

# KAJIAN: KHASIAT DAN KEAMANAN STEVIA SEBAGAI PEMANIS PENGGANTI GULA

Mariana Raini\* dan Ani Isnawati\*

## *SAFETY AND EFFECT OF STEVIA AS A SWEETENER*

### *Abstract*

*The increasing of diabetic prevalence encouraged scientists to discover sweetener as sugar substitution. Stevia is a perennial shrub (known as Stevia rebaudiana) of the aster family that has been used for hundred of years to sweetening. Stevia is a natural, non caloric, sweet tasting plant known for its pleasant sweet taste without leaving bitter aftertaste. The leaves contain primarily stevioside and rebaudioside. Both have potential for antihyperlicemic and blood pressure lowering effect. Besides its empirical long-use without any reported toxicity in Latin America and Asia, Japan also enhanced its widespread use. Negative side effects of Stevia has not been seen yet. Stevioside and rebaudioside are not genotoxic in vitro or in vivo in animal models and the genotoxicity of steviol and some of its oxidative derivats in vitro are not expressed in vivo. (The study is an assessment derived from 30 of the report studies/review collected from international journals). The objective is to evaluate the biochemical, to study the effect and safety of stevia herb as well as to support its use as sugar substitution particularly for diabetic patients.*

### *Abstrak*

*Meningkatnya prevalensi diabetes mendorong para ilmuwan untuk menemukan pemanis sebagai pengganti gula. Stevia adalah semak perennial (dikenal dengan Stevia rebaudiana) bagian dari keluarga aster yang telah digunakan selama ratusan tahun sebagai pemanis. Stevia alami, non kalori, tanaman yang dikenal dengan rasa manisnya tanpa meninggalkan rasa pahit jika dicicipi. Daunnya mengandung stevioside dan rebaudioside. Keduanya memiliki antihyperlicemic dan berpotensi menurunkan tekanan darah. Efek samping dari stevia belum ada. (Penelitian ini merupakan penilaian yang berasal dari 30 laporan studi/review yang dikumpulkan dari jurnal internasional). Tujuannya adalah untuk mengevaluasi biokimia, untuk mempelajari efek dan keamanan Stevia serta mendukung penggunaannya sebagai pengganti gula terutama untuk pasien diabetes.*

*Key words : Stevia, safety, effects, side effects*

Submit: 19 April 2011 Review 1: 25 April 2011, Riview 2: 25 April 2011, Eligible articles: 2 September 2011

## **Pendahuluan**

**G**ula sebagai pemanis banyak dikonsumsi oleh masyarakat sehari-hari, akan tetapi bila terlalu banyak mengkonsumsi gula dapat menimbulkan efek yang merugikan kesehatan. Pada tahun 1915, asupan gula perorang

pertahun sekitar 17 pound.<sup>1</sup> Secara dramatis, kenaikan tersebut terjadi pada tahun 1980 menjadi 124 pound dan akhir-akhir ini konsumsi gula sekitar 155 pound.<sup>1</sup> Yang menarik, prevalensi penderita diabetes juga meningkat dari 13,6 orang per 100 penduduk pada tahun 1963 menjadi 54,5 per 1000 penduduk pada tahun 2005.<sup>1</sup>

\*Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan

---

---

Hubungan antara konsumsi gula dan penyakit diabetes adalah akibat asupan gula yang tinggi membuat pankreas bekerja keras untuk memproduksi insulin yang dibutuhkan dalam menormalkan kadar gula dalam darah. Produksi insulin yang berlebihan pada akhirnya dapat menimbulkan kelelahan pankreas sehingga produksi insulin akan menurun. Hal ini dapat berakhir dengan tingginya kadar gula dalam tubuh dan akan mengakibatkan diabetes. Diabetes akan membuat banyak komplikasi dalam tubuh.<sup>1,2,3</sup>

Konsumsi gula yang tinggi juga dapat menyebabkan gigi berlubang. Bakteri yang berada di mulut, seperti *Streptococci mutans* akan memfermentasikan gula menjadi asam. Asam ini menempel pada email gigi yang menyebabkan gigi berlubang. Kegemukan, juga sering terjadi pada orang yang mengkonsumsi gula tinggi. Gula dapat mempengaruhi keseimbangan hormonal yang mengakibatkan peningkatan selera makan dan perkembangbiakan jaringan lemak dan selulit. Di samping itu, gula juga mempengaruhi metabolisme kalsium dalam tubuh. *Osteoporosis* dapat timbul karena masalah adanya asimilasi kalsium yang dihubungkan dengan konsumsi gula yang berlebihan. Selain itu, konsumsi gula yang tinggi juga berdampak pada sintesa hormon yang berimplikasi langsung pada koordinasi aktivitas sistem imunitas. Hal ini mengakibatkan imunitas rendah yang dikarakterisasi dengan meningkatnya kemampuan penerimaan tubuh terhadap beberapa penyakit seperti virus, *cystitis*, infeksi kulit. Penyakit lain yang ditimbulkan karena konsumsi gula dalam jumlah besar adalah alergi, *sklerosis*, *gastritis*, *kolitis*, siklus menstruasi yang tidak teratur, *riketsia*, anemia, *sinusitis*, *rinitis*, *astenia*.<sup>2,3</sup>

*Stevia* yang telah digunakan sebagai pemanis alami selama bertahun-tahun di berbagai negara, antara lain di negara-negara Amerika Selatan dan Jepang. Pemanis *stevia* yang berasal dari daun *Stevia rebaudiana* Bertoni merupakan tumbuhan perdu asli dari Paraguay. Daun *stevia* mengandung pemanis alami non kalori dan mampu menghasilkan rasa manis 70-400 kali dari manisnya gula tebu. Pada tahun 1887 peneliti ilmiah Amerika Antonio Bertoni menemukan tanaman *stevia* dan menamakannya *Eupatorium rebaudianum* Bertoni, kemudian dimasukkan dalam genus *stevia* pada tahun 1905. Diduga lebih dari 80 jenis spesies *stevia* tumbuh liar di Amerika Utara dan 200 spesies alami di Amerika Selatan,

namun hanya *Stevia rebaudiana* yang diproduksi sebagai pemanis. Sejak tahun 1970, *stevia* digunakan di Jepang. Ekstrak *stevia* menjadi sangat populer dan sekarang digunakan sebagai pemanis secara komersial dengan pasar di atas 50%. *Stevia* digunakan sebagai pemanis mulai dari saus kedelai, sayur-sayuran hingga minuman ringan. Sebagai pemanis tanpa kalori, tanpa penambahan bahan kimia dan tanpa menimbulkan efek samping yang serius, *stevia* cepat populer di seluruh dunia.<sup>4</sup>

