Aktifitas Hipoglikemik dan Hipolipidemik Ekstrak Air Daun Bungur (*Lagerstroemia speciosa* [L.] Pers.) terhadap Tikus Diabetik

Hypoglycaemic and hypolipidaemic activities of water extract on Lagerstroemia speciosa (L.) Pers. leaves in diabetic rat

UDHI EKO HERNAWAN*, SUTARNO, AHMAD DWI SETYAWAN**

Jurusan Biologi FMIPA Universitas Sebelas Maret Surakarta 57126.

Korespondensi: Jl. Ir. Sutami 36A Surakarta 57126. Tel. & Fax. +62-271-663375. e-mail: *udhi_z@myquran.com, **biodiv@uns.ac.id.

Diterima: 29 Nopember 2003. Disetujui: 11 Maret 2004.

Abstract. The aim of this study was to know the hypoglycaemic and hypolipidaemic activities of water extract of bungur (*Lagerstroemia speciosa* [L.] Pers.) leaves in alloxan-induced diabetic rats. Phytochemical studies were conducted to determine the tannin-contents of the water extract (WE). Male Wistar rats (150- 180 g BW) were used in this study. The rats were divided into six groups: normal control; diabetic control; glibenclamide; WE 0.1 g/200 g BW; WE 0.2 g/200 g BW; and WE 0.5 g/200 g BW. Dried leaves of bungur extracted with boiling water (50 g/L) for 30 minutes. The extract was administered orally. Fasting blood glucose, triglyceride, and total cholesterol were determined at 0, 2, 4, 6 hours after treatment. Total phenol, ellagitannin, gallotannin, and condensed-tannin were determined from the WE. The results showed that WE exhibited hypoglycemic activity at doses 0.2 g/200 g BW and 0.5 g/200 g BW. The last dose showed similar hypoglycemic activity compared with glibenclamide. All doses showed hypolipidemic activity higher than glibenclamide. Phytochemical studies showed that the WE containing total phenol 0.025%; ellagitannin 0.011%; gallotannin 0.0199%; and condensed-tannin 0.0167%.

Keywords: bungur leaves, hypoglycaemic, hypolipidaemic, tannin.

PENDAHULUAN

Diabetes mellitus (DM) atau kencing manis merupakan penyakit fisiologis dengan ciri utama berupa abnormalitas metabolisme glukosa. Kadar glukosa darah penderita DM mengalami kenaikan melebihi batas normal (hiperglikemik) (Maher, 2000). Penderita DM juga mengalami abnormalitas metabolisme lemak. Aktivitas lipolisis (pemecahan lemak) tidak terkendali, menyebabkan tingginya kadar asam lemak bebas, trigliserida (hipertrigliseridaemia) dan kolesterol (hiperkolesterolemia) yang memicu resiko komplikasi kardiovaskuler seperti, atherosklerosis, hipertensi, serangan jantung, dan kebutaan (Marieb, 1997; Kahn dan Flier, 2000; Dewi dkk., 2001).

Diabetes mellitus menjadi salah satu masalah kesehatan di dunia termasuk Indonesia. Pada beberapa kelompok etnis tertentu, penderita DM dapat mencapai lebih dari 10% total populasi (Baumann dan Saltiel, 2001). Pada tahun 1995, terdapat 135 juta penderita DM dan diperkirakan akan naik 122% menjadi 300 juta pada tahun 2025 di seluruh dunia (Liu *et al.*, 2001). Pada tahun 2000, diperkirakan minimal terdapat 4 juta prevalensi DM di Indonesia, sedangkan di seluruh dunia terdapat kurang lebih 175,4 juta penderita DM (Tjokroprawiro, 2000).

Terapi DM diberikan kepada penderita dengan target minimal dapat menurunkan kadar glukosa darah menjadi normal (hipoglikemik). Selain itu,

terapi DM juga diharapkan dapat mengurangi resiko komplikasi kardiovaskuler. Untuk mencapai tujuan tersebut, dikembangkan terapi DM komprehensif yang tidak hanya mengendalikan metabolisme glukosa (hipoglikemik), tetapi juga metabolisme lemak (hipolipidemik). Penelitian dan pengembangan terapi DM harus mencakup dua aspek metabolisme tersebut (Maher, 2000; Saravanan dan Pari, 2003).

Bentuk terapi yang dapat diberikan adalah dengan pengobatan dan perbaikan gaya hidup (Maher, 2000). Terapi DM dengan pengobatan dapat dilakukan dengan menggunakan obat-obatan kimiawi sintetik maupun ramuan tradisional. Terapi dengan ramuan tradisional, telah menjadi bagian dari budaya masyarakat di berbagai belahan dunia. Hampir setiap negara di dunia mempunyai kebudayaan sendiri tentang pemanfaatan alam (tumbuhan) untuk pengobatan (Lee *et al.*, 2000). Berdasarkan perkiraan WHO, lebih dari 80% penduduk di negara-negara berkembang tergantung pada ramuan tradisional untuk mengatasi masalah kesehatan mereka (Khan *et al.*, 2002).

Terapi dengan ramuan tradisional dirasakan lebih murah dengan prosedur mudah dibandingkan dengan obat kimiawi sintetik. Peluang untuk mendapatkan ramuan yang mujarab dan mudah diperoleh masih terbuka sangat lebar, mengingat potensi tanaman obat Indonesia yang tinggi dan belum dimanfaatkan semuanya. Budhi (1994) menyebutkan pentingnya penggalan informasi tentang obat-obatan tradisional melalui tahap-tahap

pengujian, penelitian, dan pengembangan secara sistematis agar pemanfaatan dan khasiatnya dapat dipertanggungjawabkan secara ilmiah.

Salah satu ramuan tradisional dari Filipina yang digunakan untuk mengobati penderita DM adalah ramuan dari daun *Lagerstroemia speciosa* (L.) Pers. atau bungur. Namun di Indonesia, ekstrak daun bungur belum dimanfaatkan sebagai ramuan anti-diabetik. Padahal, beberapa laporan penelitian menunjukkan adanya potensi ekstrak daun bungur dalam menurunkan kadar glukosa darah penderita DM. Ekstrak daun bungur dari beberapa pelarut diketahui memiliki aktivitas hipoglikemik baik secara *in vivo* maupun *in vitro* (Mishra *et al.* 1990; Kakuda *et al.* 1996; Liu *et al.* 2001; Hayashi *et al.* 2002), sedangkan penelitian yang mengkaji tentang efek daun bungur terhadap metabolisme lemak pada DM belum pernah dilakukan.

