

pISSN 1978-2071
 eISSN 2580-5967
 Jurnal Ilmiah Kedokteran
 Wijaya Kusuma (JIKW)
 Volume 11, No. 1 Maret 2022

AUTHORS' AFFILIATIONS

Fakultas Kedokteran Universitas
 Wijaya Kusuma Surabaya

CORRESPONDING AUTHOR

Harry Kurniawan Gondo
 Fakultas Kedokteran Universitas
 Wijaya Kusuma Surabaya

E-mail:

gondo.hk@gmail.com

Pengaruh Serbuk Daun Kelor (*Moringa oleifera*) terhadap Apoptosis Sel Hepar pada Tikus Bunting Diabetes Mellitus

Harry Kurniawan Gondo

Abstrak

Di Indonesia, angka kematian ibu masih tinggi. Diabetes mellitus selama kehamilan adalah salah satu penyebabnya. Ada beberapa metode terapi yang digunakan, salah satunya adalah penggunaan tanaman, dalam hal ini serbuk daun kelor (*Moringa oleifera*). Tujuan dari penelitian ini adalah untuk melihat bagaimana serbuk daun kelor mempengaruhi bunting tikus putih dengan diabetes gestasional. Desain penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah Control Group Post Test Design, yang dilakukan di laboratorium dengan hewan percobaan tikus putih. Sampel dibagi menjadi dua kelompok: kontrol positif dan negatif, serta empat kelompok terapi serbuk daun kelor dengan dosis aloksan yang bervariasi, dan gambaran histologis hepar dianalisis. Kadar glukosa darah tikus putih meningkat lebih banyak setelah induksi aloksan, yang dihasilkan oleh cedera sel beta pankreas pada tikus. Antara empat kelompok perlakuan dan kelompok kontrol tikus putih, ada perbedaan substansial dalam jumlah sel hepar yang terjadi secara apoptotik. Dalam keempat kelompok perawatan tikus putih, ada variasi substansial dalam jumlah sel hepar yang terjadi secara apoptotik. Dengan penambahan serbuk daun kelor, jumlah rata-rata sel hepar yang mengalami apoptosis berkurang. Pada tikus putih dengan diabetes mellitus, suplementasi oral bubuk daun kelor meningkatkan penampilan histologis hepar, dengan warna coklat berkurang dan methocils hijau ditingkatkan. Selain itu, kadar glukosa darah tikus berkurang.

Kata kunci: Diabetes Gestasional, Aloksan, Apoptosis, *Moringa oleifera*, Histopatologi Hepar

Original Research Article

Effect of Moringa Leaf Powder (*Moringa oleifera*) on Liver Cell Apoptosis in Pregnant Rats with Diabetes Mellitus

Abstract

*In Indonesia, maternal mortality is still high. Diabetes mellitus during pregnancy is one of the causes. There are several therapeutic methods used, one of which is the use of plants, in this case moringa leaf powder (*Moringa oleifera*). The goal of the study was to see how Moringa leaf powder*

affected the bunting of white mice with gestational diabetes. The research design used in the study was Control Group Post Test Design, which was conducted in a laboratory with white mouse experimental animals. The samples were divided into two groups: positive and negative control, as well as four groups of moringa leaf powder therapy with varying doses of aloksan, and hepar histological picture analyzed. The blood glucose levels of white mice increased more after the induction of the aloksan, which was produced by pancreatic beta cell injury in mice. Between the four treatment groups and the white mouse control group, there was a substantial difference in the number of hepar cells that occurred

apoptotically. In all four treatment groups of white mice, there was a substantial variation in the number of hepar cells that occurred apoptotically. With the addition of Moringa leaf powder, the average number of hepar cells undergoing apoptosis is reduced. In white mice with diabetes mellitus, oral supplementation of Moringa leaf

powder improved the histological appearance of hepar, with a reduced brown color and improved green methocils. In addition, the blood glucose levels of mice were reduced.