### Kandungan *stevia*

Daun *stevia* mengandung: *apigenin*, *austroinulin*, *avicularin*, *beta-sitosterol*, *caffeic acid*, *kampesterol*, *kariofilen*, *sentaureidin*, *asam klorogenik*, *klorofil*, *kosmosiin*, *sinarosid*, *daukosterol*, *glikosida diterpene*, *dulkosid A-B*, *funikulin*, *formic acid*, *gibberellic acid*, *giberelin*, *indol-3-asetonitril*, *isokuersitrin*, *isosteviol*, *jihanol*, *kaempferol*, *kaurene*, *lupeol*, *luteolin*, *polistakosid*, *kuersetin*, *kuersitrin*, *rebaudiosid A-F*, *skopoletin*, *sterebin A-H*, *steviol*, *steviolbiosid*, *steviolmonosida*, *steviosid*, *steviosid a-3*, *stigmasterol*, *umbelliferon*, dan *santofil* <sup>(5)</sup>. Kandungan utama daun *stevia* adalah derivat *steviol* terutama *steviosid* (4-15%), *rebaudiosid A* (2-4%) dan *C* (1-2%) serta *dulkosida A* (0,4-0,7%).<sup>6</sup>

*Stevia* yang ditanam di Indonesia berasal dari Jepang, Korea dan Cina. Bahan tanaman tersebut berasal dari biji sehingga pertumbuhan tanaman *stevia* di lapangan sangat beragam. Kualitas daun *stevia* dipengaruhi banyak faktor lingkungan seperti jenis tanah, irigasi, penyinaran dan sirkulasi udara. Selain itu juga dipengaruhi oleh gangguan bakteri dan jamur. Kualitas pemanis *stevia* didasarkan atas aroma, rasa, penampilan dan tingkat kemanisannya. Tidak seperti pemanis lainnya, *stevia* tidak memberikan rasa pahit pada akhirnya. Rahasia kemanisan *stevia* terletak pada molekul kompleksnya yang disebut *steviosid* yang merupakan *glikosida* tersusun dari glukosa, *sophorose* dan *steviol*.<sup>7</sup>

*Stevia* menawarkan banyak keuntungan bagi kesehatan yang telah dibuktikan oleh lebih dari 500 penelitian, diantaranya: Tidak mempengaruhi kadar gula darah, aman bagi penderita diabetes, mencegah kerusakan gigi dengan menghambat pertumbuhan bakteri di mulut, membantu memperbaiki pencernaan dan meredakan sakit perut. Baik untuk mengatur berat

---

---

badan, untuk membatasi makanan manis berkalori tinggi.<sup>8</sup>

*Stevia* juga tidak rusak pada suhu tinggi seperti sakarin atau aspartam. Steviosid tahan pada pemanasan hingga 200<sup>0</sup>C (392<sup>0</sup> Fahrenheit), sehingga dapat digunakan pada hampir semua resep makanan.<sup>8</sup>

Meskipun demikian, Badan Pemeriksaan Obat dan Makanan (BPOM) belum mengizinkan *stevia* sebagai pemanis pengganti gula karena belum ada kajian yang membuktikan dampaknya.<sup>9</sup>

Oleh karena itu kajian *stevia* ini bertujuan untuk menganalisis artikel-artikel penelitian *stevia* yang telah dipublikasikan sehingga dapat memberikan informasi kepada masyarakat tentang farmakodinamik, farmakokinetik serta khasiat dan keamanan *stevia* sebagai pemanis pengganti gula bagi penderita diabetes.

### Perumusan Masalah

Pemanis pengganti gula dikenal di kalangan masyarakat sebagai pemanis rendah kalori dan dikonsumsi penderita diabetes. Pemanis pengganti gula yang beredar di pasaran umumnya berasal dari hasil sintesa kimia seperti: aspartame, sakarin, siklamat, dll. Pemanis buatan ini mempunyai rasa manis kurang lebih 200-700 kali gula. Selain itu pemanis ini banyak menimbulkan masalah bagi kesehatan dan diduga dapat menimbulkan kanker, sehingga pemakaiannya dibatasi. Di Indonesia menurut Peraturan Menteri Kesehatan RI No 722/Menkes/Per/IX/88 kadar maksimum asam siklamat yang diperbolehkan dalam makanan berkalori rendah dan untuk penderita diabetes melitus adalah 3 g/kg sebagai bahan makanan/minuman dan WHO menetapkan batas konsumsi harian siklamat yang aman (ADI) adalah 11 mg/kg berat badan.<sup>10</sup> Untuk pemakaian sakarin berdasarkan Peraturan Menteri Kesehatan RI No 208/Menkes/Per/IV/85 tentang pemanis buatan dan Peraturan Menteri Kesehatan RI No 722/Menkes/Per/IX/88 tentang bahan tambahan pangan, menyatakan bahwa pada makanan atau minuman olahan berkalori rendah dan untuk penderita penyakit diabetes melitus kadar maksimum sakarin yang diperbolehkan adalah 300 mg/kg.<sup>10</sup> Oleh karena itu banyak ilmuwan mencari pemanis lain yang lebih alami dengan harapan selain berkhasiat juga aman untuk dikonsumsi.

*Stevia* merupakan pemanis alam yang berasal dari tanaman *Stevia rebusiana Bertoni* dan telah digunakan oleh beberapa Negara sebagai pemanis alami pengganti gula. Sehingga untuk mengetahui khasiat dan keamanannya maka kajian pemanis *stevia* dari aspek efek/khasiat, farmakokinetik–farmakodinamik, uji toksisitas dan uji mutagenesis guna mendapatkan data-data khasiat dan keamanannya yang akan bermanfaat bagi masyarakat.

### Metodologi

Kajian ini merupakan assessment laporan atau artikel penelitian tanaman *stevia* yang telah dipublikasikan di berbagai jurnal ilmiah. Metodologi kajian dilakukan dengan menganalisis khasiat dan keamanan pemanis *stevia* dari 30 artikel/laporan penelitian yang mencakup: farmakokinetik dan farmakodinamik (absorpsi, distribusi, ekskresi), efek dan khasiat, toksisitas (akut, kronik dan mutagenesis), pembahasan dan kesimpulan. Pengumpulan artikel dilakukan dengan *search* artikel *Pubmed*, *Journal* dan lain-lain dengan kata kunci *stevia*, *safety*, *effects* dan *side effects*. Artikel yang diperoleh di dikelompokkan dan dianalisis berdasarkan farmakodinamik, farmakokinetik, khasiat dan keamanan.

