



## **Ekstrak Bawang Putih (*Allium sativum*) dan Ekspresi Insulin serta Derajat Insulinitis Pankreas Tikus Sprague-Dawley yang Diinduksi Streptozotocin**

Meira Dewi \*, Indra Wijaya \*, Noor Wijayahadi \*\*

### **ABSTRACT**

*Allium sativum*, insulin expression and insulinitis degree of pancreas Sprague-Dawley rat induced by streptozotocin

**Background:** The organic-sulphur content in *Allium sativum* has been scientifically proven to be a potent insulin-mimetic, anti-oxidant, and anti-inflammation agent by inhibiting the activity of NF- $\kappa$ B. This research is aimed at finding out the effect of *Allium sativum* extract towards insulinitis level and insulin expression in pancreas of Sprague-Dawley male rats.

**Method:** This research used a randomized post test only controlled group design. There were 28 rats, two were randomly selected for the initial blood glucose test prior to treatment, two were selected on the tenth day after streptozotocin induction to ensure that all rats were in hyperglycaemia condition, and the remains as many as 24 rats were grouped into four groups: three treatment groups were administered with *Allium sativum* in levelled doses of 0.1, 0.25, 0.5 grams/kgBW/day for 14 days, and one group were act as control negative. Kruskall Wallis test continued with Mann Whitney test were used, with significance level of  $p < 0.05$ .

**Results:** The insulinitis level and insulin expression of rats' pancreas in the three treatment groups showed significant difference compared with the group without treatment showing dose-dependent result. However, it was not able to completely restore the damage pancreas.

**Conclusion:** *Allium sativum* extract may play important role in restoring damage pancreas.

**Keywords:** *Allium sativum*, streptozotocin, insulin expression, level of insulinitis

### **ABSTRAK**

**Latar belakang:** Kandungan organosulfur pada *Allium sativum* secara ilmiah memiliki berbagai potensi sebagai agen insulinomimetik, antioksidan dan antiinflamasi dengan menghambat aktivitas NF- $\kappa$ B. Penelitian ini bertujuan untuk melihat pengaruh pemberian ekstrak *Allium sativum* terhadap derajat insulinitis dan ekspresi insulin pankreas tikus Sprague-Dawley jantan.

**Metode:** Penelitian ini menggunakan desain randomized post test only controlled group. Hewan coba sebanyak 28 ekor tikus, dua ekor tikus diambil acak sebelum perlakuan untuk diperiksa gula darah awal, dua ekor setelah hari ke sepuluh induksi streptozotocin untuk memastikan tikus sudah dalam keadaan hiperglikemia dan sisanya dua puluh empat ekor tikus, dibagi dalam empat kelompok: tiga kelompok perlakuan diberi ekstrak *Allium sativum* dosis bertingkat 0,1, 0,25, 0,50 g/kgBB/hari selama 14 hari, dan satu kelompok sebagai kontrol negatif. Digunakan uji non parametrik Kruskal Wallis dilanjutkan Mann Whitney dengan taraf kemaknaan  $p < 0,05$ .

**Hasil:** Derajat insulinitis dan ekspresi insulin pankreas tikus pada ketiga kelompok perlakuan menunjukkan perbedaan bermakna dibandingkan dengan kelompok yang tidak mendapat perlakuan dan bersifat dose – dependent, namun belum dapat mengembalikan pulau Langerhan kembali ke keadaan normal.

**Simpulan:** Ekstrak *Allium sativum* berpeluang memperbaiki pankreas yang rusak.

---

\* Bagian Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, Jl. Dr. Sutomo 18, Semarang

\*\* Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, Jl. Dr. Sutomo 18, Semarang

## PENDAHULUAN

Departemen Kesehatan RI menilai diabetes merupakan masalah kesehatan masyarakat karena prevalensinya meningkat 2-3 kali lebih cepat dibandingkan negara maju dengan prevalensi sebesar 12,7%.<sup>1-7</sup>

Kerusakan progresif sel  $\beta$  pankreas baik secara kualitatif maupun kuantitatif yang diawali oleh sebaran sel radang mononuklear (limfosit) pada pulau *Langerhans* (*insulinitis*) mengindikasikan telah terjadi aktivasi sistem imun yang dapat disebabkan oleh berbagai faktor antara lain virus, bakteri, rangsangan eksternal seperti streptozotocin,<sup>11-14</sup> bila kerusakan berlanjut akan menyebabkan hiperglikemia yang akhirnya menimbulkan diabetes.<sup>8-16</sup> Keadaan hiperglikemia berhubungan dengan stres oksidatif dan patogenesis komplikasi diabetes, keadaan ini akan memicu peningkatan radikal bebas antara lain melalui reaksi glikasi non enzimatis. Saat ini telah banyak dikembangkan obat-obatan dari bahan alami untuk mengontrol diabetes, sebagian dari bahan-bahan tersebut telah diteliti dan terbukti efektif sebagai terapi alternatif.<sup>17-19</sup> Terapi medis konvensional seperti insulin dan obat hiperglikemik oral (OHO) masih belum optimal mencegah komplikasi-komplikasi sekunder yang berhubungan dengan diabetes, sehingga terapi kombinasi pada diabetes sebaiknya dilakukan, karena tidak ada obat tunggal yang dapat mencegah komplikasi diabetes secara komplit.<sup>19-23</sup> Berangkat dari keprihatinan tersebut saat ini dikembangkan berbagai produk berbahan dasar alami untuk menyembuhkan diabetes dan mencegah komplikasi sekunder.