Keywords: *Gestasional Diabetes, Alloxan, Apoptosis, Moringa oleifera, Liver Histopatologi*

PENDAHULUAN

Salah satu penyakit tidak menular yang paling sering adalah diabetes mellitus. Di sebagian besar negara berpenghasilan tinggi, diabetes mellitus tipe 2 adalah penyebab utama kematian keempat, dan merupakan epidemi di banyak negara berkembang. Diabetes adalah salah satu masalah kesehatan yang paling sulit dari abad ke-21. Diabetes mempengaruhi sekitar 382 juta orang di seluruh dunia, atau 8,3 persen orang dewasa. Jika tren saat ini terus berlanjut, diabetes akan mempengaruhi sekitar 592 juta orang, atau satu dari setiap sepuluh orang dewasa, pada tahun 2035. Ini berhasil untuk hampir tiga kasus baru setiap sepuluh detik, atau lebih dari sepuluh juta setiap tahun. Penurunan toleransi glukosa diproyeksikan mempengaruhi 316 juta orang di seluruh dunia, atau 6,9% orang dewasa (IGT). Gangguan toleransi glukosa (IGT) diperkirakan akan mencapai 471 juta orang pada tahun 2035, terhitung 8,0 persen dari populasi orang dewasa (International Diabetes Foundation, 2013). Organisasi Kesehatan Dunia (WHO) telah mengeluarkan peringatan bahwa jumlah penderita diabetes dengan cepat meningkat. Shaw dkk., Shaw dkk., Shaw dkk (2010). Diabetes diperkirakan akan mempengaruhi 6,4 persen (285 juta) orang berusia 20 hingga 79 tahun pada tahun 2010, dan diperkirakan akan meningkat menjadi 7,7 persen (439 juta) pada tahun 2030. Jumlah ini akan meningkat menjadi 300 juta pada tahun 2025, dengan lebih dari 150 juta di Asia.

Timbulnya berbagai bentuk diabetes dipengaruhi oleh berbagai faktor, termasuk resistensi insulin dan kelainan metabolisme. Berbagai jenis diabetes tampaknya memiliki patofisiologi dan disregulasi patofisiologis yang sama dalam bentuk peningkatan kerusakan sel pankreas, yang ditampilkan secara klinis sebagai hipoglikemia, menurut penelitian. Gestational diabetes dapat menjadi gejala awal diabetes tipe 2 yang berkembang sebagai akibat dari stres

selama kehamilan. Namun, mekanisme spesifik GDM tetap menjadi misteri. Obesitas, yang merupakan faktor risiko utama untuk diabetes, kemungkinan besar harus disalahkan. Jika dibandingkan dengan wanita hamil yang sehat, wanita dengan diabetes mellitus gestasional (GDM) memiliki massa tubuh yang lebih besar, dan obesitas dapat menyebabkan peradangan. Peradangan kronis memicu produksi asam xantheurenic, yang telah dikaitkan dengan perkembangan diabetes tipe 2, pra-diabetes, dan diabetes gestasional. Hyperglycemia meningkatkan pemecahan nukleotida dan meningkatkan konsentrasi produk degradasi nukleotida, seperti molekul superoksida dan asam urat, dengan mempercepat sintesis purin. (Law, 2017).

Apoptosis adalah jenis kematian sel terprogram yang terjadi ketika program bunuh diri intrinsik sel diaktifkan. Homeostasis sel dan remodeling jaringan membutuhkan apoptosis, atau kematian sel terprogram, terutama ekspansi plasenta. Deskripsi sel, kondensasi kromatin dan fragmentasi, pembentukan blister dalam sel, dan fragmentasi makrofag menjadi objek apoptosis dan fagosit adalah bagian dari gambaran morfologis apoptosis. (Fetomaternal & Ginekologi, 2009)