### Hasil Dan Pembahasan

#### Farmakodinamik dan farmakokinetik

##### Absorpsi, distribusi dan ekskresi

Steviosid dihidrolisa menjadi steviol, sebelum diabsorpsi pada usus halus. Absorpsi steviosida dan rebausida A sangat rendah dengan koefisien permeabilitas 0,16. 10<sup>-6</sup> dan 0,11. 10<sup>-6</sup> cm/detik, sedangkan steviol pada konsentrasi 100 mmol/l diabsorpsi lebih efektif dengan koefisien permeabilitas yang sangat tinggi yaitu 44,5. 10<sup>-6</sup> cm/detik sedangkan di *secretory* 7,93. 10<sup>-6</sup> cm/detik.<sup>11</sup> Absorpsi aglikon steviol dalam bentuk tunggal (steviol) lebih baik dibandingkan dalam bentuk campuran *stevia* (rebausida A, rebausida C, steviosida dan dulkosida A), lebih dari 93% tersisa dalam cairan mukosal dan 76% steviol diabsorpsi pada kedua duodenum-jejunum dan ileum.<sup>12</sup> Penelitian yang dilakukan oleh Wang dkk, 2004, menunjukkan *steviol* dengan kadar rendah ditemukan dalam plasma setelah 8 jam sejak pemberian secara oral 0,5 g/kgbb steviosid (kemurnian 95%).<sup>13</sup>

---

---

Penelitian untuk mengetahui bio-transformasi *steviosid* dilakukan dengan menginkubasikan 50 mg/l *steviosid* (kemurnian >96%) dalam limbah kotoran ayam (*chicken excreta*) dengan kondisi anaerob selama 24 jam, hasilnya: 20% *steviosid* dihidrolisis menjadi *steviol*.<sup>14</sup>

Penelitian lain juga dilakukan dengan menginkubasikan 40 mg *steviosid* (kemurnian 85%) dan 40 mg *rebausid* A (kemurnian 90%) dalam feses yang berasal dari 11 sukarelawan dengan kondisi anaerob selama 72 jam. *Steviosid* dihidrolisis menjadi aglikon *steviol* dalam 10 jam dan *rebaudiosid* dalam 12 jam. *Steviol* tetap tidak berubah selama 72 jam, menunjukkan enzim bakteri tidak dapat memutuskan struktur *steviol*.<sup>15</sup>

Penelitian mengenai metabolisme dari *steviol* pada tikus dan manusia dilakukan menggunakan preparat *human liver microsomal* yang berasal dari 10 orang donor dan preparat liver microsomal tikus. Profil metabolit yang didapat dari mikrosomal hati manusia serupa dengan tikus, analisis spektrokopi masa menunjukkan adanya 2 dihidroksi metabolit dan 4 monohidroksi metabolit. Satu tambahan monohidroksimetabolit terdapat pada preparat tikus. *Liver microsomal clearance* dari *steviol* pada manusia 4 kali lebih rendah dibandingkan dengan tikus.<sup>13</sup>

### Efek dan khasiat

*Steviosid* mempunyai efek antihiper-glikemik dengan meningkatkan respon insulin dan menekan kadar glukagon dan antihipertensi, secara nyata menekan tekanan darah sistolik dan diastolik pada hewan coba dan manusia.

Efek antihiper-glikemik ditunjukkan dengan penelitian yang dilakukan Jeppesen dkk, 2000, *steviosid* (kemurnian 95%) dengan kadar  $10^{-9}$ - $10^{-3}$  mol/l dan *steviol* (kemurnian 90%) berefek meningkatkan sekresi insulin pada pulau-pulau pankreas tikus dan dalam sel-sel B pankreas (INS-1). Efek maksimal terjadi pada  $10^{-6}$  mol/l *steviol* dan *steviosid*  $10^{-3}$  mol/l. Efek insulinotropik tergantung dari kadar glukosa darah.<sup>16</sup> Juga penelitian dengan menggunakan tikus diabetes tipe 2 *Goto-Kakizaki* yang diberi *steviosid* (kemurnian 96%), dosis 200 mg/kgbb secara intra vena, menunjukkan bahwa *steviosid* dapat menekan glukagon plasma, meningkatkan respon insulin.<sup>17</sup>

Mekanisme kerja *steviosid* sebagai antihiper-glikemik ditunjukkan dengan penelitian yang dilakukan oleh Jeppesen dkk, 2003. *Steviosid* bekerja dengan meningkatkan kandungan insulin dalam sel INS-1, dengan menginduksi gene yang terlibat dalam glikolisis. *Steviosid* mengatur ekspresi liver-jenis *piruvat* dan *asetil koenzim A (CoA) karboksilase* dan ekspresi *karnitin palmitoil transferase 1 (CPT-1)*, rantai panjang *asil-CoA dehidrogenase*, sistolik *epoksida hidrolase* dan *3-oksoasil-CoAtiolase*. Selain itu, *steviosid* juga memperbaiki mekanisme *nutrient sensing*, meningkatkan rantai panjang *sitolik fatty asil-CoA* dan mengatur bagian bawah *fodfodiesterase 1 (PDE1)*. *Steviol* menunjukkan efek yang sama.<sup>18</sup>

Penelitian lain tentang efek *steviosid* terhadap glukosa dalam metabolisme insulin dengan 2 model diabetes pada tikus dilakukan oleh Hsieh dkk, 2004. Tikus yang diinduksi STZ diabetes dan NIDDM diabetes dengan pemberian makanan fruktosa. *Steviosid* dengan kadar 0,5 mg/kg diberikan 2 kali sehari, penurunan kadar glukosa darah pada induksi STZ lebih rendah, dibandingkan dengan NIDDM tikus diabetes. *Steviosid* tergantung dari dosis yang diberikan menurunkan kadar protein dari *fosfofenol piruvat karboksilase (PEPCK)* dan PEPCK mRNA setelah 15 hari pemberian. *Steviosid* juga mengurangi resistensi insulin pada tikus diabetes seperti yang ditunjukkan penurunan kadar glukosa oleh tolbutamid.<sup>19</sup>

Penelitian yang dilakukan Lailerd dkk, 2004, pada tikus Zucker tidak berlemak dan tikus Zucker resisten insulin-obese, diberi 200 mg/kgbb dan 500 mg/kgbb *steviosid* secara oral, hasilnya menunjukkan tidak ada efek pada glukosa plasma, insulin atau kadar asam lemak bebas pada kedua kelompok. Pada dosis lebih tinggi, *steviosid* meningkatkan sensitivitas insulin pada tikus tidak berlemak dan obese. Tidak ada efek yang teramati setelah pemberian 200mg/kgbb *steviosid*.<sup>20</sup>

Penelitian yang dilakukan oleh Hsieh dkk, menunjukkan bahwa *steviosid* sebagai suplemen makanan yang dikombinasikan dengan abalon, suatu protein kebele, *isoflavon* dan serat kotiledon dapat menurunkan kadar glukosa darah pada tikus diabetes tipe 2 dan memperbaiki sindrom metabolik. Kombinasi *steviosid* dan suplemen kebele nampaknya memiliki potensi sebagai pengobatan efektif sejumlah penyakit dengan

---

---

sindrom metabolik, yaitu hiperglikemi, hipertensi, dan dislipidemia.<sup>19</sup>

