

POTENSI TOLERANSI ORAL GLUKOSA EKSTRAK BIJI KEDELAI (*Glycine max*), RIMPANG JAHE (*Zingiber officinale*) DAN KOMBINASINYA PADA TIKUS MODEL DIABETES

Yudi Purnomo

Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang

ABSTRAK

Diabetes Mellitus (DM) adalah sindrom metabolik yang ditandai peningkatan kadar glukosa darah kronik dan berkontribusi terhadap beberapa resiko komplikasi. Biji Kedelai(*G.max*) dan rimpang Jahe (*Z.officinale*) digunakan sebagai terapi alternative DM tapi potensi untuk mengendalikan peningkatan kadar glukosa darah khususnya dalam bentuk kombinasinya belum pernah dievaluasi. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi efek anti-hiperglikemik biji kedelai, rimpang jahe dan kombinasinya. Penelitian ini menggunakan tikus Sprague dawley (SD) jantan berusia 4 minggu berat badan 200 g dibagi menjadi 2 kelompok kontrol dan 3 kelompok uji (n=5 ekor). Tikus DM diinduksi dengan diet tinggi lemak-fruktosa (DTLF) dan streptozotocin 25 mg/kg BB (i.p) *multiple dose*. Setelah dinyatakan DM diberikan per oral ekstrak biji kedelai 5000 mg/kg BB, rimpang jahe 500 mg/kg BB dan kombinasinya 5000 : 500 mg/kg BB selama 4 minggu. Sampel darah dari vena ekor diambil pada menit ke 0, 30, 60 dan 120 setelah pemberian glucose oral kemudian kadar glukosa darah diukur dengan glucometer. *Area Under Curve (AUC)* integrasi dihitung dengan metode trapezoidal. Data dianalisa menggunakan one way ANOVA dilanjutkan dengan uji LSD (p<0.05).

Pemberian ekstrak biji kedelai, rimpang jahe dan kombinasinya menurunkan AUC glukosa berturut-turut 30 %, 35 % dan 35 % dibandingkan kelompok diabetik (p<0.05). Sedangkan pada kelompok diabetik terjadi peningkatan kadar AUC 1.5 kali dibandingkan kelompok normal (p<0.05). Ekstrak rimpang jahe tunggal dan kombinasinya dengan biji kedelai lebih kuat menurunkan kadar glukosa darah dibandingkan dengan ekstrak biji kedelai tunggal pasca stimulasi glukosa.

Kata kunci : AUC glukosa, kombinasi, Diabetes, G. max, Z. officinale

ORAL GLUCOSE TOLERANCY OF SOYA(*Glycine max*) SEED EXTRACT, GINGER (*Zingiber officinale*) RHIZOMA AND IT'S COMBINATION ON DIABETIC RATS MODEL

Yudi Purnomo

Faculty of Medicine Islamic University of Malang

ABSTRACT

Diabetes mellitus (DM) is metabolic syndrome signaled by hyperglycemic chronic and it contribute to several complication risk. Soya(*Glycine max*) and Ginger (*Zingiber officinale*) are used for the alternative therapy of DM, however, the potency to regulate blood glucose level especially in it's combination has not been evaluated. The objective of this study to investigate anti-hyperglycemic effect of *Glycine max* (*G. max*) seed extract, *Zingiber officinale* (*Z. officinale*) rhizoma and it's combination on diabetic rat.

This study uses control group post test only with male sprague dawley rats divided into 2 control group and 3 test group (n=5 rats). Diabetic rats was induced by High Fructose and Lipid Diet (HFLD) and multiple dose streptozotocin 25 mg/kg bw (i.p). The rat was administrated orally with *G. max* seed extract, *Z. officinale* and it's combination in dose of 5000 mg/kg bw, 500 mg/kg bw and 5000 : 500 mg/kg bw respectively for 4 weeks. Blood sample were collected from the tail vein at 0, 30, 60 and 120 minutes after oral glucose administration and then it were measured using a commercially glucometer. The integrated area under the postprandial glucose curves (AUCs) was calculated by the trapezoidal method. The data was analyzed using ANOVA test continued with LSD test (p < 0,05). The oral administration of *G. max* seed extract, *Z. officinale* and it's combination were able to decrease blood glucose AUC about 30 %, 35 % and 35 % respectively compared to diabetic group (p<0.05). In diabetic groups, blood glucose AUC was increased approximately 1.5-fold compared to normal group (p<0.05). Single composition of *Z. officinale* extract and its combination with *G. max* decrease blood glucose AUC more compared to the single composition of *G. max* seed extract after glucose stimulation.

