145,33 mg/dl, menit ke-60 menjadi 127,33 mg/dl, menit ke-90 menjadi 80,33 mg/dl, dan menit ke-120 menjadi 71 mg/dl.

Rerata kadar glukosa darah kelompok perlakuan 1 yang diberikan suntikan aloksan dan ekstrak daun sirih hutan 2,5 mg/100grBB tikus, pada hari pertama (H1) 75,67 mg/dl menjadi 119,33 mg/dl pada hari kedua (H2) atau 24 jam setelah disuntik aloksan, selanjutnya pada hari ketiga (H3) atau 48 jam setelah disuntik aloksan menjadi 127 mg/dl, pada H3 setelah diberi ekstrak daun sirih hutan

menit ke-0 menjadi 112,33 mg/dl, menit ke-30 menjadi 98,33 mg/dl, menit ke-60 menjadi 106,33 mg/dl, menit ke-90 menjadi 111 mg/dl, dan menit ke-120 menjadi 122 mg/dl.

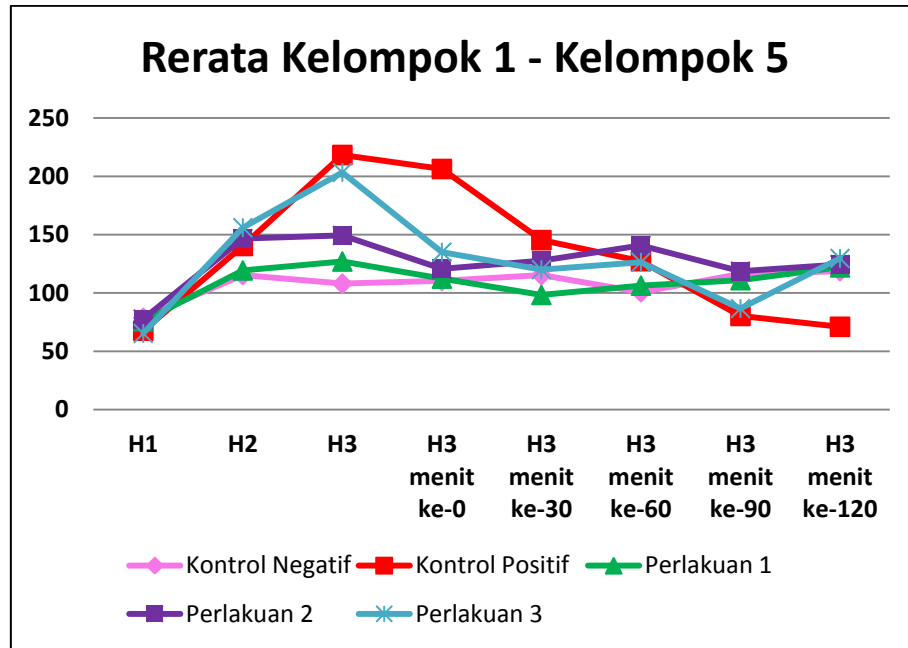
Rerata kadar glukosa darah kelompokperlakuan 2 yang diberikan suntikan aloksan dan ekstrak daun sirih hutan 5 mg/100grBB tikus, pada hari pertama (H1) 77,67 mg/dl menjadi 146,67 mg/dl pada hari kedua (H2) atau 24 jam setelah disuntik aloksan, selanjutnya pada hari ketiga (H3) atau 48 jam setelah disuntik aloksan menjadi 149,33 mg/dl, pada H3 setelah diberi ekstrak daun sirih hutan menit ke-0 menjadi 120,67 mg/dl, menit ke-30 menjadi 127,67 mg/dl, menit ke-60 menjadi 140,67 mg/dl, menit ke-90 menjadi 118,67 mg/dl, dan menit ke-120 menjadi 124,33 mg/dl.

Rerata kadar glukosa darah kelompokperlakuan 3 yang diberikan suntikan aloksan dan ekstrak daun sirih hutan 10 mg/100grBB tikus, pada hari pertama (H1) 65,33 mg/dl menjadi 156 mg/dl pada hari kedua (H2) atau 24 jam setelah disuntik aloksan, selanjutnya pada hari ketiga (H3) atau 48 jam setelah disuntik aloksan menjadi 203,33 mg/dl, pada H3 setelah diberi ekstrak daun sirih hutan menit ke-0 menjadi 135 mg/dl, menit ke-30 menjadi 120 mg/dl, menit ke-60 menjadi 126,33 mg/dl, menit ke-90 menjadi 86,67 mg/dl, dan menit ke-120 menjadi 129,67 mg/dl.