Pemberian ekstrak daun bungur diharapkan menjadi salah satu bentuk terapi DM komprehensif yang mencakup dua aspek yaitu, hipoglikemik dan hipolipidemik. Sebelum diaplikasikan secara klinis pada manusia, diperlukan rangkaian penelitian dalam skala laboratorium, baik secara *in vivo* maupun *in vitro*. Penelitian tentang aktivitas hipoglikemik daun bungur telah dilakukan dan ditemukan kelompok senyawa aktifnya meskipun secara detail masih belum jelas (Liu *et al.*, 2001), sedangkan penelitian tentang aktivitas hipolipidemik dari daun bungur belum pernah dilakukan. Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui aktivitas hipoglikemik dan hipolipidemik ekstrak air daun bungur (*Lagerstroemia speciosa* [L.] Pers.) pada tikus diabetik.

BAHAN DAN METODE

Waktu dan tempat

Penelitian dilaksanakan di Unit Pengembangan Hewan Percobaan (UPHP) UGM Yogyakarta dan Sub Lab. Biologi Laboratorium Pusat MIPA UNS Surakarta pada bulan Juli-Agustus 2003.

Bahan dan alat

Hewan percobaan yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus* L.) jantan strain Wistar dengan umur 2–3 bulan dan berat tubuh 150–180 gram sebanyak 18 tikus. Hewan percobaan diperoleh dari Unit Pengembangan Hewan Percobaan, Universitas Gajah Mada, Yogyakarta.

Bahan tumbuhan untuk penelitian ini adalah daun bungur (*Lagerstroemia speciosa* [L.] Pers.) yang diperoleh dari kampus UNS Surakarta. Daun yang akan diekstrak dipilih yang sudah tua. Untuk mengekstrak digunakan pelarut akuades. Reagen Folin-Ciocalteu, reagen Butanol-HCl, reagen Ferric, HCl pekat, H₂SO₄ 2 N, NaNO₂ 1%, Na₂CO₃, pyridine, dan asam tanat adalah kemikalia untuk studi fitokimia. Larutan CMC (*carboxymethylcellulose*) 1% digunakan untuk sebagai pelarut glibenclamid (obat diabetes kimiawi sintetis). Alloskan monohidrat digunakan untuk menginduksi tikus normal menjadi diabetes.

Bahan-bahan yang digunakan dalam analisis kadar glukosa dan lemak adalah enzim glukosa oksidase, untuk analisis glukosa; kolesterol esterase dan kolesterol oksidase untuk analisis kolesterol; lipoprotein lipase, gliserokinase, gliserol-3-fosfat-oksidas, dan peroksidase untuk analisis trigliserida. Semua reagen untuk analisis glukosa dan lemak didapatkan dari *DiaSys Diagnostic Systems GmbH & Co.KG*. Jerman.

Alat-alat yang digunakan untuk pembuatan ekstrak daun bungur adalah timbangan analitik, pisau, corong, blender, gelas beker, oven, desikator, *rotary evaporator*, dan penangas air. Pengambilan sampel darah dilakukan dengan kapiler hematokrit. Analisis kadar glukosa dan lemak darah menggunakan tabung effendorf, *sentrifuge*, mikropipet, dan seperangkat alat spektrofotometri, serta tabung kuvet.

Cara kerja

Rancangan percobaan

Penelitian ini menggunakan rancangan percobaan berupa Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 6 perlakuan, masing-masing tiga ulangan.

Pembuatan ekstrak

Daun bungur yang masih segar dibersihkan dari kotoran dan dicuci dengan akuades, kemudian dikering-anginkan selama satu malam, kemudian dimasukkan dalam oven pada suhu 37^o-40^o C, selama 3 hari. Setelah kering, daun dipotong-potong kecil dan dihaluskan dengan blender. Proses ekstraksi dilakukan berdasarkan metode Liu *et al.* (2001) yang dimodifikasi. Bubuk daun bungur diekstrak dengan akuades mendidih selama 30 menit. Ekstraksi dilakukan dengan perbandingan 50 gram bubuk daun bungur dalam 1 liter akuades. Untuk mendapatkan ekstrak yang kering maka dilakukan pemekatan dengan *rotary evaporator*. Proses pemekatan ini dilakukan sampai diperoleh ekstrak lembek, kemudian dikeringkan dalam desikator. Ekstrak kering yang diperoleh kemudian digunakan untuk perlakuan.

Pembuatan larutan perlakuan

Ekstrak daun bungur dibuat larutan perlakuan dengan 3 variasi dosis menurut Mishra *et al.* (1990), yaitu 0,1 g/200 g BB, 0,2 g/200 g BB, dan 0,5 g/200 g BB. Larutan perlakuan dibuat dengan menggunakan larutan CMC 1% sebagai pelarut ekstrak. Larutan CMC 1% dibuat dengan melarutkan CMC 1 gram dalam akuades hingga mengembang dan dihaluskan sampai homogen. Setelah itu, ditambahkan akuades hingga volume total 100 ml. Dosis glibenclamid yang dianjurkan pada tikus putih adalah 0,126 mg/200 g BB (hasil perhitungan konversi dosis untuk manusia). Suspensi glibenclamid dibuat dengan melarutkan 0,126 mg dalam 1 ml larutan CMC 1%.

Perlakuan pada hewan percobaan

Hewan percobaan diadaptasikan terlebih dahulu selama tujuh hari untuk membiasakan dengan kondisi laboratorium dan persiapan terhadap

perlakuan selanjutnya. Perlakuan yang diberikan terhadap hewan uji terdiri atas kontrol, perlakuan alloksan, perlakuan ekstrak air daun bungur, serta perlakuan glibenclamid (Tabel 1.). Setiap kelompok perlakuan terdiri dari 3 ekor tikus.

Tabel 1. Kelompok perlakuan.

No.	Kel.	Perlakuan
1.	I	Kontrol ; non-alloksan
2.	II	non-perlakuan ekstrak
3.	III	alloksan/ ekstrak 0,1 g/200 g BB
4.	IV	diabetik ekstrak 0,2 g/200 g BB
5.	V	ekstrak 0,5 g/200 g BB
6.	VI	glibenclamid 0,126 mg/200 g BB

Perlakuan alloksan

Perlakuan dengan alloksan diberikan pada hewan uji untuk mendapatkan tikus diabetik. Dosis alloksan yang diberikan adalah 20 mg/200 gr BB tikus (Mishra *et al.*, 1990). Larutan alloksan monohidrat dilarutkan dalam akuades dan diberikan melalui subcutan dengan menggunakan alat suntik (*syringe*) sebanyak 0,5 ml. Akibat pemberian alloksan akan mulai terlihat setelah 48 jam.

Perlakuan ekstrak air daun bungur

Perlakuan dengan ekstrak air daun bungur dilakukan 3 hari setelah perlakuan alloksan. Sebelum perlakuan ekstrak, hewan uji dipuasakan selama 6 jam dengan tetap diberi air secara *ad libitum*. Selanjutnya, ekstrak daun bungur diberikan secara oral dengan menggunakan alat suntik yang ujung jarumnya telah dimodifikasi menjadi jarum kanul.

