

PENGARUH EKSTRAK TEMPE KEDELAI HITAM (*GLYCINE SOJA*) TERHADAP JUMLAH SEL β PANKREAS TIKUS PUTIH JANTAN (*RATTUS NOVERGICUS STRAIN SISTAR*) MODEL DM TIPE 2

Dhita Nur Fitriyani Sukamto¹, Anisa Hanifwati², Sari Yunita³

Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Malang, Jl. Bendungan Sutami No.188A, Kota Malang, 65145, Indonesia 0341-551149

ABSTRAK

Pengaruh ekstrak tempe kedelai hitam (*Glycine soja*) terhadap jumlah sel β pankreas tikus putih jantan (*Rattus novergicus strain wistar*) model DM tipe 2. Latar Belakang: Hiperglikemia kronis meningkatkan pembentukan radikal bebas yang menyebabkan stres oksidatif sehingga menurunkan jumlah sel β pankreas. Ekstrak tempe kedelai hitam mengandung zat antioksidan seperti isoflavon, polifenol, dan antosianin yang berpotensi mencegah sel β pankreas dari kerusakan yang disebabkan oleh hiperglikemia kronis dan dapat meningkatkan jumlah sel β pankreas. Tujuan: Membuktikan adanya pengaruh pemberian ekstrak tempe kedelai hitam terhadap jumlah sel β pankreas tikus putih jantan model DM tipe 2. Metode: Menggunakan rancangan *post test controlled group*, sampel penelitian dibagi menjadi 5 kelompok. Kelompok I (kontrol negatif), kelompok II (kontrol positif) diberi streptozotocin dosis rendah secara berulang selama 5 hari, kelompok III (D1) ditambah ekstrak tempe kedelai hitam dosis 150 mg/kgBB/hari, kelompok IV (D2) ditambah ekstrak tempe kedelai hitam dosis 300 mg/kgBB/hari, kelompok V (D3) ditambah ekstrak tempe kedelai hitam dosis 450 mg/kgBB/hari selama 14 hari. Hasil dan Diskusi: Rerata dari jumlah sel β pankreas pada kelompok negatif 91,86 sel/LP, positif 56,16 sel/LP, D1 60,88 sel/LP, D2 72,94 sel/LP, dan D3 84,66 sel/LP. Pemberian ekstrak tempe kedelai hitam berpengaruh bermakna terhadap peningkatan jumlah sel β pankreas tikus putih jantan model DM tipe 2 antar kelompok ($p < 0,05$). Kesimpulan: Pemberian ekstrak tempe kedelai hitam meningkatkan jumlah sel β pankreas tikus putih jantan model DM tipe 2.

ABSTRACT

The Effect of Black Soybean (*Glycine soja*) Tempe Extract to the Number Of Pancreatic Beta Cells rats (*Rattus novergicus wistar strain*) Models of Type 2 DM. Background: Chronic hyperglycemia increases the formation of free radicals that cause oxidative stress which can reduce the number of pancreatic beta cells. Black soybean tempe extract contains antioxidants such as isoflavones, polyphenols, and anthocyanins potentially prevent pancreatic beta cells from damage caused by chronic hyperglycemia and can increase number of pancreatic beta cells. Purpose: To prove the effect of black soybean tempe extract to the number of pancreatic beta cells rats models of type 2 DM. Metode: Using posttest controlled group design, sample divided into 5 groups. Group I (negative control), group II (positive control) were given a multiple low doses of streptozotocin for 5 days, group III (D1) combined with extract of black soybean tempe dose 150 mg/kgBB/day, group IV (D2) combined with extract of black soybean tempe dose 300 mg/kgBB/day, group V (D3) combined with extract of black soybean tempe dose 450 mg/kgBB/day for 14 days. Result and Discussion: Mean of the number pancreatic β cells in group negative 91,86 cells/field of view respectively, positive 56,16 cells/field of view respectively, D1 60,88 cells/field of view respectively, D2 72,94 cells/field of view respectively, D3 84,66 cells/field of view respectively. Black soybean tempe extract showed significant results toward the decreased the number of pancreatic β cells Cells rats models of type 2 DM in each group ($p < 0,05$). Conclusion: Black soybean tempe extract decreased the number of pancreatic β cells rats models of type 2 DM.

Key words : Black soybean tempe extract, pancreatic β cells, streptozotocin, model of type 2 DM.

PENDAHULUAN

Diabetes melitus (DM) adalah suatu kumpulan gejala yang timbul pada seseorang yang disebabkan adanya peningkatan kadar gula (glukosa) darah akibat kekurangan insulin baik relatif maupun absolut (Soegondo, 2002). DM digolongkan menjadi dua tipe, yaitu DM tipe 1 disebabkan tubuh kekurangan insulin atau tubuh sedikit menghasilkan insulin, dan DM tipe 2 insulin tetap dihasilkan dalam jumlah normal, namun insulin yang ada tidak bekerja

dengan baik atau terjadi resistensi insulin karena reseptor insulin pada membran sel berkurang sehingga tidak tanggap terhadap insulin (Stumvoll et al, 2005). Kondisi ini menyebabkan glukosa yang masuk ke dalam sel berkurang, sedangkan di pembuluh darah terjadi peningkatan glukosa (Suarsana, 2010). Hiperglikemia kronis cenderung meningkatkan pembentukan radikal bebas (ROS), ROS yang berlebihan ini meningkatkan kejadian stres oksidatif dan dapat menyebabkan disfungsi sel β (Robertson et al,