Efek antihipertensi *steviosid* ditunjukkan dengan penelitian yang menggunakan tikus diabetes tipe 2 *Goto-Kakizaki* yang diberi air minum mengandung 25 mg/kgbb *steviosid* (kemurnian > 99,6%), setiap hari selama 6 minggu, menunjukkan efek antihiperglikemik dengan meningkatkan respon insulin dan menekan kadar glukagon serta secara nyata menekan tekanan darah sistolik dan diastolik.<sup>18</sup>

Penelitian lain yang bertujuan untuk mengevaluasi efek antihipertensi *steviosid* pada tikus dengan strain yang berbeda (*Normotensive Wistar Kyoto* (NTR), *Sensitive Hypertensive Rats* (SHR), *Deoxycorticosterone acetate salt* (DOCA-NaCl) *sensitive Hypertensive Rats* (DHR) dan *Renal Hypertensive Rats* (RHR)). *Steviosid* dengan konsentrasi 50, 100 dan 200 mg/kg diberikan secara intraperitoneal (ip) kepada tikus tersebut. Hasil penelitian menunjukkan bahwa *steviosid* mempunyai efek hipotensi yang signifikan pada tikus dengan strain yang berbeda-beda. Tekanan darah akan kembali pada nilai semula setelah obat dihentikan selama 2-3 hari.<sup>21</sup>

*Steviosid* secara signifikan juga menyebabkan efek hipotensi pada anjing. Hal ini ditunjukkan dengan pemberian *steviosid* 200mg/kg secara nasogastrik akan menghasilkan penurunan tekanan darah pada menit ke 60 dan kembali ke baseline setelah 180 menit. Penurunan tekanan darah terjadi lebih cepat dan efektif setelah injeksi iv *steviosid* 50mg/kgbb, maksimum pada 5-10 menit (20). *Rebausida A*, suatu komponen yang diisolasi dari daun tanaman *Stevia rebaudiana Bertonii* (SrB) menunjukkan efek yang sama dengan *steviosid*.<sup>22</sup>

### **Efek steviosid pada manusia ditunjukkan oleh penelitian berikut ini**

Penelitian uji toleransi glukosa dari ekstrak 5 gram daun *stevia rebaudiana* yang diberikan setiap 6 jam selama 3 hari pada 16 sukarelawan, secara signifikan meningkatkan toleransi glukosa, mengurangi kadar gula dalam plasma selama pengujian dan setelah puasa semalam pada seluruh sukarelawan.<sup>23</sup>

Penelitian tentang suplementasi 1 gram *steviosid* dalam makanan pada 12 pasien diabetes tipe 2 yang tergolong akut, menunjukkan adanya penurunan kadar glukosa darah sesudah makan.

*Steviosid* meningkatkan Indeks insulin sekitar 40% dibandingkan dengan kontrol (P=0,01). *Steviosid* mengurangi kadar gula darah setelah makan.<sup>24</sup>

Penelitian yang bertujuan untuk menentukan efek *steviosid* pada *Left Ventricular Mass Index* (LVMI) dan *Quality of Life* (QOL), menggunakan metoda : multicenter, secara acak, double-blind, placebo control trial di Cina. Penelitian ini dilakukan pada wanita dan pria antara 20-75 tahun yang mengidap hipertensi ringan dengan tekanan darah sistolik 140-159 mm Hg dan tekanan diastolik 90-99 mm Hg. Pasien mendapatkan 500mg serbuk *steviosid* atau plasebo 3 kali sehari selama 2 tahun. Penelitian ini menunjukkan pemberian oral *steviosid* pada pasien yang hipertensi ringan, secara signifikan menurunkan tekanan darah sistol dan diastol dibandingkan dengan plasebo. Kualitas hidup (QOL) juga meningkat, dan tidak ada efek samping yang dicatat.<sup>20</sup>

Penelitian yang dilakukan untuk mengevaluasi pengaruh *glikosida steviol* terhadap kadar glukosa dan tekanan darah pada 3 kelompok individu (diabetes tipe 1, tipe 2 dan tanpa diabetes dan tekanan darah normal), dilakukan secara *random, double blind, placebo control*, selama 3 bulan menunjukkan tidak ada perbedaan signifikan pada kadar gula darah, HbA1c, tekanan darah. *Steviosid* dengan kadar 250 mg/hari aman tanpa efek farmakologi.<sup>25</sup>

Penelitian yang dilakukan di Uruguay pada laboratorium menggunakan hewan coba dan manusia dengan diabetes tipe 1 dan 2 menunjukkan tidak ada perubahan yang signifikan pada tekanan darah, kadar glukosa darah dan *glycated hemoglobin* (HbA1c) atau kadar glukosa darah dalam perioda beberapa bulan. Meskipun demikian ditemukan juga bahwa *stevia* aman, tidak ada efek samping yang terjadi selama penelitian.<sup>25</sup>

Penelitian yang sama menggunakan *rebausida A* dilakukan pada 120 subyek dengan diabetes tipe 2 menunjukkan tidak ada perubahan yang signifikan pada HbA1c, kadar gula puasa, pelepasan insulin dan kadar C-peptida.<sup>25</sup>

### **Toksikologi**

#### **Toksisitas akut**

Penelitian tentang toksisitas akut dilakukan pada 16 ayam broiler dan 4 ayam sedang bertelur

---

---

yang diberikan *steviosid* (kemurnian >96%) kadar 667/mg/kg pada makanan hewan selama 14 dan 10 hari. Tidak ada perbedaan signifikan dalam asupan makanan, capaian berat badan dan perubahan pola makan.<sup>14</sup>

### Toksisitas kronik

Penelitian tentang toksisitas kronik dilakukan dengan menambahkan *steviosid* (kemurnian 95,6%) pada makanan tikus. Pada makanan seratus tikus Fischer 344 yang terdiri dari 50 jantan dan 50 betina ditambahkan *steviosid* dengan kadar 0, 2,5 dan 5% (setara dengan 0,970 dan 2000mg/kgbb) untuk jantan dan kadar 0, 1100 dan 2400 mg/kgbb untuk betina, setiap hari selama 104 minggu. Dosis dievaluasi setiap 13 minggu. Hasil analisis menunjukkan berat badan tikus sedikit menurun dan hubungan dosis-respon terlihat pada jantan (2,3% dan 4,4%) dan betina (2,4% dan 9,2%) pada dosis terendah dan tertinggi. Pola konsumsi makan tidak berbeda pada ke-2 kelompok. Survival rate pada tikus jantan yang menerima *steviosid* 5% secara signifikan menurun (60%) dibandingkan dengan kontrol (78%). Pada hewan betina dan jantan yang mendapat *steviosid* dosis tinggi, berat ginjal rendah, tidak ada bukti *hispatologikal neoplastik* atau *lesi non neoplastik* yang disebabkan perlakuan pada jaringan atau organ kecuali adanya penurunan insiden *mammary adenomas* pada betina dan mengurangi keparahan kronik nefropati pada tikus jantan. Peneliti menyimpulkan bahwa *steviosid* tidak bersifat karsinogenik pada tikus Fischer 344 yang digunakan pada penelitian ini.<sup>26,27</sup>