Hasil pengukuran seluruh kelompok dapat dilihat pada Tabel 1 dan grafik rerata kadar gula darah seluruh kelompok dapat dilihat pada Gambar 2.

Tabel 1. Kadar gula darah seluruh kelompok

Kelompok	Hewan uji	H1 (mg/dl)	H2 (mg/dl)	H3 (mg/dl)	H3 (mg/dl)				
					0'	30'	60'	90'	120'
Kontrol Negatif	Tikus N1	73	116	95	89	116	92	114	124
	Tikus N2	78	99	101	116	124	107	118	120
	Tikus N3	85	131	128	126	106	103	117	112
	Rerata	78,67	115,33	108	110,33	115,33	100,67	116,33	118,67
Kontrol Positif	Tikus P1	65	136	205	195	134	122	61	46
	Tikus P2	58	130	185	176	145	136	78	92
	Tikus P3	80	155	265	248	157	124	102	75
	Rerata	67,67	140,33	218,33	206,33	145,33	127,33	80,33	71
Perlakuan 1	Tikus A1	78	117	120	109	103	103	130	119
	Tikus A2	71	120	127	121	119	106	80	126
	Tikus A3	78	121	134	107	73	110	123	121
	Rerata	75,67	119,33	127	112,33	98,33	106,33	111	122
Perlakuan 2	Tikus B1	77	129	109	131	142	138	125	154
	Tikus B2	82	126	136	124	116	125	108	91
	Tikus B3	74	185	203	107	125	159	123	128
	Rerata	77,67	146,67	149,33	120,67	127,67	140,67	118,67	124,33
Perlakuan 3	Tikus C1	70	205	255	155	116	139	89	134
	Tikus C2	61	138	185	135	127	116	99	135
	Tikus C3	65	125	170	115	117	124	72	120
	Rerata	65,33	156	203,33	135	120	126,33	86,67	129,67



Gambar 2. Kurva kadar gula darah tikus Wistar kontrol negatif aquades, kontrol positif Novomix 0,4 IU/100 grBB, ekstrak daun sirih hutan 2,5 mg/100 grBB, ekstrak daun sirih hutan 5 mg/100 grBB dan ekstrak daun sirih hutan 10 mg/100 grBB.

BAHASAN

Penelitian ini dilakukan bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun sirih hutan terhadap penurunan kadar gula darah tikus Wistar yang diinduksi dengan aloksan.

Hasil pengukuran kadar gula darah tikus pada kelompok kontrol negatif yang hanya diberikan aquades tidak menunjukkan adanya peningkatan atau penurunan kadar gula darah yang bermakna. Hasil rerata kadar gula darah tikus pada kelompok kontrol negatif sejak hari kedua sampai hari ketiga menit ke-120 masih dalam batas normal yaitu 50-135 mg/dl.¹⁴ Hal ini dikarenakan tikus pada kelompok kontrol negatif hanya diberikan aquades dimana aquades merupakan air murni yang hampir tidak mengandung mineral sehingga tidak bisa untuk meningkatkan gula darah pada tikus.

Hasil pengukuran kadar gula darah tikus pada kelompok kontrol positif yang diberikan suntikan aloksan didapatkan peningkatan kadar gula darah pada hari kedua sampai hari ketiga. Pada hari kedua atau 24 jam setelah pemberian aloksan, kadar gula darah tikus pada kelompok

kontrol positif mengalami peningkatan. Hal ini dikarenakan senyawa aloksan merupakan salah satu zat diabetogenik yang bersifat toksik, terutama pada sel beta pankreas dan apabila diberikan kepada hewan coba, hewan coba tersebut menjadi hiperglikemia.¹⁰ Pada hari ketiga atau 48 jam setelah pemberian aloksan, kadar gula darah tikus pada kelompok kontrol positif mengalami peningkatan yang drastis, hal ini dikarenakan aloksan menimbulkan keadaan hiperglikemia permanen dalam waktu 2-3 hari.⁹ Keadaan hiperglikemia berasal dari perubahan di beberapa jalursalah satunya yaitu terjadi ketidakseimbangan antara produksi dan eliminasi ROS (*Reactive Oxygen Species*), dan stres oksidatif memainkan peran sentral dalam semua ini dan dapat memperparah kerusakan sel beta pankreas.¹⁵ Stres oksidatif meningkat menyebabkan aktivitas glukokinase dan biosintesis insulin menurun sehingga sekresi insulin menurun.^{15,16}