2004). Menurut Nugent et al (2008), diabetes tahap lanjut ditandai dengan menurunnya jumlah sel β , penumpukan amiloid di dalam pulau-pulau Langerhans, dan penumpukan lemak. Untuk itu dibutuhkan upaya dalam meningkatkan jumlah sel β pankreas dengan cara mencegah kejadian stres oksidatif lebih lanjut dan menstimuli proliferasi sel β pankreas. Salah satunya dengan cara mengkonsumsi bahan makanan yang mengandung antioksidan (Koya D et al, 2003).

Kedelai hitam merupakan salah satu bahan makanan yang kaya antioksidan, selain itu kedelai hitam merupakan komponen penting dalam diet penduduk di wilayah Asia. Salah satu senyawa yang mengandung antioksidan dalam kedelai hitam adalah isoflavon. Isoflavon bersifat sebagai antioksidan melalui dua mekanisme, yaitu : mendonorkan ion hidrogen dan bertindak sebagai scavenger radikal bebas secara langsung, akibatnya radikal bebas tersebut akan lebih stabil (Astuti, 2008). Selain isoflavon, senyawa yang bekerja sebagai antioksidan dalam kedelai hitam ialah polifenol dan antosianin. Proses fermentasi kedelai menjadi tempe menyebabkan peningkatan isoflavon total sehingga diperkirakan fungsi tempe sebagai antioksidan jauh lebih tinggi dibandingkan dengan kedelai. Tempe juga dikenal sebagai makanan yang sangat populer di Indonesia, tempe dikonsumsi oleh lebih dari separuh penduduk di Indonesia. Selain itu, tempe juga mudah diproduksi, harga relatif terjangkau, tersedia di pasar, dan mudah dimasak (Utari et al, 2010).

Tujuan umum dari penelitian ini yaitu membuktikan bahwa terdapat pengaruh pemberian ekstrak tempe kedelai hitam (*Glycine soja*) terhadap jumlah sel β pankreas tikus putih jantan (*Rattus norvegicus strain wistar*) model DM tipe 2. Sedangkan tujuan khusus penelitian ini untuk membuktikan bahwa tempe kedelai hitam (*Glycine soja*) sebagai antioksidan dapat mencegah kerusakan sel β pankreas lebih lanjut tikus putih jantan (*Rattus norvegicus strain wistar*) model DM tipe 2, dan untuk mengetahui dosis terbaik tempe kedelai hitam (*Glycine soja*) sebagai antioksidan yang dapat mencegah kerusakan sel β pankreas lebih lanjut tikus putih jantan (*Rattus norvegicus strain wistar*) model DM tipe 2.

METODE

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah timbangan, alat pemeliharaan tikus, alat pembuatan tempe kedelai hitam, sarung tangan, sonde modifikasi, alat bedah minor (scalpel dan gunting), tabung film untuk tempat pengawetan organ sementara, mikroskop, mikrotom, coverglass dan object glass.

Bahan yang digunakan antara lain bahan pakan, aquadest, bahan pembuatan kedelai hitam (kedelai hitam, ragi tempe 1g / 1kg tempe, air bersih), hewan percobaan, streptozotosin, ekstrak tempe kedelai hitam, bahan untuk membuat sediaan histologi pankreas tikus dengan cara Embedding.

Pembuatan Tempe Kedelai Hitam

Kedelai kering dibersihkan dari kotoran dan benda asing, kemudian dicuci dengan air hingga bersih. Kedelai direbus dengan air sampai mendidih selama 30 menit, kemudian dikupas kulitnya secara manual dan dicuci sampai bersih. Kedelai direndam selama 36 jam pada suhu ruang, lalu ditiriskan hingga tuntas, kemudian dikukus selama 1 jam. Kedelai yang telah matang ditiriskan dan didinginkan kemudian diinokulasi dengan ragi tempe 2 gr / 1 kg kedelai. Pemeraman (inkubasi) pada suhu sekitar 25-27°C selama 36 jam. Tempe yang

telah diperoleh dikeringkan pada suhu 40°C selama 24 jam, kemudian dihancurkan sehingga diperoleh tepung tempe (60 mesh) (Nurrahman et al, 2012).

Pembuatan Ekstrak Tempe Kedelai Hitam

Tempe yang sudah dihancurkan sampai menjadi tepung (60 mesh), kemudian diekstraksi tiga kali dengan metanol absolut, dan ekstrak metanol tempe yang didapat disimpan dalam ruang dingin (0°) untuk menggumpalkan lemak. Lemak ini kemudian dapat dipisahkan dengan mudah melalui penyaringan dengan kertas filter. Filtrat yang diperoleh selanjutnya diuapkan dengan rotavapor pada suhu 40°C hingga mendapatkan endapan kental (Prawiroharsono, 1995).