Beberapa pendekatan untuk pemulihan diambil, termasuk terapi medis, perubahan pola makan, dan gaya hidup sehat yang mencakup olahraga teratur atau penggunaan tanaman sebagai obat. Orang-orang di Indonesia dan negara-negara lain telah lama memahami bahwa tanaman dapat digunakan sebagai obat. Tanaman kelor adalah spesies tanaman yang secara tradisional digunakan sebagai obat tradisional untuk menurunkan kadar glukosa darah. Daun kelor (*Moringa olifera*) mengandung 46 antioksidan yang dapat memblokir atau menghilangkan rantai peroksida dalam tubuh (Jaiswal et al, 2009). Penelitian sebelumnya telah menunjukkan bahwa memberi makan bubuk daun

kelor dengan dosis 150 mg / kg BB dan 300 mg / kg BB akan mengurangi kadar glukosa darah (Aini *et al*, 2016). Akibatnya, penelitian lebih lanjut diperlukan untuk menemukan bagaimana bubuk daun kelor dapat mencegah apoptosis dan meningkatkan struktur histopatologis hati.

METODE PENELITIAN

Ini adalah percobaan di mana tikus putih diberi aloksan selama 18 hari saat dalam kondisi diabetes buatan. Karena hewan percobaan, bahan ransum, situs eksperimental, dan bahan penelitian lainnya homogen, metode Complete Random Design (RAL) digunakan untuk mengelompokkan dan merawat objek studi. Strategi yang digunakan dalam penelitian ini untuk mengembangkan masing-masing perawatan yang digunakan oleh peneliti sebelumnya Krisnawati, (2013). Studi ini menggunakan model tikus dengan obesitas dan diabetes mellitus yang disebabkan oleh induksi aloksan. Untuk mencapai pertanian tikus homogen, sebanyak 30 tikus putih betina diobati dengan efek Leeboth, Feromon, dan Whitten untuk menyinkronkan estrus mereka. Untuk meningkatkan keberhasilan kebun dan memperoleh tikus bunting pada usia kebun yang sama sebelum tikus putih dikawinkan, metode sinkronisasi pertama kali digunakan untuk meningkatkan keberhasilan kebun dan mendapatkan tikus bunting pada usia taman yang sama (Gondo & Sardjono, 2017). Siklus estrus tikus betina diperlakukan dengan 3 langkah yakni :

- a. *Lee Both Effect* : isolasi tikus betina, dikumpulkan sesama tikus betina (dipisah dari tikus jantan) selama 2 minggu untuk mengkondisikan siklus unestrus.
- b. *Pheromone effect* : tikus betina dipapar dengan kandang yang diberisekam bekas urin tikus jantan untuk membangkitkan siklus birahinya dan mengkondisikan siklus estrus.
- c. *Whitten Effect* : Dalam waktu 72 jam setelah perlakuan, tikus putih betina akan berada dalam kondisi oestrus.

Setelah 72 jam diberi rangsangan pheromone (sekam bekas urin tikus jantan), tikus betina dikawinkan selama satu malam secara berpasangan (1:1), keesokan harinya pasca kawin dianggap hari ke-1 kebuntingan (Gondo & Sardjono, 2017) hal ini dapat dilihat dengan pengecekan siklus estrus dilakukan menggunakan apusan vagina tikus yang diamati di

bawah mikroskop (Frianto *et., all*, 2015). Pada hari ke-1 kebuntingan belum diberi aloksan, setelah kebuntingan di hari – 7 usia bunting (7 hari pasca kawin) melalui vena ekor diberikan aloksan selama 7 hari berturut – turut sebanyak 150 mg/hari/kg BB sesuai dengan penelitian (Yuriska, 2009) bahwa tikus hiperglikemik dapat dihasilkan dengan menginjeksikan aloksan dengan dosis 120-150 mg/kgBB selama 3 hari. Aloksan pertama diberikan pada hari ke-7, dan tes glukosa darah dilakukan pada hari ke-14 (pasca-tes). Sampel di setiap kelompok perawatan, serta kelompok kontrol positif dan negatif, dilakukan secara acak. Pada tahap ini, sebanyak 30 ekor tikus betina bunting akan dikelompokkan menjadi 6 kelompok yang masing-masing kelompok berisi 5 ekor, yaitu:

- K- : Kontrol negatif (tanpa diinduksi aloksan).
- K+ : Kontrol positif (diinduksi aloksan dosis 150 mg/hari/kg BB) pada hari ke 7 setelah pembuntingan/kawin selama 7 hari kedepan, berturut - turut injeksi intraperitoneal. ,
- P1 : Diinduksi aloksan dosis 150 mg/hari/kg BB pada hari ke 7 setelah pembuntingan/kawin dan diberi serbuk daun kelor dosis 100 mg/hari/kg BB setelah pemberian aloksan, selama 7 hari kedepan, berturut-turut.
- P2 : Diinduksi aloksan dosis 150 mg/hari/kg BB pada hari ke 7 setelah pembuntingan/kawin dan diberi serbuk daun kelor dosis 200 mg/hari/kg BB setelah pemberian aloksan, selama 7 hari kedepan, berturut-turut.
- P3 : Diinduksi aloksan dosis 150 mg/hari/kg BB pada hari ke 7 setelah pembuntingan/kawin dan diberi serbuk daun kelor dosis 400 mg/hari/kg BB setelah pemberian aloksan, selama 7 hari kedepan, berturut-turut.
- P4 : Diinduksi aloksan dosis 150 mg/hari/kg BB pada hari ke 7 setelah pembuntingan/kawin dan diberi serbuk daun kelor dosis 800 mg/hari/kg BB setelah pemberian aloksan, selama 7 hari kedepan, berturut-turut.

Fragmentasi DNA merupakan salah satu ciri-ciri dari apoptosis. Teknik TUNEL digunakan untuk memeriksa fragmentasi DNA dalam penyelidikan ini (Terminal deoxynucleotidyl Transferase memediasi dUTP Nick End Labeling). Enzim transferase terminal digunakan untuk mengenali ujung 3'OH (nick end) yang dibentuk oleh fragmentasi DNA, dan fluorescein-dUTP digunakan untuk mendeteksi ujung 3'OH sehingga

mereka dapat dilihat menggunakan mikroskop fluoresensi. Pendekatan pewarnaan ganda, yang menggunakan reagen tunel yang dihitung noda dengan metholen Green untuk memvisualisasikan perbandingan sel apoptosis dan non-apoptosis dalam satu bidang pandang, digunakan untuk memvisualisasikan perbandingan sel apoptosis dan non-apoptosis dalam satu bidang pengamatan. Terlihat pada (Gambar 2) TUNEL mendeteksi sel-sel apoptosis dan mengubahnya menjadi coklat, sedangkan methocil Green mendeteksi sel-sel non-apoptosis dan mengubahnya menjadi hijau (Gondo & Sardjono, 2017).

HASIL DAN PEMBAHASAN

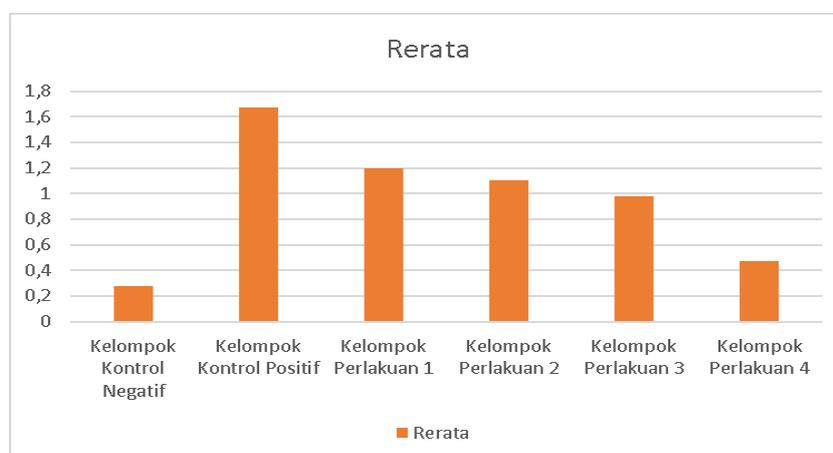
Pada hari ke 14, keenam kelompok tikus diambil heparnya dan dibuat preparat. Data pada (Tabel 1.) dibawah ini menunjukkan bahwa pada kelompok kontrol negatif, rerata jumlah inti sel hepar yang apoptosis adalah 0,28. Kelompok kontrol positif yang diberikan aloksan 150