Bawang putih (*Allium sativum*) merupakan salah satu jenis tumbuhan yang telah banyak dikenal sejak ribuan tahun yang lalu diberbagai belahan dunia baik sebagai bahan makanan ataupun obat. Umbi-umbian berwarna putih ini sudah banyak dimanfaatkan oleh masyarakat Indonesia sebagai salah satu komponen bumbu dalam masakan, bahkan penggunaannya sebagai pengobatan alternatif telah dikenal sejak jaman nenek moyang.<sup>23-25</sup> Data ilmiah yang mendukung pemakaian bawang putih pada suatu penyakit tertentu relatif belum lama dikenal. Bawang putih diketahui mengandung senyawa organosulfur yang memiliki berbagai khasiat seperti sebagai antidiabetes, antimikroba, antibakterial, menurunkan kolesterol, mengobati penyakit jantung koroner, anti-sklerotik, antitrombotik, *common cold*, antioksidan. Efek antioksidan bawang putih dapat menurunkan peroksidasi lemak dan secara tidak langsung meningkatkan sintesis NO (*nitric oxide*) sehingga menghambat produksi AGEps (*advanced glycation end product*).<sup>23-27</sup>

Efek antidiabetik bawang putih (*Allium sativum*) lebih baik dibandingkan dengan glibenklamid telah dibuktikan pada percobaan dengan tikus Wistar yang diinduksi

Streptozotocin (STZ) diberikan ekstrak bawang putih (*Allium sativum*) dosis 0,1 g/kgBB, 0,25 g/kgBB, 0,5 g/kgBB dan glibenklamid dosis 600 /kgBB selama 14 hari secara signifikan dapat menurunkan serum glukosa, total kolesterol, trigliserida, ureum, *uric acid*, kreatinin, AST dan ALT.<sup>28</sup>

Streptozotocin sebagai bahan kimia toksik yang banyak dipakai dalam penelitian hewan coba diabetes, akan menginduksi kerusakan sel  $\beta$  pankreas melalui alkilasi DNA dengan pembentukan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dan reaksi inflamasi.<sup>29-30</sup> Dosis Streptozotocin yang dipergunakan dalam penelitian ini 40 mg/kgBB, intraperitoneal dosis tunggal.<sup>29-31</sup>

## METODE

Sampel penelitian 28 ekor tikus Sprague Dawley yang diperoleh dari Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT) Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada Yogyakarta, diaklimatisasi secara individual serta diberi ransum pakan standar dan minum secara *ad libitum* selama satu minggu. Secara acak tikus tersebut diambil 2 ekor untuk kontrol sehat (X), kemudian hari ke sepuluh setelah induksi STZ diambil 2 ekor lagi secara acak, selanjutnya 24 ekor tikus sisanya diacak dalam empat kelompok, setiap kelompok terdiri dari enam ekor tikus, yang masing-masing dikandangkan tersendiri, diberi pakan standar dan minum *ad libitum*, serta diberi perlakuan sebagai berikut: Kelompok kontrol sehat (X): tikus Sprague Dawley dengan diet standar dan diberi minum akuades selama 1 minggu. Kelompok I (perlakuan I): tikus Sprague Dawley yang telah diinduksi STZ 40 mg/kgBB intraperitoneal dosis tunggal, diberi diet standar dan sonde ekstrak bawang putih (*Allium sativum*) 0,1 g/kgBB/hari. Kelompok II (perlakuan II): tikus Sprague Dawley yang telah diinduksi STZ 40 mg/kgBB intraperitoneal dosis tunggal, diberi diet standar dan sonde ekstrak bawang putih (*Allium sativum*) 0,25 g/kgBB/hari. Kelompok III (perlakuan III): tikus Sprague Dawley yang telah diinduksi STZ 40 mg/kgBB intraperitoneal dosis tunggal, diberi diet standar dan sonde ekstrak bawang putih (*Allium sativum*) 0,50 g/kgBB/hari. Kelompok IV (kontrol sakit): tikus Sprague Dawley yang telah diinduksi STZ 40 mg/kgBB intraperitoneal dosis tunggal, diberi diet standar dan disonde akuades setiap hari.

Setelah 2 minggu tikus-tikus diterminasi dengan cara dislokasi servikal sebelumnya dilakukan anestesi dengan eter, menurut kelompoknya. Kemudian jaringan pankreas diambil dan dilakukan pemeriksaan terhadap gambaran histopatologik, immunohistokimia insulin dengan *mouse monoclonal antibody* insulin Ab-5 (Clone INSO5/2D11-H5) Cat.# 1378 dari NeoMarker Lab

Vision dan derajat insulinitis dengan pengecatan *haematoxylin-eosin* (HE).