Kelompok kontrol positif yang diberikan novomix pada hari ketiga mengalami penurunan kadar gula darah

mulai dari menit ke-0 hingga menit ke-120. Novomix diberikan secara subkutan. Pemberian novomix menunjukkan respon yang positif dimana terjadi penurunan kadar gula darah yang bermakna. Hal ini dikarenakan novomix berkaitan dengan reseptor insulin yang meningkatkan ambilan glukosa darah dan menghambat pengeluaran glukosa oleh hepar. Novomix mulai bekerja 10-20 menit setelah diinjeksi dan memiliki efek maksimum 1-4 jam setelah diinjeksi. Durasi atau lama kerja novomix yaitu kurang dari 24 jam.¹¹

Pada kelompok perlakuan 1 yang diberikan ekstrak daun sirih hutan dosis 2,5 mg/100grBB tikus memiliki hasil penurunan yang lebih besar pada menit ke-30, sedangkan kelompok perlakuan 2 yang diberikan ekstrak daun sirih hutan dosis 5 mg/100grBB tikus memiliki hasil penurunan yang lebih besar pada menit ke-90. Pada kelompok perlakuan 3 yang diberikan ekstrak daun sirih hutan dosis 10 mg/100grBB tikus memiliki hasil penurunan yang lebih besar pada menit ke-90 dan ini merupakan hasil penurunan yang lebih baik jika dibandingkan dengan dosis 2,5 mg/100grBB tikus dan dosis 5 mg/100grBB tikus. Namun demikian, hampir semua tikus kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak daun sirih hutan mengalami peningkatan kadar gula darah pada menit ke-120. Hal ini kemungkinan disebabkan karena ekstrak daun sirih hutan sudah tidak memiliki efek untuk menurunkan kadar gula darah. Efek penurunan kadar gula darah yang berbeda pada tiap dosis kemungkinan dipengaruhi oleh jumlah kandungan kimia yang berbeda pada tiap dosis pemberian.

Penurunan kadar gula darah pada kelompok perlakuan terjadi karena pemberian ekstrak daun sirih hutan. Dalam daun sirih hutan ada kandungan antioksidan berupa flavonoid dan polifenol yang kemungkinan merupakan penyebab turunnya kadar gula darah tikus.¹⁷ Flavonoid adalah salah satu senyawa yang mengandung antioksidan yang dapat bertindak sebagai penangkap radikal hidroksil.⁹ Polifenol adalah salah satu

antioksidan yang mampu mengurangi stres oksidatif dengan cara mencegah terjadinya reaksi berantai perubahan superoksida menjadi hidrogen superoksida dengan mendonorkan atom hidrogen dari kelompok aromatik hidroksil (-OH) polifenol untuk mengikat radikal bebas dan membuangnya dari dalam tubuh melalui sistem ekskresi.¹⁸ Peran polifenol sebagai antioksidan diduga mampu melindungi sel beta pankreas dari efek toksik radikal bebas, mengurangi stres oksidatif, dan menurunkan ekspresi TNF- α .^{18,19}

SIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun sirih hutan dengan dosis 25 mg/kgBB tikus, 50 mg/kgBB dan 100 mg/kgBB tikus memiliki kecenderungan untuk menurunkan kadar gula darah tikus Wistar yang diinduksi oleh aloksan.

Berdasarkan hasil penelitian ini maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai kandungan kimia yang mempunyai efek menurunkan kadar gula darah, mengenai efek samping dari daun sirih hutan serta menggunakan hewan uji yang lebih banyak.