mg/hari/kg BB memiliki jumlah rerata inti sel apoptosis 1,67. Pada setiap kelompok perlakuan (KP), KP1, KP2, KP3, dan KP4 diberikan serbuk daun kelor dengan dosis bertingkat, sehingga jumlah rerata inti sel nekrosis seharusnya berkurang. Pada KP 1 terjadi penurunan jumlah rerata inti sel apoptosis sebanyak 1,20, diikuti dengan KP2 yang mengalami penurunan jumlah rerata inti sel apoptosis sebanyak 1,10 dari KP1, KP3 mengalami penurunan jumlah rerata inti sel apoptosis sebanyak 0,98 dan KP4 mempunyai jumlah rerata inti sel apoptosis yang paling besar sebanyak 0,47 dan mendekati kontrol negatif. Penurunan ini disebabkan karena adanya pengaruh jumlah dan jenis senyawa yang masuk ke dalam sel, serta akibat pengaruh pemberian serbuk daun kelor. Hal ini dapat dilihat pada gambaran histopatologis hati pada tikus putih diabetes mellitus (Gambar 2.) dimana terdeteksi adanya infiltrasi sel radang, hepatosit berisi banyak lipid serta nekrosis (Swarayana *et al*, 2012).

Tabel 1. Rerata Jumlah Inti Sel Hepar yang Mengalami Apoptosis pada Tikus Putih Kelompok Kontrol dan Kelompok Perlakuan

| Kelompok | Inti Apoptosis | |
|--------------------------|----------------|--------|
| | N | Rerata |
| Kelompok Kontrol Negatif | 5 | 0,28 |
| Kelompok Kontrol Positif | 5 | 1,67 |
| Kelompok Perlakuan 1 | 5 | 1,20 |
| Kelompok Perlakuan 2 | 5 | 1,10 |
| Kelompok Perlakuan 3 | 5 | 0,98 |
| Kelompok Perlakuan 4 | 5 | 0,47 |

Dari hasil yang didapat, dibuat grafik yang menggambarkan rerata kerusakan sel hepar tikus putih sebagai berikut:



Gambar 1. Diagram Batang Hasil Pengamatan Inti Sel Hepar Tikus Putih Kelompok Kontrol dan Kelompok Perlakuan.

Apoptosis adalah jenis kematian sel yang direncanakan yang berperan dalam sejumlah proses biologis. Apoptosis juga dapat diartikan sebagai kematian sel terprogram (programmed cell death) yang bertujuan untuk mempertahankan populasi sel. (Nugrahaningsih., Ari, 2014) Perbedaan yang bermakna dari kelompok kontrol dan kelompok perlakuan menunjukkan adanya perbaikan sel hepar yang ditandai dengan berkurangnya apoptosis sel pada kelompok perlakuan yang diberi serbuk daun kelor. Terlihat dari hasil uji perbandingan ganda antara kelompok perlakuan terdapat perbedaan yang bermakna. Pada KP4 memiliki rerata jumlah inti sel hepar yang apoptosis sebesar 0,47. Perbedaan ini disebabkan karena pemberian serbuk daun kelor dengan dosis 800 mg/hari/kg BB pada tikus putih selama 7 hari berturut-turut dapat mengurangi kerusakan hepar akibat induksi aloksan yang menyebabkan tikus terjangkit Diabetes Melitus.