Pembuatan Larutan Streptozotosin

Streptozotosin (STZ) yang digunakan sebanyak 800 mg yang dilarutkan dalam 80 ml buffer sitrat 0,02 M sehingga 1ml larutan mengandung 10 mg STZ. Dosis yang dipakai adalah 40 mg/kgBB yang diberikan selama 5 hari.

Pengukuran Kadar Glukosa Darah

Pengukuran kadar glukosa darah dilakukan dengan menggunakan glucometer setelah mencit dipuasakan selama \pm 18 jam. Pengambilan sampel darah dilakukan dengan melukai vena lateralis pada ekor tikus, kemudian darah yang keluar dari ekor tikus diteteskan pada stripe yang sudah terpasang glucometer. Dalam waktu lima detik glucometer akan menunjukkan kadar glukosa yang terkandung dalam sampel darah.

Pengambilan Pankreas Tikus

Hewan percobaan dikorbankan dengan cara cervical dislocation. Kemudian organ pankreas bagian caput diambil untuk selanjutnya dibuat preparat histologi dengan metode blok parafin dan pengecatan HE. Irisan dilakukan dengan ketebalan irisan 3-8 mikron.

Analisis Data

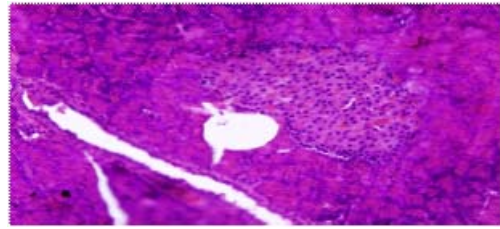
Analisis data menggunakan uji *Oneway* ANOVA, kemudian dilanjutkan dengan uji korelasi dan uji regresi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil perhitungan jumlah sel beta pankreas normal pada 25 sampel tikus setelah diberi perlakuan didapatkan hasil sebagaimana tertera pada tabel 1. Pada kelompok kontrol negatif dimana pada kelompok ini tidak diberikan perlakuan apapun, rata-rata jumlah sel β pankreas yang normal sebesar 91.86 sel/LP dengan standart deviasi sebesar 19.7254. Untuk kelompok kontrol positif dimana pada kelompok ini hanya diberi streptozotosin tanpa diberi ekstrak

tempe kedelai hitam, memiliki rata-rata jumlah sel β pankreas yang normal (kontrol positif) sebesar 56.16 sel/LP dengan standart deviasi sebesar 15.3899. Berdasarkan kondisi ini dapat dikatakan bahwa pemberian streptozotosin pada tikus putih jantan mampu menurunkan jumlah sel β pankreas pada tikus putih jantan tersebut. Kemudian pada kelompok tikus yang diberi streptozotosin dan ditambah ekstrak tempe kedelai hitam 150 mg/kgBB/hari selama 14 hari, rata-rata jumlah sel β pankreas yang normal sebesar 60,88 sel/LP dengan standart deviasi sebesar 3,1092. Untuk kelompok tikus yang diberi streptozotosin dan ditambah ekstrak tempe kedelai hitam 300 mg/kgBB/hari selama 14 hari, rata-rata jumlah sel β pankreas yang normal mencapai 72,94 sel/LP dengan standart deviasi sebesar 4,4691. Dan pada kelompok

tikus yang diberi streptozotosin dan ditambah ekstrak tempe kedelai hitam 450 mg/kgBB/hari selama 14 hari, rata-rata jumlah sel β pankreas yang normal sebesar 84.66 sel/LP dengan standart deviasi sebesar 7.4080.



Gambar 1. Pulau langerhans kelompok kontrol negatif dengan perbesaran 400x.

Tabel 1. Hasil Perhitungan Jumlah Sel Beta Pankreas Normal Setelah Diberi Perlakuan

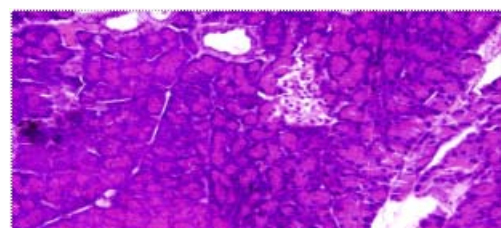
Perlakuan	Rerata Jumlah Sel Beta Pankreas / Lapang Pandang					Rata-rata	Standart Deviasi
	1	2	3	4	5		
K (-)	95,4	123,1	73,2	77,1	90,5	91,86	19,7254
K (+)	56,6	78	54,2	34,6	57,4	56,16	15,3899
D 1	57,2	59,1	62,8	65,1	60,2	60,88	3,1092
D 2	67,9	79	74,1	69,2	74,5	72,94	4,4691
D 3	76,2	88,2	77,2	92,1	89,6	84,66	7,4080

Induksi streptozotosin dosis rendah secara berulang dapat menurunkan jumlah sel β pankreas tikus putih jantan pada semua kelompok tikus kecuali kelompok kontrol negatif yang tidak diberikan streptozotosin. Penurunan jumlah sel β pankreas tikus putihjantan sesuai dengan teori bahwa pemberian streptozotosin dosis rendah secara berulang selama 5 hari dapat menimbulkan penurunan jumlah sel β pankreas tikus putih jantan dimulai pada hari ke -7 (Erwin et al, 2012). Penurunan jumlah sel β pankreas tikus putih jantan dibuktikan dengan menurunnya jumlah sel β pankreas tikus putih jantan pada kelompok kontrol positif setelah diinduksi streptozotosin dosis rendah secara berulang. Namun terdapat rerata jumlah sel β pankreas pada tikus kedua yang mendekati tikus normal, hal ini di karenakan efek dari pengecatan preparat yang kurang bagus yang berakibat terbatasnya pulau langerhans yang terlihat, sehingga peneliti tidak dapat meratakan ukuran pulau langerhans yang diteliti.