Perlakuan glibenclamid

Perlakuan glibenclamid diberikan sebagai pembanding efek penurunan kadar glukosa darah tikus oleh ekstrak air daun bungur. Pemberian glibenclamid dilakukan 3 hari setelah perlakuan alloksan. Suspensi glibenclamid diberikan per oral dengan jarum kanul sebanyak 1 ml.

Pengukuran aktivitas hipoglikemik dan hipolipidemik

Pada penelitian ini, parameter aktivitas hipoglikemik yang diambil adalah kadar glukosa darah, sedangkan parameter untuk hipolipidemik adalah kadar trigliserida dan kolesterol darah. Pengamatan glukosa, trigliserida, dan kolesterol darah dilakukan sebanyak 4 kali, yaitu jam ke-0 (sebelum perlakuan), jam ke-2, jam ke-4, dan jam ke-6 (setelah perlakuan).

Pengambilan sampel darah dilakukan dengan menggunakan kapiler mikrohematokrit melalui sinus orbitalis. Darah ditampung dalam tabung effendorf kemudian disentrifuge pada 5000 rpm selama 30 menit. Serum darah yang diperoleh, dianalisis kadar glukosa, kolesterol, dan trigliseridanya menggunakan teknik *enzimatic colorimetric-photometric test*, yaitu metode GOD-PAP untuk glukosa (DiaSys, 2000a), metode CHOD-PAP untuk kolesterol (DiaSys, 2000b), dan metode GPO untuk trigliserida (DiaSys, 2000c).

Analisis data

Aktivitas hipoglikemik dinyatakan dengan persentase penurunan kadar glukosa, sedangkan aktivitas hipolipidemik dinyatakan dengan persentase penurunan kadar kolesterol dan trigliserida. Data kadar glukosa, trigliserida, dan kolesterol dianalisis dengan menggunakan ANOVA (*Analysis of Variance*) dan dilanjutkan dengan uji DMRT (*Duncan's Multiple Range Test*) pada taraf signifikansi 5%. Data studi fitokimia dianalisis secara deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Terapi oral anti-diabetik (OAD) ditujukan untuk memperbaiki metabolisme tubuh penderita diabetes. Target minimal yang harus dicapai dalam terapi OAD adalah perbaikan metabolisme glukosa dengan penurunan kadar glukosa dalam darah. Namun, sekarang telah dikembangkan terapi yang lebih komprehensif, yang mampu memperbaiki metabolisme glukosa, sekaligus lemak dan badan keton (Tjokroprawiro, 2000).

Pemberian ekstrak air daun bungur (EADB) pada penelitian ini termasuk dalam pengembangan terapi OAD. Ekstrak tersebut diperoleh dari daun bungur yang kering. Daun bungur yang tua dipilih untuk mendapatkan kandungan senyawa yang relatif tinggi dibandingkan dengan daun muda. Waktu yang dibutuhkan untuk mengeringkan daun bungur kurang lebih 3 hari. Dalam proses pengeringan tersebut, berat daun akan turun sampai 90% dari berat awal. Pengurangan berat tersebut disebabkan kandungan air menguap dari dalam jaringan daun.

Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan air panas sebagai pelarut ekstrak, supaya kandungan fenol, terutama tanin dalam daun bungur dapat terekstrak. Senyawa tersebut memiliki sifat mudah larut dalam pelarut polar atau semi-polar. Suhu pelarut yang panas (di atas 90°C) dapat meningkatkan ekstraktibilitas senyawa yang terkandung dalam daun. Dari 500 gram daun bungur kering yang diekstrak akan diperoleh 25 gram EADB.

Pada penelitian ini tikus putih jantan strain Wistar (150–180 g) normal memiliki kadar glukosa darah 96,03 mg/dl; kolesterol 75,41 mg/dl; dan trigliserida 147,28 mg/dl. Untuk membuat diabetik digunakan larutan alloksan monohidrat (100 mg/kg BB). Alloksan mampu menyebabkan tikus normal menjadi hiperglikemia karena senyawa tersebut memiliki sifat sitotoksik spesifik pada sel beta pankreas. Dalam tubuh tikus, alloksan akan membangkitkan gugus radikal yang menyebabkan rusaknya sel beta. Molekul alloksan bereaksi dengan gugus -SH dan -tiol, terutama dalam reaksi oksidasi glutathione-peptida yang banyak sekali terdapat di dalam sel beta. Dalam reaksi tersebut akan dibebaskan senyawa peroksida, super-oksida, dan hidroksil radikal, yang semuanya bersifat sangat toksik (McLetchie, 2002).

Kerusakan sel beta akan diikuti dengan turunnya sekresi hormon insulin. Berkurangnya jumlah

insulin, menyebabkan reaksi glikogenesis dan transport glukosa ke dalam sel menjadi berkurang. Sebaliknya reaksi glikogenolisis menjadi tak terkendali, sehingga tikus menjadi hiperglikemia. Jadi, efek diabetogenik dari alloksan identik dengan penyakit IDDM (diabetes mellitus-tergantung insulin) atau DM-tipe 1 (Saravanan dan Pari, 2003). Pada penelitian ini, 72 jam setelah perlakuan alloksan, tikus menjadi diabetik dengan kadar glukosa darah rata-rata 156,92 mg/dl. Kondisi hiperglikemik tersebut, tergolong dalam diabetes ringan (*mild diabetes*). Selain itu, tikus juga mengalami kondisi hiperlipidemik dengan kadar trigliserida 152,42 mg/dl dan kolesterol 92,41 mg/dl. Pada kondisi tersebut, pemberian perlakuan EADB dan glibenclamid mulai dilakukan.

Aktivitas hipoglikemik

Aktivitas hipoglikemik suatu agen anti-diabetik dalam terapi OAD dinyatakan dalam bentuk penurunan kadar glukosa darah dalam jangka waktu tertentu. Rata-rata kadar glukosa tikus setelah perlakuan EADB dapat dilihat pada Tabel 2. Kadar glukosa darah tikus dihitung 4 kali pada interval waktu setiap 2 jam, dimulai dari jam ke-0 sampai jam ke-6. Hal ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui efek jangka pendek perlakuan terhadap kadar glukosa darah tikus. Informasi mengenai efek jangka pendek tersebut dapat digunakan untuk memperjelas mekanisme aktivitas hipoglikemik EADB.