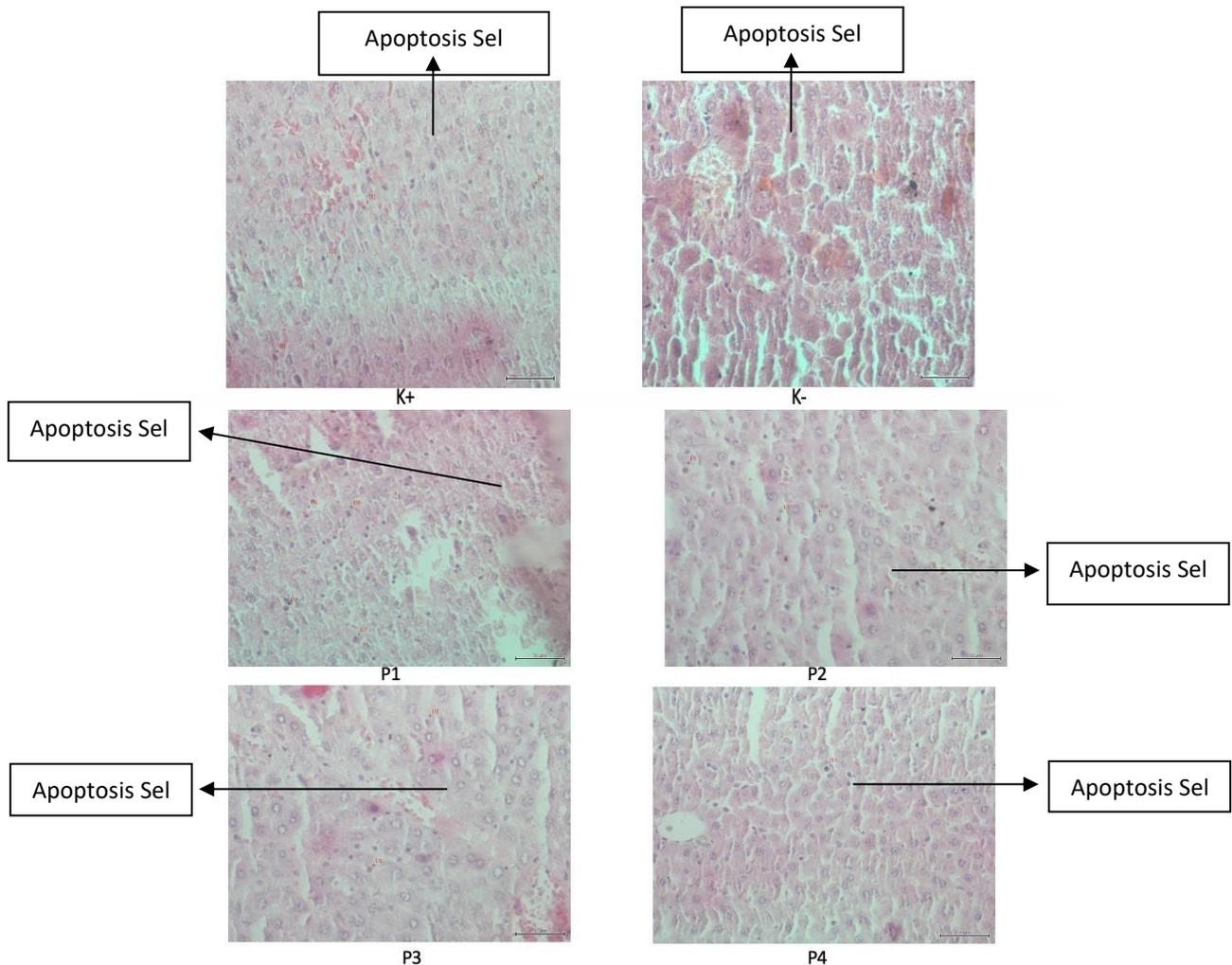
Daun kelor mengandung flavonoid yang cukup tinggi. Antioksidan flavonoid yang terkandung dalam serbuk daun kelor terbukti dapat mengurangi jumlah kerusakan sel hepar. Terdapat efek hepatoprotektor yang nyata dari senyawa flavonoid. Beberapa ekstrak yang mengandung senyawa flavonoid dan terbukti dapat digunakan sebagai hepatoprotektor antara lain madu, wortel, jinten hitam (Wiryawan, 2008).