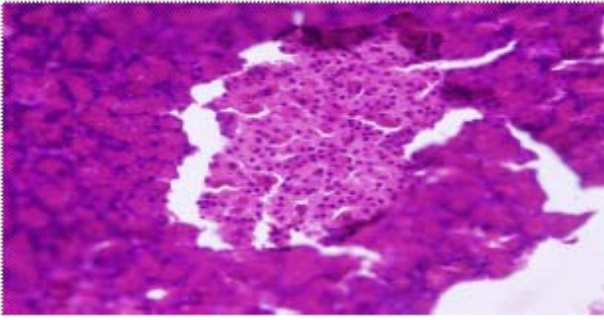
Pemberian streptozotosin dosis rendah secara berulang dapat menghasilkan hewan model yang mengalami kerusakan sel beta pancreas secara perlahan-lahan sehingga akan menimbulkan DM yang kronis (Erwin et al, 2004). Hiperglikemia kronis cenderung meningkatkan pembentukan radikal bebas (ROS) melalui jalur metabolisme glukosa seperti autooksidasi glukosa, metabolisme pembentukan metilglioksisial, dan fosforilasi oksidatif (Robertson et al, 2004). Pembentukan ROS tersebut dapat meningkatkan modifikasi lipid, DNA, dan protein pada berbagai jaringan (Purnomo, 2000). ROS yang berlebihan ini meningkatkan kejadian stres oksidatif dan dapat menyebabkan disfungsi sel beta (Robertson et al, 2004). Disfungsi sel beta pankreas disebabkan karena menurunnya pertumbuhan jumlah sel beta pankreas, meningkatnya apoptosis pada sel beta pankreas, menurunnya regenerasi dan fungsi sel beta pankreas, disertai kelainan genetik mitokondria sel beta pankreas (Silink, 2002).

Menurut Nugent et al (2008), diabetes tahap lanjut ditandai dengan menurunnya jumlah sel beta, penumpukan amiloid di dalam pulau-pulau Langerhans, dan penumpukan lemak. Sedangkan menurut Finegood et al (2001), pada keadaan tikus diabetes jumlah sel beta berkurang 50 % dibandingkan dengan pada keadaan prediabetes. Hal ini sesuai dengan penelitian terdahulu yang dilakukan oleh Erwin et al (2013), bahwa induksi streptozotosin dosis rendah secara berulang dapat menurunkan jumlah sel β pankreas tikus putih jantan strain wistar.

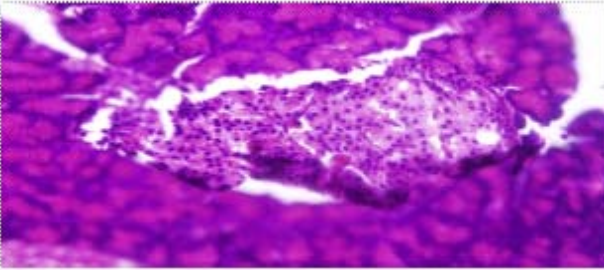
Pemberian ekstrak tempe kedelai hitam (*Glycine soja*) sebagai antioksidan dalam mencegah kerusakan sel β pankreas lebih lanjut terbukti dapat meningkatkan jumlah β pankreas tikus putih jantan yang diinduksi streptozotosin dosis rendah secara berulang, hal ini didukung saat dilakukan uji *One way Anova* menunjukkan nilai signifikansi sebesar $0,000 < p (0,05)$. Efek peningkatan jumlah sel β pankreas yang terjadi pada pemberian ekstrak tempe kedelai hitam ini diduga karena terdapatnya kandungan zat aktif isoflavan, polifenol, dan antosianin. Menurut Suarsana dkk (2010) isoflavan diduga mampu menetralkan radikal bebas yang dihasilkan zat diabetogenik serta efek dari keadaan hiperglikemia kronis. sehingga dapat menghambat laju kerusakan DNA pada sel beta pankreas, sehingga terjadinya disfungsi sel beta dapat dicegah.



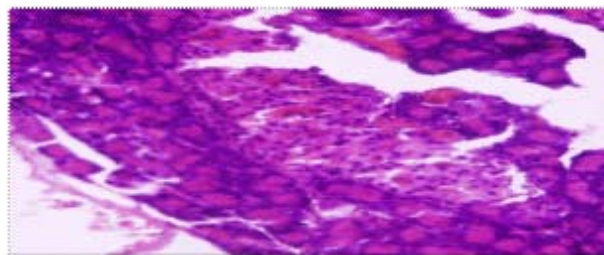
Gambar 2. Pulau langerhans kelompok kontrol positif dengan perbesaran 400X.



Gambar 3. Pulau langerhans perlakuan 1 dengan perbesaran 400X.