DAFTAR PUSTAKA

- 1. Purnamasari D.** Diagnosis dan Klasifikasi Diabetes Melitus. Dalam: Sudoyo AW, Setiyo HB, Alwi I, Simadibrata M, Setiati S. Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam. Edisi ke-5. Jakarta Pusat: Interna Publishing; 2009. h. 1880-3.
- 2. Priantono D, Sulistianingsih DP.** Diabetes Melitus. Dalam: Tanto C, Liwang F, Hanifati S, Pradipta EA. Kapita Selekta Kedokteran. Edisi ke-4. Jakarta: Media Aesculapius; 2014. h. 777-9.
- 3. Yuliani F, Oenzil F, Iryani D.** Hubungan berbagai Faktor Risiko terhadap Kejadian Penyakit Jantung Koroner pada Penderita Diabetes Melitus Tipe 2. Jurnal Kesehatan Andalas. 2014;3:37.
- 4.** Departemen Kesehatan RI. Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) 2013. Jakarta:

- Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan; 2013. h. 87-90.
5. **Suyono S.** Diabetes Melitus di Indonesia. Dalam: Sudoyo AW, Setiyo HB, Alwi I, Simadibrata M, Setiati S. Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam. Edisi ke-5. Jakarta Pusat: Interna Publishing; 2009. h. 1874-8.
 6. **Yuniati E, Alwi M.** Etnobotani Keanekaragaman Jenis Tumbuhan Obat Tradisional dari Hutan di Desa Pakuli Kecamatan Gumbasa Kabupaten Donggala, Sulawesi Tengah. *Biocelebes*. 2010;4:69.
 7. **Dewoto HR.** Pengembangan Obat Tradisional Indonesia menjadi Fitofarmaka. *Maj Kedokt Indon*. 2007;57:205-6.
 8. **Gholib D.** Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Daun Karuk (*Piper sarmentosum* ROXB.) dan Daun Seserehan (*Piper aduncum* L.) terhadap *Trichophyton mentagrophytes*. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner; Bogor: 2009.
 9. **Dewi YF, Anthara MS, Dharmayudha GO.** Efektifitas Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper crocatum*) terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus*) yang di Induksi Aloksan. *Buletin Veteriner Udayana*. 2014;6:73-9.
 10. **Nugroho AE.** Hewan Percobaan Diabetes Melitus: Patologi dan Mekanisme Aksi Diabetogenik. *Biodiversitas*. 2006;7:378-82.
 11. Anonim. NovoMix, INN-insulin Aspart. [Internet] [Diakses pada tanggal 29 September 2016]. Tersedia di: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/000308/WC500029441.pdf
 12. **Shin JW, Seol IC, Son CG.** Interpretation of Animal Dose and Human Equivalent Dose for Drug Development. *The Journal of Korean Oriental Medicine*. 2010;31:1-7.
 13. **Parvova I, Danchev N, Hristov E.** Animal Models of Human Diseases and Their Significance for Clinical Studies of New Drugs. *J Clin Med*. 2011;4:19-29.
 14. **Johnson MD, Gad SC.** *The Rat*. In: Gad SC. *Animal Models in Toxicology*. 2nd Edition. New York: Taylor & Francis; 2007. p. 152,196.
 15. **Campos C.** Chronic Hyperglycemia and Glucose Toxicity: Pathology and Clinical Sequelae. *Postgraduate Medicine*. 2012;124:2-4.
 16. **Kawahito S, Kitahata H, Oshita S.** Problems Associated with Glucose Toxicity: Role of Hyperglycemia-induced Oxidative Stress. *World J Gastroenterol*. 2009;15:4137-40.
 17. **Kinoh J, Arini DID, Halawane J, Nurani L, Halidah, Kafiari Y, dkk.** Tumbuhan Obat Tradisional di Sulawesi Utara. Jilid II. Manado: Balai Penelitian Kehutanan Manado Badan Penelitian dan Pengembangan Kehutanan Kementerian Kehutanan; 2011. h. 34-5.
 18. **Ridwan A, Astrian RT, Barlian A.** Pengukuran Efek Antidiabetes Polifenol (*Polyphenon 60*) Berdasarkan Kadar Glukosa Darah dan Histologi Pankreas Mencit (*Mus musculus* L.) S. W. Jantan yang di Kondisikan Diabetes Mellitus. *Jurnal Matematika & Sains*. 2012;17:80-2.
Widowati W. Potensi Antioksidan sebagai Antidiabetes. *JKM*. 2008;7: 1-7.