Penelitian lain tentang toksisitas kronik *steviosid* (kemurnian tidak ditetapkan) dilakukan melalui model 2 tahap karsinogenik kulit pada mencit. Kelompok pertama terdiri dari 15 mencit ICR jantan diawali dengan pemberian 7,12-*dimetilbenzaantrasen* (DMBA, 100mg) secara topikal. Satu minggu kemudian mencit tsb diberikan 12-*O-tetradekanoilforbol-13-asetat* (TPA 1mg) 2 kali per minggu selama 20 minggu. Pemberian 68 mg *steviosid* secara topikal dilakukan 1jam sebelum diberikan TPA. *Steviosid* secara signifikan menurunkan risiko mencit yang terkena *papilloma* pada 10 dan 15 minggu.<sup>27</sup> Penelitian yang sama dilakukan pada kelompok yang terdiri dari 15 mencit betina *SENCAR* yang diawali dengan pemberian 33,1 mg *peroksinitril* diikuti dengan pemberian TPA dua kali

perminggu selama 20 minggu. Mencit-mencit tersebut diberi air minum yang mengandung 0,0025% *steviosida* dimulai 1 minggu sebelum sampai 1 minggu setelah terbentuknya tumor. *Steviosida* secara signifikan menurunkan risiko tumbuhnya papiloma pada mencit pada 10 dan 15 minggu dan jumlah papilloma tiap mencit pada 10, 15, 20 minggu.<sup>28</sup>

*Steviosid* mempunyai toksisitas akut (LD 50) pada tikus, mencit dan hamster berkisar 8-15 g/kgbb/hari dan ADI (*Acceptable Daily Intake*) adalah 7,9 mg/kgbb/hari berdasarkan NOEL (*No Observed Effect Level* 970 mg/kgbb. Menurut literatur ADI diperkirakan 20 lebih dari mg/kgbb (Geuns, 2002). Sedangkan *steviol* mempunyai ADI 0-2 mg/kgbb/hari berdasarkan NOEL 383 mg/kgbb/hari.<sup>29</sup>

### Mutagenesitas

*Steviol* dan derivatnya *steviol-16*, *17-epoksida*, *15-okso-steviol*, *steviol metilester* dan *13,16-seco-13-okso-steviol metilester* menyebabkan mutasi pada *S typhimurium* TM677 dengan adanya aktivasi sistem metabolik. Sistem metabolit menurunkan mutagenesitas *steviol metilester 8,13-lakton*. Hasil: 15  $\alpha$ -hidroksi *steviol*, *steviol metilester*, dan *13,16-seco-13 $\alpha$ -hidroksi-steviol metilester* memberikan hasil negatif.<sup>30</sup>

*Steviol* memberikan hasil negatif dalam penentuan mutasi sel dan kerusakan DNA dalam sel kultur.<sup>30,31</sup>

Penelitian pengaruh *Steviol* (kemurnian > 99%) terhadap kerusakan DNA menggunakan metoda Comet yang dilakukan oleh 2 intitusi penelitian independen. Penelitian pertama merupakan 1 kelompok terdiri dari 4 mencit BDF1 jantan diberikan *steviol* dengan dosis 0, 250, 500 dan 2000 mg/kgbb, *liver*, perut dan kolon dilakukan pengujian untuk adanya komet. Penelitian yang ke 2, terdiri dari 4 mencit jantan CRJ:CD-1 diberikan *steviol* dengan dosis 0, 500, 1000 dan 2000mg/kgbb, *liver*, ginjal, usus besar dan testis dilakukan pengujian untuk adanya komet. Kedua kelompok mencit-mencit dikorbankan pada 3 jam dan 24 jam setelah pemberian *steviol* dan sebagai kontrol positif digunakan *metilmetansulfonat* (MMS). Tidak ada perbedaan yang signifikan dalam migrasi DNA pada organ-organ yang diuji. MMS memberikan respons

positif dalam semua organ yang diuji dalam kedua penelitian.<sup>31,32</sup>

Penelitian tentang pengaruh *Steviol* (kemurnian  $\pm$  90%) terhadap formasi mikronuklei pada sumsum tulang *Syrian golden hamsters*, tikus *Wistar*, mencit *Swiss Albino*. Tiap kelompok terdiri dari 20 hewan betina dan 20 jantan diberikan *steviol* dengan dosis 4000 mg/kgbb (hamster), 8000mg/kgbb (tikus dan mencit). Lima hewan tiap kelompok dikorbankan pada 24, 30, 48 dan 72 jam setelah pemberian *steviol*. Sebagai kontrol positif diberikan *siklofosfamida* dan dikorbankan 30jam setelah pemberian. Tidak ada peningkatan yang signifikan pada frekuensi

*mikronukleat polikromatik eritrosit* (PCEs) dalam setiap kelompok yang mendapat *steviosid*. Rasio PCEs terhadap *normokromatik eritrosit* (NCEs) secara signifikan berkurang pada hamster betina 72 jam, tikus 48 jam, dan mencit betina 72 jam setelah pemberian. Rasio PCE : NCE tidak berubah pada hewan betina. *Siklofosfamida* menginduksi respon positif.<sup>33</sup>

Penelitian tentang genotoksisitas ekstrak *stevia* murni dan komponen utamanya, (*steviosid* dan *rebaudiosid A*), *steviol* dan derivat *stevia* dapat dilihat pada tabel 1.

**Tabel 1. Pengujian Genotoksisitas Stevia Ekstrak dan Komponen Utamanya (Steviosid, Rebaudiosid A), Beserta Steviol Dan Derivat Stevia<sup>29</sup>**

End point	Uji	Bahan	Kemurnian (%)	Dosis	Hasil	Pustaka
Invitro Reverse mutation	S.typhymurium TA98, TA100	Steviosid	99	50 mg/plate	Negatif	Suttajit dkk, 1993
Reverse mutation	S.typhymurium TA97,TA98, TA100, T102, TA104,TA1535, TA1537	Steviosid	83	5 mg/plate	Negatif	Matsui dkk,1996a
Forward mutation	S.typhymurium TM677	Steviosid	83	10 mg/plate	Negatif	Matsui dkk,1996
Forward mutation	S.typhymurium TM677	Steviosid	Tdk dijelaskan	Tdk dijelaskan	Negatif	Medon dkk, 1982
Forward mutation	S.typhymurium TM677	Steviosid	Tdk dijelaskan	10 mg/plate	Negatif	Pezzuto dkk, 1985
Gene mutation (umu)	S.typhymurium TA1535,pSK1002	Steviosid	83	5mg/plate	Negatif	Matsui dkk, 1996
Gene mutation	B.subtilis H17rec+, M45 rec-	Steviosid	83	10mg/disk	Negatif	Matsui dkk,1996
Gene mutation	Mouse lymphoma L5178Y cells, Tk+/- locus	Steviosid	Tdk dijelaskan	5mg/ml	Negatif	Oh dkk,1999
Chromosomal aberration	Chinese hamster lung fibroblast	Steviosid	83	8mg/ml 12mg/ml	Negatif	Matsui dkk,1996
Chromosomal aberration	Human lymphocytes	Steviosid	Tdk dijelaskan	10mg/ml	Negatif	Suttajit dkk,1993
Chromosomal aberration	Chinese hamster lung fibroblast	Steviosid	85	12mg/ml	Negatif	Ishidate dkk, 1984
Chromosome CHL/IU aberration	Chinese hamster lung fibroblast	Rebaudiosid A	Tdk dijelaskan	1,2-55mg/ml	Negatif	Nakajima, 2000