Gambar 4. Pulau Langerhans perlakuan 2 dengan pembesaran 400X.



Gambar 5. Pulau langerhans perlakuan 3 dengan perbesaran 400X.

Isoflavon bersifat sebagai antioksidan melalui dua mekanisme, yaitu : mendonorkan ion hidrogen dan bertindak sebagai scavenger radikal bebas secara langsung, akibatnya radikal bebas tersebut akan lebih stabil (Astuti, 2008). Selain isoflavon, senyawa yang bekerja sebagai antioksidan dalam kedelai hitam ialah polifenol dan antosianin. Polifenol terbukti bekerja sebagai antioksidan dengan cara mencegah terjadinya reaksi berantai pengubahan superoksida menjadi hidrogen superoksida dengan mendonorkan atom hidrogen (Barbosa, 2007), polifenol diduga mampu melindungi sel β pankreas dari efek toksik radikal bebas yang diproduksi dibawah kondisi hiperglikemia kronis (Kaneto, 1999). Sedangkan antosianin terbukti bekerja sebagai antioksidan dengan cara mencegah rantai oksidasi lipid peroksida, dan dapat memperbaiki status antioksidan dengan menekan malodialdehide (MDA) sebagai penanda stres oksidatif (Nizamutdinova IT et al, 2009).

Dengan adanya antioksidan, maka kejadian stres oksidatif dapat dihambat sehingga kerusakan sel β pankreas lebih lanjut dapat dicegah. Hal ini dapat meningkatkan jumlah sel β pankreas melalui mekanisme pergantian sel β

pancreas yang berasal dari sel progenitor β pankreas yang tersisa yang dapat berdeferensiasi dan bereplikasi menjadi sel β pankreas yang normal (Bouwens & Rooman, 2004). Para peneliti mengungkapkan hipotesa bahwa replikasi sel β pancreas berasal dari pulau langerhans itu sendiri. Analisis ini berdasarkan bahwa cadangan sel β pankreas yang masih tersisa sebagai sumber utama regenerasi sel β pancreas yang baru. Regenerasi meliputi proliferasi sel β pankreas yang tersisa dan neogenesis dari sel epitel ductus periferall (Hayashi et al, 2003).

Dari hasil analisis pun didapatkan adanya pengaruh yang cukup signifikan antara pemberian ekstrak tempe kedelai hitam dengan peningkatan jumlah sel β pankreas, terbukti saat dilakukan uji ANOVA pada jumlah sel β pankreas tikus putih didapatkan nilai sig sebesar $0.000 < p (0.05)$. Hasil uji HSD Tukey 5% menunjukkan bahwa hasil yang didapatkan pada setiap kelompok perlakuan menunjukkan bahwa rata-rata tertinggi terdapat pada perlakuan kontrol (-) yaitu sebesar 91.86 sel/LP. Rata-rata ini tidak berbeda nyata dengan perlakuan dosis 3 (pemberian streptozotosin dan ditambah ekstrak tempe kedelai hitam 450 mg/kgBB/hari selama 14 hari, dosis 2 (diberi streptozotosin dan ditambah ekstrak tempe kedelai hitam 300 mg/kgBB/hari selama 14 hari). Untuk rata-rata pada perlakuan dosis 2 (diberi streptozotosin dan ditambah ekstrak tempe kedelai hitam 300 mg/kgBB/hari selama 14 hari) tidak berbeda nyata dengan perlakuan dosis 1 (diberi streptozotosin dan ditambah diberi ekstrak tempe kedelai hitam 150mg/kgBB/hari selama 14 hari) dan kontrol positif.

Menurut hasil uji korelasi yang dilakukan, didapatkan hubungan korelasi positif antara pemberian dan peningkatan dosis ekstrak tempe kedelai hitam terhadap peningkatan jumlah sel β pankreas artinya semakin tinggi dosis ekstrak tempe kedelai hitam yang diberikan pada tikus yang telah terinduksi streptozotosin, maka akan semakin meningkat jumlah sel β pankreas pada tikus tersebut. Nilai pearson correlation = 0,898. Nilai ini berada pada kriteria hubungan yang kuat karena berada pada skala 0,800 – 1,000. Hal tersebut menggambarkan adanya pengaruh yang signifikan didukung hasil uji regresi yang menunjukkan besarnya pengaruh ekstrak biji labu kuning terhadap penurunan kadar LDL serum. Didapatkan $R^2 = 0,807$ dan nilai Sig = $0,000 < 0,05$, yang berarti pengaruh ekstrak tempe kedelai hitam sebesar 80,7 % terhadap peningkatan jumlah sel β pankreas.