Hasil perhitungan ANOVA dan DMRT 5% (Tabel 2.) menunjukkan bahwa, pada saat sebelum perlakuan (0 jam), kadar glukosa darah tikus normal (rata-rata 96,03 mg/dl) berbeda nyata ($p < 0,05$) dengan kelompok tikus diabetik (rata-rata 156,92 mg/dl). Sampai 6 jam setelah perlakuan, kadar glukosa darah kelompok tikus normal tetap berbeda nyata ($p > 0,05$) dengan kelompok tikus diabetik. Ini menunjukkan bahwa perlakuan EADB dan glibenclamid tidak mampu membuat kadar glukosa darah tikus diabetik menjadi normal dalam waktu 6 jam. Kemungkinan, jika perlakuan EADB dan glibenclamid diberikan lebih dari sekali, maka kadar glukosa darah tikus dapat menjadi normal,

seperti yang ditunjukkan oleh Mishra *et al.* (1990).

Perlakuan EADB dan glibenclamid mulai menunjukkan aktivitas hipoglikemik pada 2 jam sampai 6 jam setelah perlakuan. Seluruh kelompok perlakuan EADB (kecuali dosis 0,1 g/200 g BB) dan glibenclamid menunjukkan penurunan yang berbeda nyata ($p > 0,05$) dengan kelompok kontrol diabetik. Aktivitas hipoglikemik EADB tertinggi ditunjukkan pada dosis 0,5 g/200 g BB (20,43%). Pada dosis tersebut, EADB menunjukkan aktivitas hipoglikemik yang sama atau tidak berbeda nyata dengan kelompok perlakuan glibenclamid (20,88%). Perlakuan EADB dosis 0,1 g/200 g BB tidak menunjukkan aktivitas hipoglikemik (3,81%) yang berbeda nyata dibandingkan dengan kelompok kontrol diabetik (2,45%). Sedangkan perlakuan EADB dosis 0,2 g/200 g BB menunjukkan aktivitas hipoglikemik (7,87%) yang berbeda nyata ($p > 0,05$) dengan kontrol diabetik, namun masih lebih rendah dibandingkan dengan kelompok glibenclamid.

Kemampuan EADB dalam menurunkan kadar glukosa darah tikus diabetik berkaitan dengan aktivitas biologis senyawa yang terkandung di dalam daun bungur. Mishra *et al.* (1990) menyebutkan bahwa senyawa aktif yang dapat menurunkan kadar glukosa darah tikus kemungkinan ada tiga kelompok yaitu, alkaloid, saponin, atau flavonoid. Liu *et al.* (2001) berhasil menunjukkan secara *in vitro* bahwa senyawa aktif daun bungur mampu meningkatkan kecepatan transport glukosa, namun belum diketahui senyawanya. Hal ini kemudian dibuktikan oleh Hayashi *et al.* (2002) dengan mengisolasi senyawa aktif tersebut. Setelah diteliti, ternyata diketahui senyawa aktif dalam daun bungur tidak termasuk dalam ketiga kelompok senyawa di atas, namun masuk dalam kelompok polifenol, yaitu ellagitannin.

Ellagitannin tersebut, yaitu lagerstroemin, flosin B, dan reginin A memiliki sifat yang mirip dengan hormon insulin (*insulin-like compound*). Secara *in vitro*, tiga senyawa tersebut mampu meningkatkan aktivitas transport glukosa ke dalam sel adiposa. Kemampuan lagerstroemin dan flosin B hampir setengah kali kemampuan insulin dalam meningkatkan kecepatan transport glukosa. Bahkan, reginin A memiliki kemampuan yang hampir sama dengan insulin (Hayashi *et al.*, 2002).

Dari uraian tersebut, dapat diketahui bahwa aktivitas hipoglikemik EADB terjadi melalui peningkatan kecepatan transport glukosa. Peningkatan kecepatan transport tersebut terjadi melalui jalur yang sama dengan jalur kerja hormon insulin. Hal ini didasarkan pada penelitian yang menunjukkan bahwa kerja ellagitannin dari daun bungur ternyata dapat dihambat oleh senyawa wortmannin (Hayashi *et al.*, 2002). Wortmannin itu sendiri merupakan senyawa yang menutup jalur kerja hormon insulin. Wortmannin mampu menghambat aktivasi PI 3-kinase

Tabel 2. Kadar glukosa darah tikus pada waktu 0, 2, 4, dan 6 jam setelah perlakuan dan persentase penurunannya

Kelompok perlakuan	Kadar glukosa darah (mg/dl)				Persentase penurunan
	0 jam	2 jam	4 jam	6 jam	
Kontrol normal	96.03 ^a	94.05 ^a	92.26 ^a	90.48 ^a	5,76% ^{ab}
Kontrol diabetik	157.64 ^b	158.43 ^d	155.85 ^d	153.77 ^d	2,45% ^a
Glibenclamid	154.86 ^b	149.80 ^b	143.45 ^b	122.52 ^b	20,88% ^c
Ekstrak 0.1 g/200 g BB	156.15 ^b	153.37 ^c	152.78 ^{cd}	150.20 ^{cd}	3,81% ^a
Ekstrak 0.2 g/200 g BB	158.93 ^b	154.46 ^c	150.10 ^c	146.43 ^c	7,87% ^b
Ekstrak 0.5 g/200 g BB	157.04 ^b	149.51 ^b	140.48 ^b	124.90 ^b	20,43% ^c
Nilai p (ANOVA)	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

Keterangan: angka yang diikuti huruf superscript yang sama dalam satu kolom menunjukkan antar perlakuan tidak beda nyata ($p > 0,05$).

(*phosphatidylinositol 3-kinase*), yang merupakan salah satu tahapan dalam jalur kerja hormon insulin (Standaert *et al.*, 1996; Svitkin *et al.*, 1998). Mekanisme molekuler EADB dalam menurunkan kadar glukosa darah tikus diilustrasikan dalam Gambar 5.

Dalam sistem pencernaan, senyawa dalam EADB diserap dan masuk ke dalam sistem sirkulasi darah kemudian disebarkan ke seluruh jaringan tubuh. Setelah mencapai sel target, misalnya sel adiposa, senyawa aktif dalam EADB berikatan dengan protein IR (*insulin receptor*) yang merupakan reseptor spesifik untuk hormon insulin (Roith dan Zick, 2001). Ikatan tersebut menyebabkan autofosforilasi-aktivasi *Tyr kinase* yang terletak pada bagian intraseluler reseptor dan diikuti dengan fosforilasi *Tyr residue*. Reaksi tersebut menyebabkan aktivasi IRS (*insulin receptor substrate*), sehingga membangkitkan *docking site* dari molekul *SH2-containing protein*, yaitu protein subunit p85/p110 pada PI 3-kinase. Aktivasi ini dapat dihambat oleh wortmannin (Roith dan Zick, 2001; Standaert *et al.*, 1996). Dengan aktifnya *docking site* protein subunit p85/p110, maka molekul PI 3-kinase menjadi aktif dan menghasilkan PIP_3 (*phosphatidylinositol 3,4,5-phosphate*) (Roith dan Zick, 2001). PIP_3 berikatan dengan PH-domain (*plekstrin homology-domain*) dari PDK-1 (*PIP₃-dependent kinase-1*) dan Akt (*protein Ser/Thr kinase B*). Reaksi ini menyebabkan PDK-1 dan Akt menjadi aktif (Roith dan Zick, 2001). Aktifnya molekul Akt, menyebabkan translokasi protein

GLUT4. Protein inilah yang menjadi perantara dalam mekanisme tranport glukosa (Roith dan Zick, 2001; Bauman dan Saltiel, 2001; Standaert *et al.*, 1996).