Data-data primer yang dikumpulkan pada penelitian ini meliputi hasil pemeriksaan kadar glukosa darah, pengamatan jumlah sel  $\beta$  yang terpulsa warna coklat dan derajat intensitas warna coklat dengan pengecatan insulin pada sel  $\beta$  dan derajat insulinitis pankreas tikus Sprague Dawley, setelah mendapat perlakuan. Ekspresi insulin pada pemeriksaan imunohistokimia insulin dihitung dengan skor *Allred* merupakan penjumlahan sel  $\beta$  pankreas yang memberikan ekspresi insulin positif per 100 sel pada pulau-pulau langerhans (*proportion score*) dan skor intensitas warna ekspresi insulin pada sel  $\beta$  pankreas (*intensity score*).

Derajat insulinitis pada pewarnaan *hematoxylin-eosin* berupa sebaran sel-sel radang mononuklear (limfosit) sekitar dan di dalam pulau-pulau langerhans pankreas. Kemudian, dilakukan penghitungan rata-rata data setiap sediaan mencit. Pemeriksaan mikroskopis dilakukan oleh 2 pemeriksa dan telah dilakukan uji kappa.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Pengaruh pemberian ekstrak *Allium sativum* pada ekspresi insulin pankreas

Rerata *Allred score* menunjukkan tertinggi pada kelompok III (yang diberi ekstrak *Allium sativum* dosis 0,5 g/kgBB), sedangkan terendah pada kelompok IV yang tidak diberikan ekstrak *Allium sativum*.

Hasil analisis data ekspresi insulin didapatkan distribusi data tidak normal pada semua kelompok sehingga perlu dilakukan transformasi data. Data hasil transformasi tetap menunjukkan distribusi tidak normal ( $p=0,001$ ), sehingga selanjutnya digunakan uji hipotesis non parametrik Kruskal Wallis.

Uji hipotesis *Allred score* ekspresi insulin dengan Kruskal Wallis menunjukkan adanya perbedaan bermakna di antara kelompok penelitian dengan  $p=0,001$ . Selanjutnya dilakukan uji Mann Whitney untuk mengetahui secara pasti kelompok-kelompok yang memiliki beda bermakna.

Hasil uji beda ekspresi insulin (*Allred score*) menunjukkan perbedaan bermakna antara kelompok penelitian ( $p<0,005$ ). Hal ini menunjukkan bahwa pada pemberian ekstrak *Allium sativum* dosis 0,1; 0,25; dan 0,5 g/kgBB selama 14 hari mampu memperbaiki kerusakan sel  $\beta$  pankreas akibat induksi streptozotocin. Hasil penelitian ini juga menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna terhadap perbaikan sel  $\beta$  pankreas pada tiap kelompok dengan dosis bertingkat.

Pemeriksaan ekspresi insulin pada sel  $\beta$  pankreas pada penelitian ini menunjukkan perbedaan yang bermakna

antara ketiga kelompok perlakuan dibandingkan dengan kontrol sehat maupun kontrol sakit. Hal ini membuktikan *Allium sativum* 0,10; 0,25; dan 0,50 g/kgBB/hari selama 14 hari mampu memperbaiki kerusakan sel  $\beta$  pankreas akibat induksi streptozotocin, namun efek ekstrak ini belum mampu mengembalikan sel  $\beta$  pankreas kembali pada keadaan normal. Penggunaan dosis bertingkat membuktikan bahwa ekspresi insulin pada sel  $\beta$  pankreas semakin meningkat sejalan dengan peningkatan dosis ekstrak yang diberikan.