Meskipun penelitian ekstrak tempe kedelai hitam telah terbukti dapat meningkatkan jumlah sel β pankreas, namun terdapat beberapa keterbatasan. Keterbatasan penelitian ini antara lain: dalam perhitungan sel β pankreas peneliti tidak meratakan ukuran pulau langerhans yang dihitung dikarenakan terbatasnya pulau langerhans yang terlihat akibat dari pengecatan preparat yang kurang bagus, sehingga banyak pulau langerhans yang tidak terlihat dalam preparat, dan peningkatan jumlah sel β pankreas belum mencapai jumlah sel β pankreas pada kondisi normal seperti kontrol negatif 1 (rerata jumlah sel β pankreas 91,86 sel/LP), hal ini dikarenakan regenerasi sel β pankreas yang terjadi hanya berasal dari sel progenitor sel β pankreas yang tersisa.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan pemberian ekstrak tempe kedelai hitam (*Glycine soja*) terbukti mempunyai pengaruh terhadap jumlah sel β pankreas tikus putih jantan (*Rattus norvegicus strain wistar*) model DM tipe 2. Pemberian ekstrak tempe kedelai hitam (*Glycine soja*) sebagai antioksidan terbukti dapat mencegah kerusakan sel β pankreas lebih lanjut tikus putih jantan (*Rattus norvegicus strain wistar*) model DM tipe 2. Ekstrak tempe kedelai hitam (*Glycine soja*) dosis 450 mg/kgBB/hari merupakan dosis yang terbaik sebagai antioksidan yang dapat mencegah kerusakan sel β pankreas lebih lanjut tikus putih jantan (*Rattus norvegicus strain wistar*) model DM tipe 2 dibandingkan dengan dosis 150 mg/kgBB/hari dan dosis 300 mg/kgBB/hari.

DAFTAR PUSTAKA

- Adhie M, 2009, Balai Penelitian Tanaman Kacang-kacangan dan umbi-umbian, Bogor, Viewed 07 Desember 2013, <www.bpatp.litbang.deptan.go.id>.
- Akbarzadeh A, Norouzzian D, Mehrabi MR, Jamshidi Sh, Farhangi A, Verdi AA, And Mofidian SMA, 2007, Induction of Diabetes by Streptozotocin in Rats, Indian Journal of Clinical Biochemistry, 22(2), 60-64.
- American Diabetes Association, 2005, Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus, Diabetes Care, 28, S31-S42.
- Anamaulida, 2011, Anatomi Pankreas, viewed 1 November 2013, <<http://www.docstoc.com/docs/79972890/Anatomi-Pankreas>>.
- Anisah N, 1998, Efek Hipoglikemik Ekstrak Daun Ceplukan (*Physalis minima* L) pada Pankreas Tikus Putih, Bagian Histologi FK UGM, 10-20.
- Astuti M, Meliala A, Dalais FS, Wahlqvist, 2000, Tempe, a Nutritious and Healthy Food from Indonesia, Asia Pacific J Clin Nutr, 9(4), 322-325.
- Astuti, Meira DK, 2010, Pengaruh Ekstrak Bawang Putih terhadap Ekspresi Insulin dan Derajat insulinitis Pankreas Tikus Sparague Dawley yang diinduksi STZ, Skripsi Universitas Diponegoro Semarang.
- Barbosa DS, 2007, Green Tea Polyphenolic Compounds and Human Health, Journal fur Verbraucherschutz und Lebensmitt Isicherheit (2): 407-413.
- Best B, 2004, General Antioxidants Actions, Journal Chemistry and Biochemistry Free Radical.
- Cahyadi, Wisnu, 2009, Teknologi dan Khasiat Kedelai, Bumi Aksara, Jakarta, 1-14.
- Cartailler JP, 2004, Insulin – from secretion to action, Beta cell Biology Consortium. <http://www.betacell.org?content/articles/print.php?aid=1>. [Di akses tanggal: 23 January 2014].