Secara umum, terapi OAD (baik tradisional maupun modern) memiliki mekanisme aktivitas hipoglikemik EADB, sebagai berikut:

Meningkatkan glikogenesis. Tanaman anti-diabetik yang dapat meningkatkan glikogenesis adalah *Momordica charantia* (McWhorter, 2001). Dari uraian mekanisme molekuler senyawa aktif EADB sebelumnya (Gambar 5), dapat diperkirakan bahwa EADB juga meningkatkan glikogenesis melalui aktivasi enzim glikogen sintesis. Aktivasi protein Akt oleh senyawa aktif EADB (Gambar 5) tidak hanya menimbulkan efek molekuler translokasi protein GLUT4 saja, tetapi juga menyebabkan fosforilasi molekul GSK-3 (*glycogen synthase kinase-3*), sehingga enzim glikogen sintase menjadi aktif (Roith dan Zick, 2001). Dengan aktifnya glikogen sintase, maka proses glikogenesis dapat berlangsung. Untuk membuktikan mekanisme ini, perlu dilakukan penelitian yang mengukur aktivitas enzim glikogen sintase setelah perlakuan EADB. Kemungkinan mekanisme ini juga didasarkan pada penelitian Hosoyama *et al.* (2003) yang menunjukkan bahwa di dalam daun bungur terdapat senyawa yang dapat menghambat aktivitas enzim α -amilase. Pemecahan glikogen (glikogenolisis) membutuhkan kelompok enzim amilo- α -glukosidase, yang tergolong dalam kelompok α -amilase. Penghambatan enzim tersebut dapat menghambat reaksi glikogenolisis (McKee dan McKee, 1999).

Menghambat aktivitas enzim aldose reduktase.

Kandungan asam elagat dalam tanaman anti-diabetik, *Phyllanthus niruri*, dapat menghambat aktivitas enzim aldose reduktase (Shimizu *et al.*, 1989; Taylor, 2003). Enzim ini berperan dalam metabolisme glukosa jalur poliol (pembentukan sorbitol dan fruktosa dari glukosa). Pada DM jalur ini mengalami kecenderungan menuju ke reaksi pembentukan glukosa. Untuk itu, enzim aldose reduktase harus dihambat (Trueblood dan Ramsay, 1998). Terdapat kemungkinan EADB memiliki mekanisme yang sama. Hal ini didasarkan atas kandungan senyawa yang sama, yaitu asam elagat, yang dapat dihasilkan dari hidrolisis ellagitannin dalam daun bungur (Gross, 1992).

Merangsang sekresi hormon insulin oleh sel beta.

Beberapa tanaman obat memiliki mekanisme aktivitas hipoglikemik dengan merangsang sekresi hormon insulin oleh sel beta pankreas, contohnya ragi *Saccharomyces sp* (Edens *et al.*, 2001), *Phelinus linteus* (Kim *et al.*, 2001), *Allium sativum* (Zhang *et al.*, 2001a), *Gymnema sylvestra*, *Panax ginseng*, dan *Eleutherococcus senticosus* (McWhorter, 2001). Namun bukti yang jelas mengenai mekanisme tersebut pada EADB belum

Gambar 5. Mekanisme molekuler senyawa aktif daun bungur dalam meningkatkan transport glukosa (Roith dan Zick, 2001; Bauman dan Saltiel, 2001; Standaert *et al.*, 1996).

ada. Meski demikian, tidak tertutup kemungkinan EADB mampu merangsang sel beta untuk meningkatkan sekresi hormon insulin. Untuk membuktikan mekanisme tersebut, perlu dilakukan pengamatan mikroskopis sel beta pankreas dan pengukuran kadar hormon insulin pada interval waktu tertentu, setelah perlakuan EADB.

Meningkatkan afinitas hormon insulin terhadap reseptornya. *Ciglitazon* adalah OAD yang mampu meningkatkan afinitas dan sensitivitas hormon insulin terhadap reseptornya (Tjokroprawiro, 2000). Mengenai mekanisme ini, Liu *et al.* (2001) membuktikan dengan mengkombinasikan perlakuan ekstrak daun bungur dengan hormon insulin. Hasil penelitiannya menunjukkan bahwa ada ataupun tidak ada hormon insulin, ekstrak daun bungur tetap mampu meningkatkan kecepatan transport glukosa. Ini menunjukkan bahwa tidak ada hubungan yang sinergis ataupun antagonis antara hormon insulin dengan ekstrak daun bungur. Padahal, jika dugaan ekstrak daun bungur memiliki mekanisme yang sama dengan *Ciglitazon*, maka seharusnya perlakuan kombinasi hormon insulin dengan ekstrak daun bungur memberikan hasil yang positif dan perlakuan ekstrak daun bungur saja memberikan hasil yang negatif. Hasil yang tidak sesuai dengan dugaan tersebut, menunjukkan bahwa ekstrak daun bungur tidak memiliki aktivitas hipoglikemik dengan meningkatkan afinitas dan jumlah reseptor hormon insulin.

Meningkatkan ekspresi gen PPAR γ . Gen PPAR γ (*peroxisome proliferator-activated receptor- γ*) adalah faktor gen yang mengatur ekspresi protein transporter GLUT4 dan merangsang adipogenesis. Ekspresi gen ini dapat ditingkatkan oleh obat anti-diabetik *thiazolidinediones* (TZD). Efek hipoglikemik TZD merupakan efek jangka panjang (munculnya lambat) (Liu *et al.* 2001). Berbeda dengan efek hipoglikemik EADB, yang dalam penelitian ini menunjukkan efek jangka pendek perlakuan, muncul 2 jam setelah perlakuan. EADB, justru menghambat ekspresi PPAR γ , ditunjukkan dengan proses adipogenesis yang terhambat. Dengan fakta ini, diperkirakan bahwa EADB tidak memiliki mekanisme hipoglikemik dengan melalui ekspresi gen PPAR γ .

Meningkatkan aktivitas enzim heksokinase. *Cassia auriculata* adalah tanaman obat anti-diabetik yang dapat meningkatkan aktivitas enzim heksokinase. Enzim ini berperan dalam penggunaan glukosa (*glucose utilization*), dengan mengubah glukosa menjadi glukosa-fosfat dalam proses glikogenesis (McKee dan McKee, 1999). Mekanisme ini belum dibuktikan pada EADB, sehingga perlu penelitian yang mengukur kadar enzim heksokinase setelah perlakuan EADB.