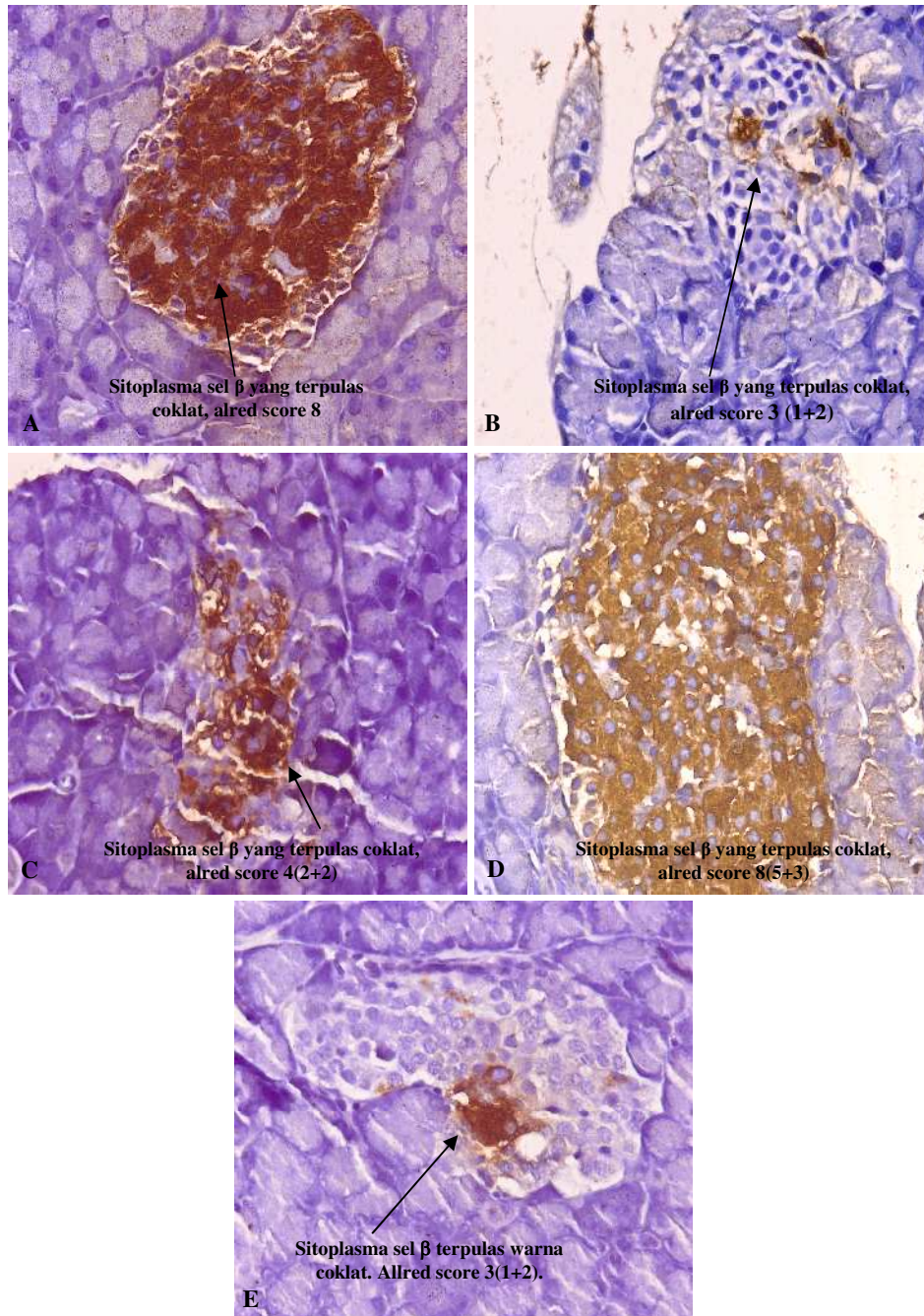
Ekstrak *Allium sativum* mengandung antioksidan tinggi seperti SAC dan *S-allylmercaptocysteine*, *allyl sulphides* dan *diallyl polysulphides*, flavonoids zat aktif ini diduga bersinergi dan meningkatkan aktivitas antioksidan dengan meningkatkan enzim antioksidan seluler seperti *superoxide dismutase (SOD)*, *catalase* dan *glutathione peroxidase* (Martinez et al). Hal ini berperan dalam mencegah kerusakan DNA sel  $\beta$  pankreas yang diakibatkan alkilasi DNA oleh streptozotocin. Efek anti-inflamasi dari ekstrak *Allium sativum* turut mencegah kerusakan sel  $\beta$  pankreas dengan menghambat terjadinya stres oksidatif.<sup>34-8</sup> Hasil penelitian ini menguatkan penelitian-penelitian terdahulu tentang khasiat anti-diabetik flavonoid yang terkandung dalam ekstrak *Allium sativum*. Flavonoid mampu menstimulasi peningkatan pengeluaran insulin dari sel beta pankreas. Aksi tersebut melalui pengaturan *peroxisome proliferators activated receptors (PPAR- $\alpha$  dan PPAR- $\gamma$ )*.<sup>40</sup> Aksi flavonoid yang bermanfaat pada diabetes mellitus adalah melalui kemampuannya untuk menghindari absorpsi glukosa atau memperbaiki toleransi glukosa. Lebih lanjut flavonoid menstimulasi pengambilan glukosa pada jaringan perifer, mengatur aktivitas dan ekspresi enzim yang terlibat dalam jalur metabolisme karbohidrat dan bertindak menyerupai insulin (*insulinomimetic*), dengan mempengaruhi mekanisme *insulin signaling*.<sup>41</sup>

Efek protektif insulin terhadap sel  $\beta$  pankreas tikus yang diinduksi STZ kemungkinan diakibatkan oleh berkurangnya kebutuhan akan NAD, identik dengan efek nikotinamid dan aminobenzamid, suatu *poly (ADP-ribose) synthetase* yang mempertahankan keseimbangan NAD<sup>+</sup> intraseluler, disertai inhibisi *cellular uptake* terhadap STZ.<sup>39-42</sup> Hal ini memungkinkan agen *insulinomimetic* termasuk flavonoid berperan dalam pencegahan kerusakan sel  $\beta$  pankreas yang diakibatkan oleh alkilasi DNA oleh STZ.

Hasil pengujian yang didapatkan pada penelitian ini, dapat dinyatakan bahwa ekstrak *Allium sativum* memiliki kemampuan dalam memperbaiki kerusakan pulau Langerhans dengan menghambat proses insulinitis sekaligus memperbaiki kerusakan sel  $\beta$  pankreas akibat induksi STZ.