Hasil uji perbandingan ganda yang bermakna antara kelompok perlakuan menunjukkan bahwa histologis telah membaik, dengan kerusakan pada kelompok perlakuan 3 dan 4 kurang dari kelompok sebelumnya. Ini menunjukkan bahwa efek hepatoprotektif dari bubuk daun kelor dosis tinggi sebanding dengan dosis.

Pada hasil pengukuran glukosa darah subjek penelitian, didapatkan kenaikan glukosa darah sejak hari ke-7 dan semakin tinggi pada pengukuran hari ke-14. Hal ini terjadi karena

induksi aloksan yang diberikan pada tikus sudah menimbulkan efek, kerusakan sel beta pankreas pada tikus menyebabkan tingginya kadar glukosa darah. Kenaikan kadar glukosa darah pada subjek perlakuan 1, 2, 3, dan 4 masing-masing mengalami kenaikan yang berbeda, penyebabnya adalah banyak faktor lain dari tikus yang merupakan subjek penelitian ini sendiri, satu subjek dan yang lainnya memberi respon yang berbeda, maka kenaikan kadar glukosa darah berbeda-beda pula (Wardana, 2021). Namun secara garis besar terjadi kenaikan pada hari ke-10 dan semakin naik pada hari ke-12, mengindikasikan rusaknya sel beta pankreas karena induksi aloksan. Kondisi ini dapat dilihat dari adanya perubahan struktur histologis (Gambar 2.)

Hasil pengamatan gambaran histopatologis sel hepar kelompok perlakuan berkinerja lebih baik daripada kelompok kontrol positif. Apoptosis dapat menyebabkan kerusakan inti sel pada kelompok kontrol positif karena induksi aloksan yang diberikan namun tanpa pemberian serbuk daun kelor. Diketahui beberapa hasil yang tidak sesuai dapat disebabkan karena Variabel eksternal yang tidak dapat dikendalikan, seperti keadaan hepar tikus putih sebelum perawatan, adanya kerusakan sel hepar selama penelitian, atau unsur psikologis yang dapat mempengaruhi kesehatan hepar tikus putih, menyebabkan kondisi awal hati tikus putih tidak diketahui. Berdasarkan temuan analisis data penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa memberikan serbuk daun kelor ke sel hepar tikus putih dapat mencegah kerusakan sel yang diinduksi aloksan. Serbuk daun kelor juga terbukti mencegah kerusakan sel hepar tikus putih ketika diberikan dalam dosis lulus. Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk menentukan dosis efektif bubuk daun kelor untuk mencegah kerusakan sel hepar. Berikut merupakan hasil gambaran Histopatologis Hepar Tikus.



Gambar 2. Gambaran Histopatologis Jaringan Hepar Pada Subjek Penelitian

Keterangan:

- K- : Kontrol negatif (tanpa diinduksi aloksan).
- K+ : Kontrol positif (diinduksi aloksan dosis 150 mg/hari/kg BB) pada hari ke 7 setelah pembuntingan/ kawin selama 7 hari kedepan, berturut - turut injeksi intraperitoneal.
- P1 : Diinduksi aloksan dosis 150 mg/hari/kg BB pada hari ke 7 setelah pembuntingan dan diberi serbuk daun kelor dosis 100 mg/hari/kg BB setelah pemberian aloksan, selama 7 hari kedepan, berturut-turut.
- P2 : Diinduksi aloksan dosis 150 mg/hari/kg BB pada hari ke 7 setelah pembuntingan dan diberi serbuk daun kelor dosis 200 mg/hari/kg BB setelah pemberian aloksan, selama 7 hari kedepan, berturut-turut.
- P3 : Diinduksi aloksan dosis 150 mg/hari/kg BB pada hari ke 7 setelah pembuntingan dan diberi serbuk daun kelor dosis 400 mg/hari/kg BB setelah pemberian aloksan, selama 7 hari kedepan, berturut-turut.
- P4 : Diinduksi aloksan dosis 150 mg/hari/kg BB pada hari ke 7 setelah pembuntingan dan diberi serbuk daun kelor dosis 800 mg/hari/kg BB