Aktivitas hipolipidemic

Aktivitas hipolipidemic merupakan proses penurunan kadar lemak dalam darah. Parameter yang digunakan untuk mengukur aktivitas tersebut adalah penurunan kadar kolesterol total dan trigliserida dalam darah. Pengaruh pemberian glibenclamid dan EADB terhadap kadar kolesterol

dan trigliserida darah tikus diabetik dapat dilihat pada Tabel 3. dan 4.

Hasil perhitungan ANOVA dan DMRT 5% pada Tabel 2. di atas menunjukkan bahwa tikus diabetik memiliki kadar kolesterol total yang lebih tinggi daripada tikus normal. Kondisi diabetik dapat menyebabkan ketidakseimbangan metabolisme lemak. Aktivitas lipolisis yang tinggi akan menghasilkan asam lemak yang tinggi pula. Proses glukoneogenesis yang meningkat sebagai respon terhadap kondisi sel yang kekurangan energi menyebabkan akumulasi badan keton dalam darah. Kandungan asam lemak dan badan keton yang meningkat dapat merangsang sintesis kolesterol. Hormon insulin yang mengalami penurunan fungsi menyebabkan aktivitas enzim lipoprotein lipase juga menurun. Akibatnya, pemecahan lipoprotein darah juga menurun. Padahal kolesterol dan trigliserida disirkulasikan darah dalam bentuk lipoprotein. Itulah sebabnya, kandungan lipoprotein yang tinggi pada penderita DM selalu diikuti dengan naiknya kadar kolesterol dan trigliserida (Tabel 4.).

Hasil perhitungan ANOVA dan DMRT 5% (Tabel 4.) menunjukkan bahwa pada saat sebelum perlakuan (0 jam) trigliserida darah tikus diabetik mengalami peningkatan dan berbeda nyata ($p>0,05$) jika dibandingkan dengan tikus normal. Hal ini menunjukkan bahwa kondisi diabetik atau hiperglikemik memicu abnormalitas metabolisme lemak, yang ditunjukkan dengan kondisi hipertrigliseridemia. Pada kondisi diabetik, aktivitas mobilisasi lemak dan lipolisis dalam tubuh meningkat. Kadar gliserol hasil lipolisis yang meningkat, akan merangsang sintesis trigliserida. Cadangan lemak di jaringan adiposa harus dikeluarkan dan disebarkan ke seluruh jaringan melalui sistem peredaran darah. Akibatnya, selain kolesterol, kadar trigliserida dalam darah pun juga mengalami peningkatan.

Aktivitas hipolipidemic EADB untuk kolesterol tertinggi ditunjukkan pada dosis 0,5 g/200 g BB (Tabel 3.). Pada dosis tersebut, kadar kolesterol darah dapat turun sampai 18,98%, sedangkan trigliserida turun 10,30% (Tabel 4.). Variasi dosis EADB ternyata tidak memberikan perbedaan aktivitas hipolipidemic yang berbeda nyata pada kadar trigliserida darah. Ini dapat dilihat pada persentase penurunan kadar trigliserida pada masing-masing dosis yang ternyata masih dalam satu *range*.

Perlakuan glibenclamid tidak menunjukkan adanya aktivitas hipolipidemic yang berbeda nyata jika dibandingkan dengan kelompok kontrol diabetik dan kontrol normal. Hal ini sesuai dengan karakteristik efek metabolik glibenclamid yang bersifat tidak mempengaruhi metabolisme lemak penderita DM. Tjokroprawiro (2000) menyebutkan bahwa terapi OAD golongan sulfonilurea, termasuk glibenclamid, tidak memberikan perbaikan pada metabolisme lemak.

Mekanisme kerja EADB dalam menurunkan kadar lemak, secara detail (seperti pada aktivitas hipoglikemik), belum diketahui dan penelitian yang khusus mengkaji mengenai hal tersebut belum

Tabel 3. Kadar kolesterol darah tikus pada waktu 0, 2, 4, dan 6 jam setelah perlakuan dan persentase penurunannya.

Kelompok perlakuan	Kadar kolesterol (mg/dl)				Persentase penurunan
	0 jam	2 jam	4 jam	6 jam	
Kontrol normal	75.41 ^a	73.39 ^a	72.77 ^a	73.23 ^a	2,90% ^a
Kontrol diabetik	95.04 ^c	94.28 ^d	92.78 ^e	92.53 ^c	2,64% ^a
Glibenclamid	91,63 ^b	89,43 ^c	86,56 ^d	86,25 ^b	5,87% ^a
Ekstrak 0.1 g/200 g BB	91.93 ^b	83.85 ^b	81.25 ^c	80.47 ^b	12,45% ^b
Ekstrak 0.2 g/200 g BB	91.30 ^b	83.09 ^b	77.98 ^b	76.09 ^a	16,64% ^{bc}
Ekstrak 0.5 g/200 g BB	92.14 ^b	82.16 ^b	76.88 ^b	74.65 ^a	18,98% ^c
Nilai p (ANOVA)	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

Keterangan: angka yang diikuti huruf *superscript* yang sama dalam satu kolom menunjukkan antar perlakuan tidak beda nyata ($p>0,05$).

Tabel 4. Kadar trigliserida darah tikus pada waktu 0, 2, 4, dan 6 jam setelah perlakuan dan persentase penurunannya.

Kelompok perlakuan	Kadar trigliserida (mg/dl)				Persentase penurunan
	0 jam	2 jam	4 jam	6 jam	
Kontrol normal	147.28 ^a	146.47 ^{bc}	144.48 ^b	143.79 ^b	2,36% ^a
Kontrol diabetik	156.50 ^c	154.02 ^d	150.57 ^c	148.02 ^c	5,39% ^b
Glibenclamid	152.16 ^b	149.80 ^c	146.91 ^{bc}	144.47 ^b	5,05% ^{ab}
Ekstrak 0.1 g/200 g BB	151.05 ^b	141.64 ^a	138.69 ^a	134.89 ^a	10,68% ^c
Ekstrak 0.2 g/200 g BB	151.02 ^b	142.69 ^{ab}	138.24 ^a	136.45 ^a	9,64% ^c
Ekstrak 0.5 g/200 g BB	151.38 ^b	141.91 ^a	139.47 ^a	135.79 ^a	10,30% ^c
Nilai p (ANOVA)	0.003	0.000	0.000	0.000	0.000

Keterangan: angka yang diikuti huruf *superscript* yang sama dalam satu kolom menunjukkan antar perlakuan tidak beda nyata ($p>0,05$).

pernah dilakukan. Namun diperkirakan bahwa mekanisme molekuler aktivitas hipolipidemik EADB mengikuti jalur kerja hormon insulin. Perkiraan tersebut didasarkan atas uraian mekanisme molekuler pada mekanisme peningkatan transport glukosa (Gambar 5). Selain berpengaruh pada metabolisme glukosa, aktivasi protein Akt oleh EADB memiliki efek metabolik lain, yaitu pada metabolisme lemak (Roith dan Zick, 2001; Wang dan Sul, 1998). Liu *et al.* (2001) menunjukkan bahwa, ekstrak daun bungur mampu menghambat ekspresi gen PPAR γ . Gen ini bertanggungjawab pada stimulasi adipogenesis dan biosintesis lemak di dalam sel adiposa (Kersten, 2001). Penghambatan ekspresi gen tersebut secara langsung dapat menurunkan kadar lemak dalam darah dan menghambat diferensiasi jaringan adiposa.