Pemberian ekstrak *Allium sativum* dosis bertingkat pada penelitian ini, didapatkan peningkatan ekspresi insulin, serta terdapat perbedaan bermakna pada kelompok yang

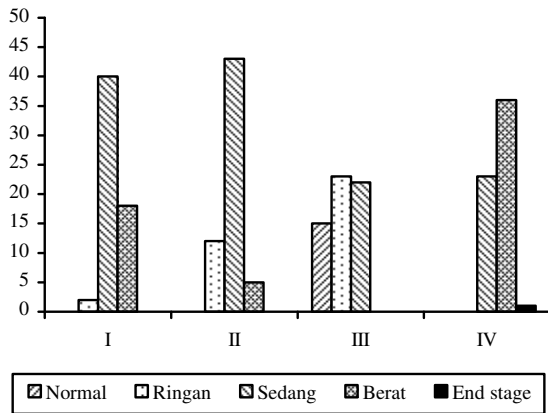
mendapat perlakuan dan kelompok yang tidak mendapat perlakuan. Foto mikroskopis *Allred score* dari sampel penelitian disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Gambaran histopatologi *Allred score* dengan pengecatan insulin, pembesaran 400x (Foto: Meira Dewi KA)

A. INS positif pada kontrol sehat. B. INS positif pada kelompok I *Allred score* 3 (1+2). C. INS positif pada kelompok II *Allred score* 4 (2+2) D. INS positif pada kelompok III *Allred score* 8 (5+3). E. INS positif pada kelompok IV *Allred score* 3 (1+2).

**Pengaruh pemberian ekstrak *Allium sativum* pada derajat insulinitis pankreas**



Grafik 1. Hasil pemeriksaan derajat insulinitis berdasarkan kelompok

Derajat insulinitis 0 (normal) dan derajat 1 (insulinitis ringan) terbanyak ditemukan pada kelompok III, yang diberi ekstrak *Allium sativum* dosis 0,5 g/kgBB. Derajat insulinitis 2 (insulinitis sedang) terbanyak pada kelompok II, yang diberi ekstrak *Allium sativum* dosis 0,25 g/kgBB. Derajat insulinitis 3 (insulinitis berat) terbanyak pada kelompok IV, yang tidak diberi ekstrak *Allium sativum*. Sedangkan keadaan *end stage* islet (insulinitis derajat 4) hanya ditemukan satu sampel yaitu pada kelompok IV.

Analisis data derajat insulinitis menunjukkan distribusi data tidak normal pada semua kelompok sehingga perlu dilakukan transformasi data. Uji normalitas data hasil transformasi tetap menunjukkan distribusi tidak normal ( $p=0,000$ ), sehingga selanjutnya digunakan uji hipotesis non parametrik *Kruskal Wallis*, menunjukkan adanya perbedaan bermakna diantara kelompok penelitian dengan  $p=0,000$ . Selanjutnya dilakukan uji *post hoc* dengan *Mann Whitney* untuk mengetahui secara pasti kelompok-kelompok yang memiliki beda bermakna.

Hasil uji beda derajat insulinitis di atas menunjukkan terdapat perbedaan bermakna antara kelompok penelitian ( $p<0,005$ ). Hal ini membuktikan bahwa pemberian ekstrak *Allium sativum* selama 14 hari pada semua dosis yang dipakai dalam penelitian ini mampu menurunkan derajat insulinitis pulau Langerhans pankreas akibat induksi streptozotocin.

Hasil pemeriksaan derajat insulinitis pada penelitian ini menunjukkan perbedaan yang signifikan antara ketiga kelompok perlakuan dibandingkan dengan kontrol sakit. Hal ini membuktikan bahwa pemberian ekstrak *Allium sativum* pada dosis 0,10, 0,25, dan 0,50 g/kgBB/hari selama 14 hari mampu mempengaruhi perbaikan kerusakan pulau Langerhans pankreas akibat induksi

streptozotocin dengan menghambat proses radang (insulinitis), namun efek ekstrak *Allium sativum* ini belum mampu mengembalikan pulau Langerhans kembali pada keadaan normal. Penggunaan dosis bertingkat membuktikan bahwa kondisi pulau Langerhans terlihat semakin membaik sejalan dengan peningkatan dosis ekstrak yang diberikan.

Kemampuan *Allium sativum* menghambat proses radang insulinitis karena adanya komponen organosulfur dan kandungan flavonoid didalamnya. Organosulfur dan flavonoid tersebut merupakan antiglikasi dan antioksidan poten yang dapat mencegah komplikasi diabetes dengan meningkatkan aktivitas dari enzim-enzim antioksidan seperti *catalase*, *superoxidase dismutase* dan *glutathione peroxidase*.<sup>17-29,33-7</sup>

Senyawa flavonoid diketahui memiliki efek potensial sebagai anti inflamasi dan antioksidan. Senyawa flavonoid seperti flavonols, quercetin dan catechin terbukti menghambat produksi TNF- $\alpha$  dan nitric oxide oleh lipopolisakarida dari makrofag yang teraktivasi, supresi TNF- $\alpha$  diduga melalui penghambatan aktivasi NF $\kappa$ B. Penghambatan TNF- $\alpha$  terjadi post transkripsi sedangkan penghambatan *inducible nitric oxide synthase* pada fase transkripsi. *In vivo* kemungkinan ekstrak *Allium sativum* menghambat secara langsung produksi AGEs.<sup>36,39-42</sup> Hambatan pada aktivasi NF $\kappa$ B akan melemahkan respon autoimun dan respon inflamasi yang pada penelitian ini menghambat proses radang pulau Langerhans (insulinitis).<sup>36-42</sup>

Foto mikroskopis derajat insulinitis dari sampel penelitian disajikan pada Gambar 2.