- Cassidy A, 2005, Factor Affecting the Bioavailability of Soy isoflavones in Humans after Ingestion of Physiologically Relevant Levels from Different Soy Foods, Am. Society for nutrition, 45-51.
- Darmono, 1990, Ciri-ciri Laboratorium DM pankreatik Tipe Kalsifikasi, Fakultas Diponegoro, Semarang, 77.
- Doxey et al, 1995, Platelet-derived growth factor levels in wounds of diabetic rat. Life Sciences (57): 11111-1123.
- Dubois M, 2007, Glucotoxicity inhibit late step of insulinexocytosis, Endocrinology (148): 1606-1614.
- Eroschenko, Viktor P, 2003, Atlas histologi, EGC, Jakarta.
- Erwin, Etriwati, Rusli, 2012, Mencit (*Mus musculus*) Galur BALB-C yang Diinduksikan Streptozotocin Berulang sebagai Hewan Model Diabetes Melitus, Jurnal Kedokteran Hewan, 6 (1), 47-50.
- Fajri IN & Zubaidah E, 2013, Studi Komparasi Pemberian Cuka Apel dan Cuka Salak terhadap Penurunan Glukosa Darah dan Histopatologi Pankreas pada Tikus Wistar Jantan Diabetes Melitus yang Diinduksi dengan STZ.
- Finegood DT, MC Arhur MD, Kojwang D, et al, 2001, Rosiglitazone prevent the rise of net cell death, Diabetes(50): 1021-1029.
- Green, 2007, Dalam: Suarsana IN, 2009, Perubahan Histopatologi Jaringan Pankreas Tikus Diabetes Dengan Pemberian Ekstrak Metanol Tempe. <http://repository.ipb.ac.id/handle/123456789/54971>. [Diakses Tanggal 28 Januari 2014].
- Guthrie DW, Guthrie RA, 2003, The Diabetes Source Book, Mc Graw Hills Company, New York, pp: 13-14
- Guyton AC, Hall JE, 2011, Buku Ajar Fisiologi Kedokteran, EGC, Jakarta.
- Handayani W, Rudjianto A, Indra MR, 2009, Soybean Milk Reduces Insulin Resistant in Rattus norvegicus of Type 2 Model Diabetes Mellitus, J Ked. Brawijaya 25(2): 60-66.
- Hull RL, Westermark GT, Kahn SE. 8 Islet Amyloid: A Critical Entity in the Pathogenesis of type 2 DM. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 2002; 89: 3629-35
- Isselbacher KJ, Braunwald E, Wilson JD, Martin JB, Fauci AS Kasper DL, 2000, Harison prinsip-prinsip ilmu penyakit dalam edisi 13 alih bahasa : Asdie AH, Jakarta, EGC, 5, 2196-2217.
- Junqueira L, Carneiro, 2005, Histologi dasar, EGC, Jakarta.
- Kano M., Takayanagi T, Haraga K, Sawada S, Ishikawa F, 2006, Bioavailability of isoflavone after ingestion of soybean beverages in healthy adults, J.Nutr, 136, 2291-2296.
- Kaneto H, Kajimoto Y, Miyagawa J, Matsuoka T, Fujitani Y, Umayahara Y, Hanafusa T, Matsuzawa Y, Yamasaki Y, Hori M, 1999, Beneficial Effect of Antioxidants in Diabetes : Possible Protection of Pancreatic β cells Against Glucose Toxicity, Diabetes 48, 2398-2406.
- Khardori R, Howard AB, 2011, Pathofisiologi Diabetes Mellitus Type 2. Emedicine, viewed Juni 2013, <<http://emedicine.medscape.com/article/117853-overview#a0104>>.
- Koswara, 2006, Isoflavon senyawa multi manfaat dalam kedelai, Fakultas Teknologi Pertanian IPB, Bogor.
- Knowles NG, Lanchild MA, Fujimoto WY, Khan SE, 2002, Insulin and Amylin Release Are Both Diminished in First-Degree Relatives of Subjects with Type 2 Diabetes, Diabetes Care(25): 292-297
- Koya D, Hayashi K, Kitada M, Kashiwagi A, Kikkawa R, Haneda M, 2003, Effects of Antioxidants in Diabetes induced Oxidative Stress in the Glomeruli of Diabetic Rats, J Am Soc Nephrol 14: S250-S3.