Beberapa kemungkinan mekanisme molekuler yang perlu dibuktikan melalui penelitian lanjut adalah sebagai berikut:

Pengaktifan enzim lipoprotein-lipase. Pada kondisi diabetik, aktivitas enzim lipoprotein lipase (enzim pemecah lipoprotein) sehingga kadar lipoprotein dalam darah meningkat (Hadley, 2000). Dengan pengaktifan kembali enzim tersebut, maka aktivitas pemecahan lipoprotein meningkat dan akan terjadi penurunan kadar lipoprotein.

Pengaturan kondisi redoks sel dengan NADPH. Biosintesis lemak membutuhkan sejumlah besar molekul NADPH. Sebagian besar molekul NADPH untuk biosintesis tersebut diperoleh dari jalur pentosa fosfat. Enzim yang berperan adalah glukosa-6-fosfat dehidrogenase (GPDH). Sebagian kecil NADPH juga dihasilkan dari metabolisme sitrat yang dikatalisis oleh enzim malat (*malic enzyme*) (McKee dan McKee, 1999). Peningkatan aktivitas dua enzim tersebut dapat menciptakan kesetimbangan redoks sel yang mendukung pada reaksi penggunaan lemak (*lipid utilization*) sehingga dapat mengembalikan metabolisme lemak pada kondisi normal. Contoh ramuan anti-diabetik tradisional yang mempunyai mekanisme seperti ini adalah Cogent db, dari India (Saravanan dan Pari, 2003). Ramuan anti-diabetik, ekstrak bunga *Cassia auriculata*, juga dapat mengatur kondisi redoks sel, namun melalui enzim glukosa-6-fosfatase.

Peningkatan ekspresi gen SREBP 1c di hati. Homeostasis lemak sangat dipengaruhi oleh ekspresi gen SREBP 1c (*sterol-regulatory-element binding protein 1c*) di hati. Gen ini bertanggungjawab dalam mengatur aktivitas enzim-enzim yang berperan dalam metabolisme lemak (Ferre *et al.*, 2001). Ekspresi gen ini dimediasi oleh reseptor LXRs (*Liver x receptors*) (Tobin *et al.*, 2002). Jika senyawa aktif EADB dapat membentuk kompleks dengan reseptor LXR, maka dapat dipastikan ekspresi gen SREBP 1c dapat diaktifkan. Namun, kemungkinan mekanisme ini belum dibuktikan.

Penghambatan biosintesis kolesterol. Biosintesis kolesterol terjadi melalui tiga tahapan utama yaitu pembentukan HMG-CoA (hydroxymethylglutaryl-CoA) dari asetil-CoA, konversi HMG-CoA menjadi skualene, dan pembentukan kolesterol dari skualene (McKee dan McKee, 1999). Biosintesis kolesterol dapat dihambat dengan menurunkan aktivitas enzim-enzim yang berperan dalam tiga tahapan biosintesis tersebut. Beberapa senyawa organo-sulfur dalam umbi bawang putih dapat menurunkan aktivitas enzim-enzim dalam biosintesis kolesterol (Pizzorno dan Murray, 2000; Gupta dan Porter, 2001).

KESIMPULAN

Ekstrak air daun bungur menunjukkan aktivitas hipoglikemik pada dosis 0,2 g/200 g BB dan 0,5 g/200 g BB. Pada dosis 0,5 g/200 g BB, EADB menunjukkan aktivitas hipoglikemik yang tidak berbeda nyata dengan kelompok perlakuan glibenclamid. Aktivitas hipoglikemik tersebut terjadi melalui mekanisme yang mengikuti jalur kerja hormon insulin. Ekstrak air daun bungur menunjukkan aktivitas hipolipidemik pada semua dosis perlakuan yaitu, 0,1 g/200 g BB; 0,2 g/200 g BB dan 0,5 g/200 g BB. Semua dosis perlakuan EADB menunjukkan aktivitas hipolipidemik yang lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan glibenclamid. Aktivitas hipolipidemik tersebut diperkirakan terjadi melalui mekanisme yang mengikuti jalur kerja hormon insulin. Ekstrak air daun bungur memiliki kandungan fenol total 0,0255%; ellagitanin 0,011%; gallotanin 0,0199%; dan tanin-terkondensasi 0,0167% berat ekstrak.