In vivo Mutation	D melanogaster Muller 5 strain,	Steviosid	Tdk dijelaskan	2% dalam makanan	Negatif	Kerr dkk,1983
DNA damage (cara comet)	tikus jantan BDF1, stomach,kolon, liver	Ekstrak stevia	Steviosid 52 Rebausid A 22	250-2000mg/kg	Negatif	Sekihashi dkk, 2000
DNA damage (metoda comet)	Stomach tikus jantan ddY, kolon, liver, ginjal, bladder, paru,otak, sumsum tulang	Stevia	Tdk dijelaskan	2000mg/kg	Negatif	Sasaki dkk, 2002
Micronucleus formation	Sumsum tulang tikus ddy dan regenerating liver	Steviosid	Tdk dijelaskan	250mg/kg	Negatif	Oh dkk,1999
Micronucleus formation	Sumsum tulang tikus BDF1	Rebaudiosid	Tdk dijelaskan	500-2000 mg/kgbb tiap hari selama 2 hari	Negatif	Nakajima dkk, 2000
In vitro Reverse mutation	S.typhimurium TA98,TA100	Steviol	Tdk dijelaskan	20mg/plate	Negatif	Suttajit dkk,1993
Reverse mutation	S.typhimurium TA97,TA100, TA102,TA104, TA1535,TA1537	Steviol	99	5mg/plate	Negatif	Matsui dkk,1996
Forward mutation	S.typhimurium TM677	Steviol	Tdk dijelaskan	10mg/plate 0,5-10 mg/plate (a)	Negatif Positif	Matsui dkk, 1996
Forward mutation	S.typhimurium TM677	Steviol	Tdk dijelaskan	10mg/plate 10mg/plate (a)	Negatif Positif	Pezzuto dkk,1985
Forward mutation	S.typhimurium TM677	Steviol	Tdk dijelaskan	Tdk dijelaskan (a)	Positif	Terai dkk, 2002
Forward mutation	S.typhimurium TM677	Steviol-16,17-epoksi	Tdk dijelaskan	Tdk dijelaskan (a)	Positif	Terai dkk, 2002
Forward mutation	S.typhimurium TM677	15a-hidroksi steviol	Tdk dijelaskan	Tdk dijelaskan	Negatif	Terai dkk, 2002
Forward mutation	S.typhimurium TM677	15-okso-steviol	Tdk dijelaskan	Tdk dijelaskan (a)	Positif	Terai dkk, 2002
Forward mutation	S.typhimurium TM677	Steviol metilester	Tdk dijelaskan	Tdk dijelaskan (a)	Positif	Terai dkk, 2002
Forward mutation	S.typhimurium TM677	16-okso-steviol metilester	Tdk dijelaskan	Tdk dijelaskan	Negatif	Terai dkk, 2002



Forward mutation	S.typhimurium TM677	13,16- seco- 13-oxo-steviol metilester	Tdk dijelaskan	Tdk dijelaskan	Positif	Terai dkk, 2002
End point	Uji	Bahan	Kemurnian (%)	Dosis	Hasil	Pustaka
Forward mutation	S.typhimurium TM677	13,16- seco-13-okso-13a hidroksi steviol metilester	Tdk dijelaskan	Tdk dijelaskan	Negatif	Terai dkk, 2002
Forward mutation	S.typhimurium TM677 8,13 lakton	Steviol metilester 8,13 lakton	Tdk dijelaskan	Tdk dijelaskan (b)	Positif	Terai dkk, 2002
Gene mutation	S.typhimurium TA 1535/pSK1002	Steviol	99	625-1250 mg/plate (c) 1259-25000 mg/plate (a)	Positif Positif	Matsui dkk, 1996
Gene mutation	B.subtilis H17 rec+, M45/rec-	Steviol	99	10mg/disk	Negatif	Matsui dkk, 1996
Gene mutation	Chinese hamster lung fibroblast	Steviol	99	400mg/ml (a)	Positif	Matsui dkk, 1996
Gene mutation	Lymphoma tikus L5178Y cell, Tk+/- locus	Steviol	Tdk dijelaskan	0,5mg/ml	Negatif	Oh dkk, 1999
Chromosomal aberration	Chinese hamster lung fibroblast	Steviol	Tdk dijelaskan	0,5g/ml 1-1,5mg/ml(a)	Negatif Positif	Matsui dkk, 1996
Chromosomal aberration (metoda comet)	Human lymphocytes	Steviol	Tdk dijelaskan	0,2 mg/ml	Negatif	Sekihashi dkk, 2002
In vivo DNA damage (metoda comet)	Tikus jantan BDF1, stomach,colon,liver CRJ:CD1 liver, ginjal,colon, testis	Steviol	>99	250-2000 mg/kg	Negatif	Sekihashi dkk, 2002
Micronucleus	Mencit MS/AE	Steviol	99	1000mg/kg	Negatif	Matsui dkk, 1996
Micronucleus	Sumsum tulang tikus Swiss	Steviol	± 90	8000mg/kg	Negatif	Temcharoen dkk, 2000
Micronucleus	Sumsum tulang tikus Wistar	Steviol	± 90	4000mg/kgbb	Negatif	Temcharoen dkk, 2000
Micronucleus	Syrian golden hamster	Steviol	± 90	4000mg/kgbb	Negatif	Temcharoendkk, 2000
Micronucleus	Tikus ddY regenerating liver	Steviol	Tdk dijelaskan	200-500 mg/kg	Negatif	Oh dkk, 1999

Keterangan : (a) dengan aktivasi metabolit; (b) adanya aktivasi metabolit mengurangi mutagenisitas; (c) tanpa aktivasi metabolit

---

---

Pengujian mutagenisitas *steviosid* (15 penelitian), *rebaudiosid A* (2 penelitian), menunjukkan semua hasil negatif. *Steviosid* dan *rebaudiosid A* yang merupakan komponen terbesar dalam daun *stevia*, tidak bersifat mutagenik. Sedangkan pengujian mutagenisitas *steviol* dan turunannya memberikan hasil negatif pada 17 penelitian dan positif pada 12 penelitian. Adanya mutagenisitas ini umumnya terjadi pada dosis yang tinggi. Walaupun secara *in vitro* *steviol* menunjukkan sifat mutagen, namun secara *in vivo* sifat ini tidak terlihat pada hewan coba mencit, tikus dan hamster hingga dosis di atas 8000mg/kgbb.<sup>29</sup>

Kadar *Steviol* hanya sedikit terdapat dalam daun *stevia* tetapi perlu adanya pengaturan dosis *stevia*, sesuai dengan yang dikeluarkan oleh FDA bahwa *stevia* sejak tahun 2008 diizinkan untuk digunakan sebagai “*dietary supplement*”, FDA menggolongkan *stevia* dengan kategori GRAS (*Generally Recognize As Safe*).