**Keterbatasan penelitian**

Penelitian ini tidak menggunakan bahan aktif tunggal, sehingga bahan aktif lain yang terkandung dalam ekstrak bawang putih dapat mempengaruhi hasil penelitian. Penelitian ini tidak dilakukan pengujian terhadap kadar bahan aktif, sehingga tidak diketahui kadar bahan aktif yang memberikan efek yang diinginkan.

Berdasarkan uji statistik yang dilakukan dalam penelitian ini, dapat disimpulkan ekspresi insulin pada kelompok yang diberi ekstrak *Allium sativum* dosis tinggi, lebih banyak dibandingkan kelompok dengan dosis lebih rendah atau kelompok yang tidak mendapat perlakuan dan derajat insulinitis pada kelompok yang diberi ekstrak *Allium sativum* dosis tinggi, lebih sedikit dibandingkan kelompok dengan dosis lebih rendah atau kelompok yang tidak mendapat perlakuan.

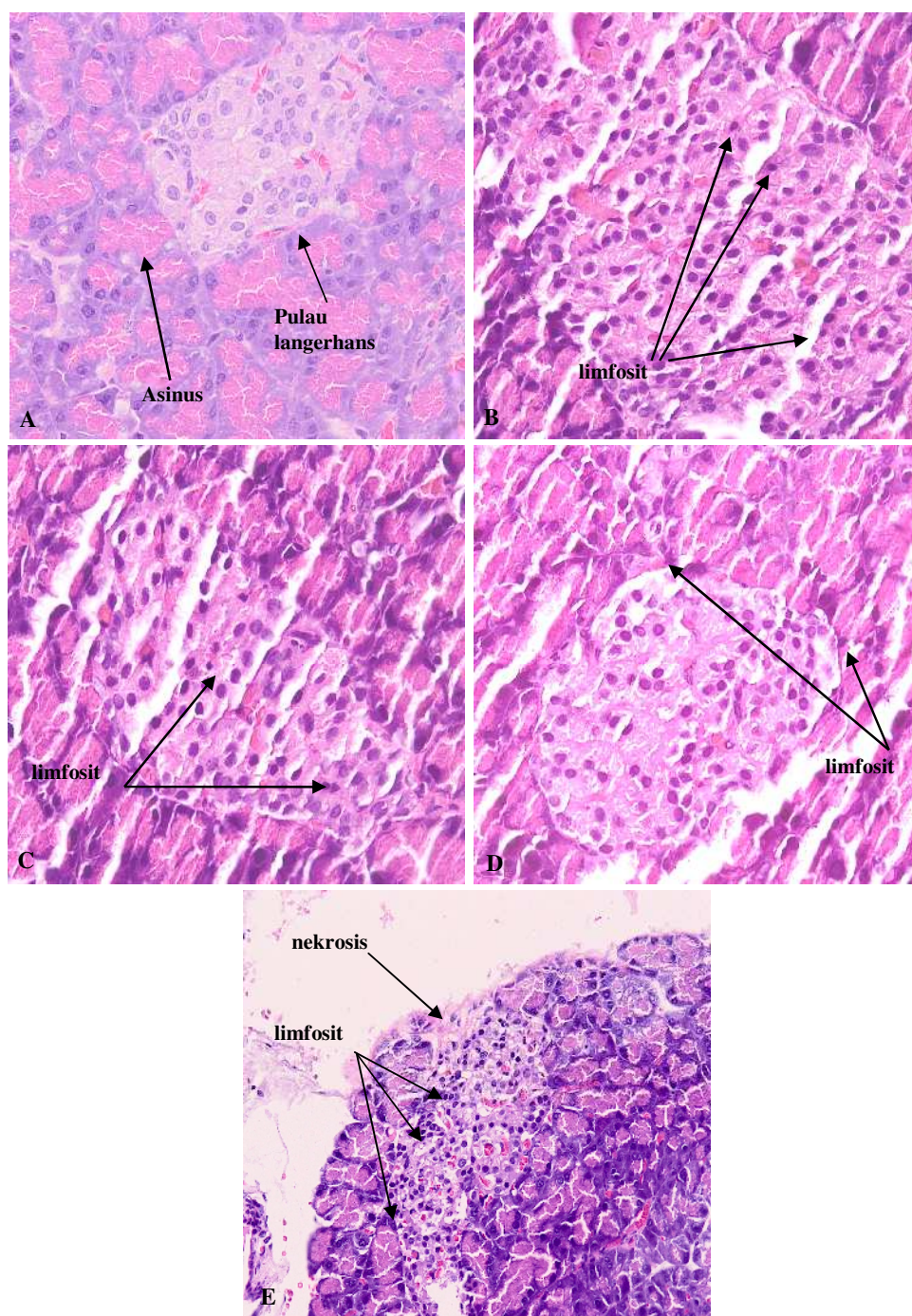
**SARAN**

Dilakukan pengukuran terhadap kadar dari bahan aktif yang terkandung dalam ekstrak *Allium sativum*. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk melihat dan



membandingkan efek masing-masing senyawa aktif dalam ekstrak *Allium sativum* dalam memperbaiki

kerusakan sel beta pankreas dan kerusakan pulau Langerhans akibat proses inflamasi (insulinitis).