setelah pemberian aloksan, selama 7 hari kedepan, berturut-turut

Pada gambaran histopatologis ini, dengan pembesaran 40x di sekitar vena sentralis dan segitiga Kiernan dalam 1 lapang pandang dapat ditemukan sinus yang melebar, serta sel hepar yang mengalami apoptosis. Pada perlakuan 1 ditemukan 4 sel apoptosis, sedangkan pada perlakuan 2 terdapat 3 sel apoptosis, perlakuan 3 terdapat 2 sel apoptosis, dan pada perlakuan 4 terdapat 1 sel apoptosis. Pada kelompok kontrol positif terdapat 4 sel apoptosis, dan pada kelompok kontrol negatif terdapat 0 sel apoptosis. Dari hasil pengamatan ini terdapat penurunan jumlah sel yang mengalami apoptosis dari hepar tikus putih bunting pada kelompok perlakuan 1, 2, 3, dan 4.

KESIMPULAN

Pada tikus yang telah diprovokasi oleh aloksan, menambahkan dosis bubuk daun *Moringa oleifera* mengurangi jumlah rata-rata sel hepar yang mengalami apoptosis.

DAFTAR PUSTAKA

- Aini Q, Sabri M dan Samingan, 2016. Perbandingan Dosis Ekstrak Daun Kelor (*Moringa Oleifera*) Dalam Memperbaiki Nekrosa Sel Beta Pankreas Pada Tikus Hiperglikemik Di Laboratorium. *Prosiding Seminar Nasional Biotik*, 4(1): 189–195.
- Fetomaternal dan Ginekologi, 2009. *Pada Preeklampsia / Eklampsia Dan Kehamilan Normal*, 33(3).
- Gondo HK, and Sardjono TW, 2017. The Effect of Phycocyanin on Caspase-3 Trophoblast Cells Models in Rats Preeclampsia Inducible Interleukin 6 (IL-6). *J. Appl. Environ. Biol. Sci.*, 7(4): 210–213.
- International Diabetes Federation, 2013. Diabetes Atlas Sixth Edition. In *Idf Diabetes Atlas*. <https://doi.org/2-930229-80-2>.
- Jaiswal D, Kumar Rai P, Kumar A, Mehta S. and Watal G, 2009. Effect of *Moringaoleifera* Lam. leaves aqueous extract therapy on hyperglycemic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 123(3): 392-396.
- Law K and Zhang H, 2017. The pathogenesis and pathophysiology of gestational diabetes mellitus: Deductions from a three-part longitudinal metabolomics study in China. *Clinica Chimica Acta*, 468: 60-67
- Nugrahaningsih, Ari Y, 2014. Pengaruhnya Terhadap Volume Tumor. *Saintekno*, 12(2): 139–146.
- Shaw JE, Sicree RA, Zimmet PZ, 2010. Global estimates of the prevalence of diabetes for 2010 and 2030. *Diabetes research and clinical practice* 87: 4–14.
- Williamson K, 2007. *Apoptosis*. The Cancer Handbook.
- Wiryawan A, 2008. *Kimia Analitik*. Direktorat Pembinaan Sekolah Menengah Kejuruan. Jakarta.
- Yuriska A, 2009. Efek Alokasan Terhadap Kadar Glukosa Darah Tikus Wistar. Karya Tulis Ilmiah. Fakultas Kedokteran. Universitas Diponegoro Semarang.