Meskipun *stevia* banyak digunakan sebagai pemanis di banyak negara khususnya di Amerika Latin dan Jepang, namun Uni Eropa melarang penggunaan *stevia* sampai dilakukan penelitian lebih lanjut. Sedangkan Cina dan Singapura melarang penggunaan *stevia*. Pada April 2010 *European Food Safety Authority* (EFSA) dalam panel *Food Additive and Nutrient Source* (ANS) memberikan opini positif tentang keamanan glikosida *steviol* sebagai *food additive*.<sup>34</sup>

Menurut WHO *Acceptable Daily Intake* untuk glikosida *steviol* 4 mg/kgbb/hari.<sup>34</sup> Dosis maksimum yang dianjurkan di negara Jepang 3 mg/kgbb/hari, dan di Amerika 5 mg/kgbb/hari pada dosis tersebut *stevia* aman sebagai pemanis pengganti gula namun tidak berkhasiat?<sup>29</sup>

*Stevia* ditunjuk sebagai produk aman oleh FDA berdasarkan pada hasil konsumsi 1500 mg perhari selama dua tahun. Bagaimanapun, FDA tidak merekomendasikan *stevia* digunakan bagi wanita hamil dan menyusui, paling tidak hingga penelitian dalam jangka panjang dilakukan.

WHO pada tahun 2006 menyimpulkan bahwa *steviosid* dan *rebaudiosid A* tidak bersifat mutagenik baik secara *in vitro* maupun *in vivo* dan mutagenisitas *steviol* dan derivatnya yang positif secara *in vitro* tidak dapat diekspresikan pada *in vivo*.<sup>35</sup> WHO juga melaporkan bahwa *steviosid*, *rebaudiosid A* dan *steviol* tidak bersifat karsinogenik, *steviosid* juga memberikan efek

farmakologi pada pasien hipertensi dan/atau diabetes tipe 2 tetapi memerlukan penelitian lebih lanjut untuk penentuan dosis.<sup>35</sup>

## Kesimpulan

*Steviosid* dan *rebaudiosid A* dihidrolisis menjadi *steviolbiosid* kemudian dengan cepat diubah menjadi *steviol*, sebelum diabsorpsi pada usus halus. *Steviosid* dihidrolisis lebih lambat dibandingkan dengan *rebaudiosid A*. Absorpsi *stevia* dalam bentuk aglikon *steviol* lebih mudah dibandingkan dengan bentuk glikosida dan absorbs dalam bentuk tunggal lebih mudah dibandingkan dengan campuran.

*Steviosid* dan *rebaudiosid A* aman, tidak bersifat mutagenik dan tidak memberikan khasiat dan efek samping pada dosis rendah. Efek sebagai *insulinotropik*, antidiabetik dan antihipertensi terjadi pada dosis yang cukup tinggi.

Sedangkan *steviol* bersifat mutagenik secara *in vitro* terutama dengan adanya aktivasi metabolit namun secara *in vivo* tidak bersifat mutagenik.

## Saran

Pemanis *stevia* dapat digunakan oleh masyarakat sebagai pengganti gula khususnya bagi penderita diabetes mellitus, dengan dosis maksimum 3 mg/kgbb/hr.

## Daftar Pustaka

1. Danger and side effects of sugar, diperoleh dari <http://www.steviacafe.net/danger-and-side-effects-of-sugar>, pada tgl 27 Maret 2010
2. The side effects of sugar eating, diperoleh dari [http://www.shedyourweight.com/the\\_side\\_effects\\_of\\_sugar\\_eating.html](http://www.shedyourweight.com/the_side_effects_of_sugar_eating.html), pada tgl 20 Mei 2010
3. Pick M., Sugarsubstitutes and the potential danger of Splenda, diperoleh dari <http://www.dorway.com/stevia.html>, pada tgl 10 November 2010
4. Garnier L., The dark side of white sugar, Sugar: Biogassendi 25 yearsof experience, personal advice result, Nutritional and Public Health, diperoleh <http://biorganic.perso.sfr.fr/sugar.htm>, pada tgl 6 April 2010.