- Kumar, Vinay, Abbas, Abdul K, Fauston, Nelson, 2010, Robbins & Cotran Dasar Patologis Penyakit, edisi VII, Jakarta, pp: 961-963, 1213-1228.
- Kwon YI, Apostolidis E, Shetty K, 2008, In vitro Studies of Eggplant (*Solanum melongena*) Phenolics as inhibitor of key Enzymes Relevant for type 2 Diabetes and Hypertension (Abstract), *J.biortech*, 99 (8), p. 2981-2988.
- Lee J, Koo N, Min DB, 2004, Reactive oxygen species, aging, and antioxidative nutraceuticals, *Compre Rev. in Food Sci. and Food Safety*, 3, 21-33.
- Lenzen, 2008, The mechanism of alloxan and streptozotocin induced diabetes.
- Malencic D, Cvejic J, Miladinovic J, 2012, Polyphenol Content and Antioxidant Properties of Colored Soybean Seeds From Central Europe, *J Med Food*(15): 85-95.
- Martino HSD, Cardoso LdM, Ribero SMR, Dantas MidS, Piovesan ND, Mejia ED, 2011, Nutritional and Bioactive Compounds of Soybean and Health, *InTech*(21): 465-488.
- Masharani U, Karam JH, 2004, Pancreatic Hormone and Diabetes Mellitus, Dalam: Greenspan FS, Gardner DG, Basic and Clinical endocrinology 7th ed.McGraw Hill.
- Merentek E, 2006, Resistensi Insulin pada diabetes Tipe 2, *Cermin Dunia kedokteran*, Hal-150.
- Muchtadi D, 2010, Kedelai Komponen untuk Kesehatan, *Alfaâ*, Bandung, 20-160.
- Mueller, 2012, Soy intake and risk of type 2 diabetes melitus in Chinese Singaporeans : soy intake and risk of type 2 diabetes, *Eur J nutr*, 2012,51 (8), 1022-1040.
- Nakajima N, Nozaki N, Ishihara K, Ishiwaka A, Tsuji H, 2005, Analysis of isoflavone Content in Tempeh, a fermented Soybean, and Preparation of a New Isoflavone-Enriched Tempeh, *Journal of Bioscience and Bioengineering*, The Society for Biotechnology, Japan,100 (6), 685-687.
- Nizamutdinova IT, Jin YC, Chung JI, Shin SC, Lee SJ, Seo HG, et al, 2009, The antidiabetic effect of anthocyanins in streptozotocin-induced diabetic rats through glucose transporter 4 regulation and prevention of insulin resistance and pancreatic apoptosis, *Mol Nutr Food Res* (11): 1419-1429.
- Nugent DA, Smith DM, Jones HB, 2008, A Review of Islet of Langerhans Degeneration in Rodent Model Of Type 2 DM, *Toxicology pathology* (36), 529-551.
- Nurrahman, Astuti M, Suparno, Soesatyo M, 2012, Peran Tempe Kedelai Hitam dalam Meningkatkan Aktivitas Enzim Antioksidan dan Daya Tahan Limfosit Tikus Terhadap Hidrogen Peroksida In Vivo, Seminar hasil-penelitian LPPM UNIMUS.
- Pokorny JN, Yanishlieva, Gordon M, 2001, Antioxidant in Food, CRC Press, Boca Raton, USA.
- Powers, Alvin C, 2008, Diabetes Mellitus, Dalam Harrison's Principle of Internal Medicine, edisi 17, Anthony S. Fauci et al (eds). The McGraw-Hill Companies Inc, USA, 2, 2275-2304.
- Purnomo S, 2000, Oksidan, antioksidan, dan radikal bebas, Buku naskah lengkap simposium pengaruh radikal bebas terhadap penuaan dalam rangka Lustrum IX FKUA 7 September 1955-2000.
- Purwandari AW, 2007, Kecap, *Ganecca Exact*, Jakarta, 13-21.
- Qian B, Wang H Men X, 2008, TRIB3 is implicated in glucotoxicity and oestrogen receptor stress induced b-cell apoptosis, *J endocrinology* (199): 407-416.
- Ren MQ, Kuhn G, Wegner J, Chen J, 2001, Isoflavones, substances with multibiological and clinical properties, *European Journal of Nutrition*, 40, 135-146.
- Rimbawan, Albiner S, 2004, Indeks Glikemik Pangan, *Penebar Swadaya*, Jakarta, 23-70.
- Rimbach G, De Pascual-Teresa S, Ewins BA, Matsugo S, Uchida Y, Minihane AM, Turner R, VafeiAdou K, Weinberg PD, 2003, Antioxidant and free radical scavenging activity of isoflavone metabolites, *Sep*, 33(9), 913-925.
- Robertson RP, J Harmin, PO Tran, and V Porrourr, 2004, β -cell glucose toxicity, lipotoxicity, and chronic oxidative stress in type 2 diabetes, *Diabetes*(53): S119-S124.
- Santoso U, 2006, Antioksidan, Sekolah Pasca Sarjana Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Schnedl WJ, S ferber, JH Johnson, and CB Newgard, 1994, Streptozotocin transport and cytotoxicity: specific enhancement in GLUT2-expressing cells, *Diabetes* 43(11): 1326-1333.
- Silbernagl S, Lang F, 2007, Teks dan Atlas Berwarna Patofisiologi, EGC, Jakarta, 286-287.
- Soegondo S, 2002, Patofisiologi diabetes melitus terkini, Dalam : Sidartawan Soegondo dkk. Editor: penatalaksanaan diabetes melitus terpadu, Edisi 2, FK UI, Jakarta, 5-18.
- Song CH, Yang BK, Ra KS, Shon DH, Park EJ, Go GI, Kim YH, 1998, Hepatoprotective effect of extracellular polymer produced by submerged culture of *Ganoderma lucidum* WK-003, *J Microbiol Biotechnol*, 8, 277-279.
- Stumvoll M, Goldstein BJ and Van Haeten TW, 2008, Pathogenesis of type 2 DM, Dalam : Goldstein BJ and Wieland DM, Type 2 Diabetes: Principles and practice, Humana Press, 13-27.
- Stumvoll M, Goldstein BJ and Van Haeten TW, 2005, Type 2 diabetes: principles of pathogenesis and therapy, *Lancet* 365: 1333-1346.
- Suarsana IN, 2009, Perubahan Histopatologi Jaringan Pankreas Tikus Diabetes Dengan Pemberian Ekstrak Metanol Tempe. <http://repository.ipb.ac.id/handle/123456789/54971>. [Diakses Tanggal 28 Januari 2014].
- Supranto J, 2007, Teknik Sampling untuk Survei dan Eksperimen, Rineka Cipta, Jakarta
- Suryani N, H Tinny Endang, Aulanni'am, 2013, Pengaruh Ekstrak Biji Mahpni terhadap Peningkatan Kadar Insulin, Penurunan Ekspresi TNF- α Expression and Repairing Pancreatic Tissue Damage on Diabetic Rat, *J Ked. Brawijaya* 27(3): 137-145.
- Szkudelski T, 2001, The Mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas, *Physiol Res*, 50, 537-546.
- Tushuizen M, Bunck M, Pouwel, 2007, Pancreatic Fat Content and Beta Cell Function in Men With and Without Type 2 Diabetes, *Diabetes Care* (30): 2916-

2921.

Utari DM, Rimbawan, Riyadi H, Muhilal, Purwastyastuti, 2010, Pengaruh Pengolahan kedelai Menjadi Tempe Terhadap Kadar isoflavon, PGM, 33(2), 148-153.

Zhang L, Lai E, Teodor T, et al, 2009, GRP 78 but Not Protein Disulfide Isomerase, Partially Reverses Hyperglycemia-induced inhibition of insulin Synthesis and Secretion in Pancreatic Beta Cells, Journal Of Biological Chemistry (284): 5289-5298.