Gambar 2. Gambaran histopatologi derajat insulinitis dengan pengecatan HE, pembesaran 400x (Foto: Meira Dewi KA)

A. Pulau Langerhans normal pada kontrol sehat. B. Insulinitis berat, sebaran sel radang mononuklear (limfosit) menginfiltrasi sebagian besar pulau langerhans (>50%) C. Insulinitis sedang, sebaran sel-sel radang mononuklear (limfosit) menginfiltrasi sebagian kecil (<50%) pulau langerhans D. Insulinitis ringan, terdapat sebaran sel-sel radang mononuklear (limfosit) disekitar pulau langerhans (*periinsulitis*) E. *End stage*, bila seluruh bagian pulau langerhans mengalami nekrosis (*complete  $\beta$  cell loss*)

## DAFTAR PUSTAKA

1. Sivakumar S, Subramanian SP. Pancreatic tissue protective nature of D-Pinitol studied in streptozotocin-mediated oxidative in experimental diabetic rats. *Eur. J of Pharmacol* 2009;622:56-70.
2. Liu CT, Sheen LY, Lii CK. Does garlic have a role as an antidiabetic agent? *Mol. Nutr. Food Res.*2007;51:1353-64.
3. Departemen Kesehatan RI. Diabetes mellitus ancaman umat manusia di dunia [Online] [cited 30 Juli 2009] from URL : <http://www.depkes.go.id/index.php?option=news&task=viewarticle&sid=942&Itemid=2>.
4. Ramadhan. Waspada ancaman diabetes mellitus. *Kompas* Kamis, 13 November 2008.
5. Frode TS, Medeiros YS. Animal models to test drugs with potential antidiabetic activity. *Ethnopharmacol* 2008;115:173-83.
6. Departemen Kesehatan RI. Diabetes mellitus masalah kesehatan masyarakat yang serius [Online] [cited 30 Juli 2009] from URL : <http://www.depkes.go.id/index.php?option=news&task=viewarticle&sid=942&Itemid=2>
7. Trucco M. Regeneration of the pancreatic  $\beta$  cell. *J Clin Invest.* 2005 January 3;115(1):5-12.
8. Diabetes mellitus type I. Wikipedia. [on line] [cited 2010 January19] Available from URL [http://en.wikipedia.org/wiki/Diabetes\\_mellitus\\_type\\_I](http://en.wikipedia.org/wiki/Diabetes_mellitus_type_I).
9. Bouwen L, Ilse R. Regulation of pancreatic beta-cell mass. *Physiol Rev* 2005;85:1255-70.
10. Maitra A, Abbas AK. The endocrine system. In: Robbins and Cotran. *Pathologic Basis of Diseases*. 7<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Elsevier Inc, 2005.1189-90.
11. Maedler K, Spinas GA, Lehmann R, Sergeev P, Weber M, Fontana A, et al. Glucosa induces  $\beta$ -Cell apoptosis via upregulation of fas receptor in human islets. *Diab* 2001;50:1683-90.
12. Wetzel JD, Barton ES, Chappell JD, Baer GS, Grundy MM, Rodgers SE, et al. Reovirus delays diabetes onset but does not prevent insulinitis in nonobese diabetic mice. [on line][cited 2010 January19 ] Available from URL <http://jvi.asm.org/cgi/content/full/80/6/3078>
13. Slover RH, Eisenbarth GS. Prevention of type I diabetes and recurrent  $\beta$ -cell destruction of transplanted islets. [on line][cited 2010 January19] Available from URL <http://edrv.endojournals.org/cgi/content/full/18/2/241>
14. Veld P.I. Insulinitis in type 1 diabetes: A sticky problem. *Diab* 2009;58:1292.
15. Guz Y, Nasir I, Teitelman G. Regeneration of pancreatic  $\beta$  cells from intraislet precursor cell in an experimental model of diabetes. *Endocrinol* 2001;142(11):4956-58.
16. Aronoff SL. Glucose metabolism and regulation beyond insulin and glucagon. *Diab. Spect* 2004;3(17):183-90.
17. Suharmiati. Pengujian bioaktivitas anti diabetes mellitus tumbuhan obat. *Cermin Dunia Kedokteran* 2003;140:8-13.
18. Murkhejee PK, Maiti K, Murkhejee K, Houghton PJ. Leads from Indian plants with hypoglycemic potentials. *Ethnopharmacol.* 2006;106:1-28.
19. Ali R, Athar M, Abdullah A, Abidi SA, Qayyum M. Nutraceuticals as natural healers: Emerging evidences. *Afri. J. of Biotechnol.*2009;8(6):891-9.
20. Ammari F. Long-term complications of diabetes mellitus in the western area of Saudi Arabia. *Diabetol Croat.*2004;33-2.
21. Chandra A, Mahdi AA, Ahmad S, Singh RK. Indian herbal result in hypoglycemic response in streptozotocin-induced diabetic rats. *Nutr. Res.* 2007;27:161-8.
22. Palsamy P, Subramanian S. Resveratrol, a natural phytoalexin, normalizes hyperglycemia in streptozotocin-nicotinamide induced experimental diabetic rats. *Biomed & Pharmacothe.*2008;62:598-605.
23. El-Demerdash FM, Yousef MI, El-Naga NIA. Biochemical study on the hypoglycemic effects of onion and garlic in alloxan-induced diabetic rats. *Food and Chem. Toxicol.* 2005;43:57-63.
24. Martinez MC, Corzo N, Viilamiel M. Biological properties of onion and garlic. *Trends in food and science & technology* 2007;18:609-25.
25. Whorter LS. Biological complementary therapies a focus on botanical products in diabetes. [on line] [cited 2010 Desember 19] Available from URL <http://spectrum.diabetesjournals.org/content/14/4/199.full.pdf+html>
26. Liu CT, Wong PL, Lii CK, Hse H, Sheen LY. Antidiabetic effect of garlic oil but not diallyl sulfide in rats with streptozotocin-induced diabetes. *Food and chem. Toxicol.* 2006;44:1377-84.
27. Amirshahrokhi K, Dehpour AR, Hadjati J, Sotoudeh, Khansari MG. Methadone ameliorates multiple-low-dose streptozotocin-induced type 1 diabetes in mice. *Toxicol and App. Pharmacol.* 2008;232:119-24.
28. Eidi A, Eidi M, Esmaeili. Antidiabetic effect of garlic (*Allium sativum L*) in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. *Phytomedicine* 2006;13:624-9.
29. Nugroho AE. Hewan percobaan diabetes mellitus: Patologi dan mekanisme aksi diabetogenik. *Biodiversitas* 2006;7(4):378-82.
30. Szkuldeski T. The mechanism of alloxan and streptozotocin action in  $\beta$  cells of the rat pancreas. *Physiol Res* 2001;50:536-56.
31. Kondo S, Iwata I, Anzai K, Akashi T, Wakana S, Onkubo K, et al. Suppression of insulinitis and diabetes in B cell-deficient mice treated with streptozotocin: B cells are essential for the TCR clonotype spreading of islet-infiltrating T cells. *Intern. Immunol.* 2000;12(7):1075-83.
32. Astuti P, Fitria L, S Mulyati. Pembuatan hewan model standar untuk diabetes melitus tipe 1 pada tikus galur Sprague Dawley sebagai respon Streptozotocin. *Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu Universitas Gadjah Mada.* Yogyakarta 2009.