5. Tropical Plant Database, Database file for Stevia (*Stevia rebaudiana*) diperoleh dari <http://www.rain-tree.com/plants.htm>, pada tanggal 1 September 2010
6. Opinion on Stevia Rebaudiana Bertoni Plants and Leaves, 17 Juni 1999, European Commission, Directorate General XXIV Consumer Policy and Consumer on Health Protection, Scientific Committee on Food.
7. Gula Stevia-Gula Sehat Bagi Penderita Diabetes dan Obesitas, diperoleh dari <http://www.mandala.co.id/artikel/gula-stevia-gula-sehat-bagi-penderita-diabetes-dan-obesitas.html>, pada tgl 27 Maret 2010
8. Information and Recipe Database, diperoleh dari [http://www.cookingwithstevia.com/stevia\\_fa\\_q.html](http://www.cookingwithstevia.com/stevia_fa_q.html), pada tgl 1 September 2010
9. Siklamat vs Stevia, diperoleh dari [http://tech.groups.yahoo.com/group/kimia\\_in\\_donesia/message/7254](http://tech.groups.yahoo.com/group/kimia_in_donesia/message/7254), pada tgl 10 September 2011
10. Kajian Keamanan Bahan Tambahan Pangan Pemanis Buatan, diperoleh dari <http://www.pom.go.id/nonpublic/makanan/standar/news1.html>, pada tanggal 10 Oktober 2011
11. Geuns, J.M.C., Augustijns, P., Mols, R., Buyse, J.G. & Driessen, B. (2003) Metabolism of stevioside in pigs and intestinal absorption characteristics of stevioside, rebaudioside A and steviol. *Food Chem. Toxicol.*, 41, 1599–1607.
12. Koyama, E., Sakai, N., Otori, Y., Kitazawa, K., Izawa, O., Kakegawa, K., Fujino, A. & Ui, M. (2003a) Absorption and metabolism of glycosidic sweeteners of *Stevia* mixture and their aglycone, steviol in rats and humans. *Food Chem. Toxicol.*, 41, 875–883.
13. Wang, L.Z., Goh, B.C., Fan, L. & Lee, H.S. (2004). Sensitive high-performance liquid chromatography/mass spectrometry method for determination of steviol in rat plasma. *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, 18, 83–86.
14. Geuns, J.M.C., Malheiros, R.D., Moraes, V.M.B., Decuyper, E.M.P., Compennolle, F. & Buyse, J.G. (2003) Metabolism of stevioside by chickens. *J. Agri. Food Chem.*, 51, 1095–1101.
15. Gardana, C., Simonetti, P., Canzi, E., Zanchi, R. & Pieta, P. (2003) Metabolism of stevioside and rebaudioside A from *Stevia rebaudiana* extracts by human microflora. *J. Agri. Food Chem.*, 51, 6618–6622.
16. Jeppesen, P., Gregersen, S., Poulsen, C.R. & Hermansen, K. (2000) Stevioside acts directly on pancreatic  $\beta$  cells to secrete insulin: actions independent of cyclic adenosine monophosphate and adenosine triphosphate-sensitive  $K^+$ -channel activity. *Metabolism*, 49, 208–214.
17. Jeppesen, P., Gregersen, S., Alstrup, K.K. & Hermansen, K. (2002) Stevioside induces antihyperglycaemic, insulinotropic and gluconostatic effects in vivo: studies in the diabetic Goto-Kakizaki (GK) rats. *Phytomedicine*, 9, 9–14.
18. Jeppesen, P., Gregersen, S., Rolfsen, S.E.D., Jepsen, M., Colombo, M., Agger, A., Xiao, J., Kruhoffer, M., Orntoft, T. & Hermansen, K. (2003) Antihyperglycemic and blood pressure-reducing effects of stevioside in the diabetic Goto-Kakizaki rat. *Metabolism*, 52, 372–378.
19. Hsieh, M., Chan, P., Sue, Y., Liu, J., Liang, T., Huang, T., Tomlinson, B., Chow, M.S., Kao, P. & Chen, Y. (2003) Efficacy and tolerability of oral stevioside in patients with mild essential hypertension: A two-year, randomised, placebo-controlled study. *Clin. Therap.*, 25, 2797–2808.
20. Lailerd, N., Saengsirisuwan, V., Sloniger, J.A., Toskulkao, C. & Henriksen, E.J. (2004) Effects of stevioside on glucose transport activity in insulin sensitive and insulin resistant rat skeletal muscle. *Metabolism*, 53, 101–107.
21. Hsu, Y., Liu, J., Kao, P., Lee, C., Chen, Y., Hsieh, M. & Chan, P. (2002) Antihypertensive effect of stevioside in different strains of hypertensive rats. *Chinese Med. J. (Taipei)*, 65, 1–6.
22. Liu, J., Kao, P., Chan, P., Hsu, Y., Hou, C., Lien, G., Hsieh, M., Chen, Y. & Cheng, J. (2003) Mechanism of the antihypertensive effect of stevioside in anesthetized dogs. *Pharmacology*, 67, 14–20.
23. Curi, Alvarez M, Bazotte RB, Botion LM, Godoy JL, Bracht A, Effect of *Stevia rebaudiana* on glucose tolerance in normal

- adult humans, *Braz. J. Med. Biol., Res.* 19 (6) 771-4, PMID 3651629
24. Abudula R, Jeppesen PB, Rolfsen SE, Xiao J, Hermansen K., Rebaudiosid A potently stimulates insulin secretion from isolates mouse islets on the dose, glucose and calcium dependency, *Metab., Clin., Exp.*, 2004, Jan; 53 (1): 1378-81 diperoleh dari <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14681845?dopt=Abstract>, tgl 15 Maret 2010
  25. Barriocanal LA, Palasios M, Benitez G, Benitez S, Jimenez JT, Jimenez N, Rojas V. Apparent lack of pharmacological effect of steviol glycosides used as sweeteners in humans. A pilot study of repeated exposures in some normotensive and hypotensive individuals and in Type 1 and Type 2 diabetics. *Regul Toxicol Pharmacol.* 2008 Jun; 51(1):37-41. Epub 2008 Mar 5. PMID: 18397817
  26. Toyoda, K., Kawanishi, T., Uneyama, C. & Takahashi, M. (1995) Re-evaluation of the safety of a food additive (reported in fiscal 1994). A chronic toxicity/carcinogenicity study of stevioside (a substance extracted from *Stevia*): final report. Unpublished report from Division of Pathology, Biological Safety Research Center, National Institute of Health Sciences, Japan. Submitted to WHO by the Ministry of Health and Welfare, Food Chemistry Division, Japan.
  27. Toyoda, K., Matsui, H., Shoda, T., Uneyama, C. & Takahashi, M. (1997) Assessment of the carcinogenicity of stevioside in F344 rats. *Food Chem. Toxicol.* 35, 597–603.
  28. Benford D.J., DiNovi M., Schlatter J., *Steviol Glycosides*, Food Standards Agency, London, United Kingdom; Division of Biotechnology and GRAS Notice Review, Office of Food Additive Safety, Center for Food Safety and Applied Nutrition, Food and Drug Administration, College Park, MD, USA; and Food Toxicology Section, Swiss Federal Office of Public Health; Zürich, Switzerland
  29. Konoshima, T. & Takasaki, M. (2002) Cancer-chemopreventive effects of natural sweeteners and related compounds. *Pure Appl. Chem.*, 74, 1309–1316.
  30. Terai, T., Ren, H., Mori, G., Yamaguchi, Y. & Hayashi, T. (2002) Mutagenicity of steviol and its oxidative derivatives in *Salmonella typhimurium* TM677. *Chem. Pharm. Bull.*, 1007–1010.
  31. Oh, H., Han, E., Choi, D., Kim, J., Eom, M., Kang, I., Kang, H. & Ha, K. (1999) In vitro and in vivo evaluation of genotoxicity of stevioside and steviol, natural sweetener. *J. Pharm. Soc. Korea*, 43, 614–622.
  32. Sekihashi, K., Saitoh, H. & Sasaki, Y.F. (2002) Genotoxicity studies of *Stevia* extract and steviol by the comet assay. *J. Toxicol. Sci.*, 27, 1–8.
  33. Temcharoen, P., Klopanichpah, S., Glinsukon, T., Suwannatrai, M., Apibal, S. & Toskulkao, C. (2000) Evaluation of the effect of steviol on chromosomal damage using micronucleus test in three laboratory animal species. *J. Med. Assoc. Thai.*, 83, s101–s108.
  34. Rogol AD, *Stevia Sciences and Diabetes Mellitus*, Global stevia Institute, diperoleh dari <http://www.globalstevia.institute.com/en/EducationCenter.aspx>, pada tgl 1 September 2010
  35. Benford, D.J.; DiNovi, M., Schlatter, J. (2006). "Safety Evaluation of Certain Food Additives: Steviol Glycosides" (PDF – 18 MB). *WHO Food Additives Series* (World Health Organization Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA)) 54: 140. [http://whqlibdoc.who.int/publications/2006/9241660546\\_eng.pdf](http://whqlibdoc.who.int/publications/2006/9241660546_eng.pdf).