DAFTAR PUSTAKA

- Baumann, C.A and A.R. Saltiel. 2001. Spatial compartmentalization of signal transduction in insulin action. *BioEssays* 23: 215-222.
- Budhi, M. 1994. Tahap-tahap pengembangan obat tradisional. *Majalah Kedokteran Udayana* 5: 107-113.
- Dewi, A.D., Marsono, dan Z. Noor. 2001. Efek hipoglikemik diet protein kedelai dan asam fitat pada tikus diabetes. *AGROSAINS* 14 (1): 111-120.
- DiaSys. 2000a. *Diagnostic Reagent for Qantitative In Vitro Determination of Glucose in Serum or Plasma on Photometric System*. Holzhelm: DiaSys Diagnostic Systems GmbH & Co. KG. Jerman.
- DiaSys. 2000b. *Diagnostic Reagent for Qantitative In Vitro Determination of Cholesterol in Serum or Plasma on Photometric System*. Holzhelm: DiaSys Diagnostic Systems GmbH & Co. KG. Jerman.
- DiaSys. 2000c. *Diagnostic Reagent for Qantitative In Vitro Determination of Triglycerides in Serum or Plasma on Photometric System*. Holzhelm: DiaSys Diagnostic Systems GmbH & Co. KG. Jerman.
- Edens, N.K., L.A. Reaves, M.S. Bergana, I.L. Reyzer, P. O'Mara, J.H. Baxter, and M.K. Snowden. 2001. Yeast extract stimulates glucose metabolism and inhibits lipolysis in rat adipocytes in vitro. *Journal of Nutrition* 132: 1141-1148.
- Ferre, P., M. Foretz, D. Azzout-Marniche, D. Becard, and P. Foufelle. 2001. Sterol-regulatory-element-binding protein 1c mediates insulin action on hepatic gene expression. *Biochemical Society Transactions*. 29 (4): 547-552.
- Gross, G.G. 1992. Enzymes in the biosynthesis of hydrolyzable tannins. In Hemingway, R.W. dan P.E. Laks (eds.). *Plant Polyphenols: Synthesis, Properties, and Significance*. New York: Plenum Press.
- Gupta, N. and T.D. Porter. 2001. Garlic and garlic-derived compounds inhibit human squalene monooxygenase. *Journal of Nutrition* 13: 1662-1667.
- Hadley, M.I., 2000. *Endocrinology*. Edisi ke-5. USA: Prentice Hall International, Inc.
- Hayashi, T., H. Maruyama, R. Kasai, K. Hattori, S. Takasuga, O. Hazeki, K. Yamasaki, and T. Tanaka. 2002. Ellagitanins from *Lagerstroemia speciosa* as activators of glucose transport in fat cells. *Planta Medica* 68: 173-175.
- Hosoyama, H., A. Sugimoto, Y. Suzuki, I. Sakane, and T. Kakuda. 2003. Isolation and quantitative analysis of the α -amylase inhibitor in *Lagerstroemia speciosa* (L.). Pers. (Banaba). *Yakugaku Zasshi* 123 (7): 599-605.
- Kahn, B.B. and J.S. Flier. 2000. Obesity and insulin resistance. *The Journal of Clinical Investigation* 106 (4): 473-481.
- Kakuda, T., I. Sakane, T. Takihara, Y. Ozaki, H. Takeuchi, and M. Kuroyanagi. 1996. Hypoglycemic effect of extracts from *Lagerstroemia speciosa* L. leaves in genetically diabetic KK-Ay mice. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* 60 (2): 204-208.
- Kersten, S. 2001. Mechanism of nutritional and hormonal regulation of lipogenesis: review. *EMBO Reports* 2 (4): 282-286.
- Khan, M.T.H., L. Lampronti, D. Martello, N. Bianchi, S. Jabbar, M.S.K. Choudhuri, B.K. Datta, and R. Gambhari. 2002. Identification of pyrogallol as an antiproliferative compound present in extracts from the medicinal plant *Emblica medicinalis*: effect on in-vitro cell growth of human tumor cell lines. *International Journal of Oncology* 20: 187-192.
- Lee, K.H., H.K. Wang, H. Itokawa, and S.L. Morris-Natschke. 2000. Current perspectives on chinese medicines and dietary supplements in China, Japan and the United States. *Journal of Food and Drug Analysis* 8 (4): 219-228.
- Liu, F., J. Kim, Y. Li, X. Liu, J. Li, and X. Chen. 2001. An extracts of *Lagerstroemia speciosa* L. has insulin-like glucose uptake-stimulatory and adipocyte differentiation-inhibitory activities in 3T3-L1 cells. *Journal of Nutrition* 131: 2242-2247.
- Maher, J.T. 2000. Alpha-lipoic acid and co-Q10 in diabetes mellitus. *Natural Healing Track*. Juli: 2-7.
- Marieb, E.N. 1997. *Human Anatomy and Physiology*. Edisi ke-4. USA: Benjamin/Cummings Science Publishing.
- McKee, T. and J.R. McKee. 1999. *Biochemistry: An Introduction*. 2nd ed. USA: The McGraw-Hill Companies, Inc.
- McLetchie, N.G.B. 2002. Alloxan diabetes: a discovery, albeit a minor one. *Journal of Review Coll and Physicians Edinburgh* 32: 134-142.
- McWhorter, L.S. 2001. Biological complementary therapies: a focus on botanical products in diabetes. *Diabetes Spectrum* 14 (4): 199-208.
- Mishra, Y., M.S.Y. Khan, R. Zafar, and S.S. Agarwal. 1990. Hypoglycaemic activity of leaves of *Lagerstroemia speciosa* L. Pers. *Indian Journal of Pharmacology* 22: 174-176.
- Pizzorno, J.E. and M.T. Murray. 2000. *A Textbook of Natural Medicine: Allium sativum*. Edisi ke-2. Washington: Bastyr University.
- Roith, D. L. and Y. Zick. 2001. Recent advances in our understanding of insulin action and insulin resistance. *Diabetes Care* 24 (3): 588-596.
- Saravanan, G. and L. Pari. 2003. Effect of cogent db, a herbal drug, on serum and tissue lipid metabolism in experimental hyperglycaemic rats. *Diabetes, Obesity and Metabolism* 5: 156-162.
- Shimizu, M., S. Horie, S. Terashima, H. Ueno, T. Hayashi, S. Suzuki, M. Yoshizaki, and N. Morita. 1989. Studies on aldose reductase inhibitors from natural products. II. Active components of a Paraguayan crude drug "parai-parai", *Phyllanthus niruri*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 37 (9): 2531-2532.
- Standaert, M.L., A. Avignon, K. Yamada, G. Bandyopadhyay, and R.V. Farese. 1996. The phosphatidylinositol 3-kinase inhibitor, wortmannin, inhibits insulin induced activation of phosphatidylcholine hydrolysis

- and associated protein kinase C translocation in rat adipocytes. *Biochemical Journal* 313: 1039-1046.
- Svitkin, Y.V., H. Hahn, A. C. Gingras, A.C. Palmenberg, and N. Sonenberg. 1998. Rapamycin and wortmannin enhance replication of a defective encephalomyocarditis virus. *Journal of Virology* 72 (7): 5811-5819.
- Taylor, L. 2003. *Herbal Secrets of the Rainforest*. Edisi ke-2. Austin: Sage Press, Inc.
- Tjokroprawiro, A. 2000. *Diabetes Mellitus: Klasifikasi, Diagnosis, dan Terapi*. Edisi ke-3. Jakarta: PT. Gramedia Pustaka Utama.
- Tobin, K.A.R., S.M. Ulven, G.U. Schuster, H.H. Steineger, S.M. Andressen, J.A. Gustafsson, and H.I. Nebb. 2002. Liver X receptors as insulin-mediating factors in fatty acid and cholesterol biosynthesis. *The Journal Biological Chemistry* 277 (12): 10691-10697.
- Trueblood, N. and R. Ramasamy. 1998. Aldose reductase inhibition improves altered glucose metabolism of isolated diabetic rat hearts. *American Physiological Society* 175-183.
- Wang, D. and H.S. Sul. 1998. Insulin stimulation of the fatty acid synthase promoter is mediated by the phosphatidylinositol 3-kinase pathway. *The Journal of Biological Chemistry* 273 (39): 25420-25426.
- Zhang, X.H., D. Lowe, P. Giles, S. Fell, M. J. Connock, and D. J. Maslin. 2001a. Gender may affect the action of garlic oil on plasma cholesterol and glucose levels of normal subjects. *Journal of Nutrition* 131: 1471-1478.