33. Adi AS. *Allium Sativum* L. [online] [cited 8 Nov 2009] Available from URL [http://toiusd.multiply.com/juornal/item/37/Allium\\_sativum](http://toiusd.multiply.com/juornal/item/37/Allium_sativum)
34. Mattew PT, Augusti KT. Studies on the effect of Allicin (diallyl disulphideoxide) on alloxan diabetes. Hypoglycaemic action and enhancement of serum insulin effect and glycogen synthesis. *Ind J of Biochem* 1973;10:209-12.
35. Ohaeri OC. Effect of garlic oil on the levels of various enzymes in the serum and tissue of streptozotocin diabetic rats. *Bioscien R* 2001;21(1):19-24.
36. Al-Qattan K, Thomson M, Ali M. Garlic (*Allium sativum*) and ginger (*Zingiber officinale*) attenuate structural nephropathy progression in streptozotocin-induced diabetic rats. *Clin Nutr. and Metab.* 2008;3(2): e62-e71.
37. Drobiova H, Thomson M, Al-Qattan K, Shalaby R.P, Al-amin Z, Ali M. Garlic increas antioxidant levels in diabetic and hypertensive rats determined by a modified peroxidase method. *eCam* 2009:1-7.
38. Lee YM, Gweon OC, Seo YJ, Im J, Kang MJ, Kim MJ, et al. Antioxidant effect of garlic and aged black garlic in animal model of type 2 diabetes mellitus. *Nutr. Res and Pract.* 2009;3:2:156-61.
39. Saraf S, Mahendra SA. Flavonoids: A nutritional protection against oxidative and UV induced cellular damages. *Phcog Rev* 2007;1(1):30-40.
40. Gerritson ME, Carley WW, Ranges G E, Shen C P, Phan S A. Flavonoids inhibit cytokine-induced endothelial cell adhesion protein gene expression. *Am J Pathol* 1995;147(2):278-92.
41. Manject K, Ghosh B. Quercetin inhibits LPS-induced nitric oxide and tumor necrosis factor-alpha production in murine macrophages. *Int J Immunopharmacol* 1999;21:435-43.
42. Wadsworth TL, Koop DR. Effect of the wine polyphenolic quercetin and resveratrol on pro-inflammatory cytokine expression in RAW 264.7 macrophages. *Biochem Pharmacol* 1999;57(8):941-9.