Key words : AUC, Combination, Diabetic, G. max, Z. officinale

PENDAHULUAN

Diabetes mellitus (DM) masih menjadi permasalahan kesehatan di Indonesia maupun berbagai negara penjurus dunia. Menurut *International Diabetes Federation* (IDF) pada tahun 2012 jumlah penduduk dunia yang mengalami DM sudah mencapai 371 juta dan diperkirakan tahun 2035 mencapai 592 juta atau naik sebesar 55 %¹. Data IDF tahun 2012 menyebutkan Indonesia menempati urutan ke-7 jumlah pasien DM terbesar dunia yaitu sekitar 7,6 juta dengan jumlah kematian sebesar 155 ribu jiwa per tahun¹. Saat ini IDF mencatat angka kematian penduduk dunia akibat DM 5,1 juta per tahun dan diperkirakan meningkat sebesar dua kali dalam kurun waktu 2000-2030¹. Diantara kasus DM hampir 90-95% merupakan DM tipe 2 (DMT-2)².

Gangguan sekresi insulin dan resistensi insulin pada DM berperan terhadap kondisi hiperglikemik³. Penurunan sekresi insulin membuat glukosa tidak dapat masuk ke sel dan jaringan sehingga kadar glukosa dalam darah tetap tinggi⁴. Resistensi insulin pada DM menimbulkan hiperinsulinemia dan berakhir dengan gangguan sekresi pada sel beta pancreas^{3,4}. Kondisi hiperglikemia memicu peningkatan produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang berperan pada komplikasi multiorgan seperti kardiovaskular, ginjal dan saraf^{5,6}.

Terapi farmakologis untuk menangani DM selama ini masih berbasis terapi konvensional dengan obat sintetik kimiawi golongan Oral Anti Diabetic (OAD) bersama-sama dengan insulin³. Akan tetapi efek samping dari terapi obat ini banyak dialami pasien seperti hipoglikemia, peningkatan berat badan, dan gangguan saluran cerna⁷. Kondisi tersebut mendorong eksplorasi bahan alam sebagai sumber pengobatan alternatif untuk terapi DM. Saat ini pengobatan herbal dan ekstraknya sudah banyak digunakan secara luas meskipun komponen zat aktif yang berkhasiat belum diketahui secara pasti. *World Health Organization* (WHO) pun telah mengizinkan penggunaan tanaman obat dan pangan fungsional untuk berbagai penyakit termasuk DM⁸.

Biji kedelai (*Glycine max*) dan rimpang jahe (*Zingiber officinale*) adalah herbal yang banyak digunakan makanan, minuman dan obat. Biji kedelai mengandung berbagai macam kandungan gizi termasuk isoflavon yang merupakan ikatan sejumlah asam amino dengan

vitamin dan beberapa zat gizi lainnya dalam biji kedelai yang membentuk flavonoid⁹. Senyawa flavonoid utama yang terdapat dalam susu kedelai adalah genistein⁹. Penelitian Handayani dkk (2009) menunjukkan bahwa kedelai dapat memperbaiki resistensi insulin¹⁰. Sedangkan rimpang jahe (*Zingiber officinale*) berdasarkan studi memiliki potensi anti diabetes dengan memperbaiki sekresi insulin dan meningkatkan penyerapan glukosa ke otot tanpa memerlukan insulin¹¹.

Terapi herbal pada umumnya digunakan dalam bentuk kombinasi atau ramuan dengan tujuan memperkuat efektifitas terapi dan menurunkan efek samping. Tetapi pada kenyataannya hampir sebagian besar pengujian bioaktivitas herbal menggunakan bentuk tunggal sedangkan bentuk kombinasi masih jarang dilakukan. Kombinasi susu kedelai dan rimpang jahe hingga saat ini belum pernah diuji potensinya untuk menghambat peningkatan kadar glukosa darah pada kondisi diabetes. Berdasarkan latar belakang tersebut, maka perlu dilakukan penelitian potensi anti-hiperglikemik susu kedelai, rimpang jahe dan kombinasinya pada tikus model diabetes dengan melakukan evaluasi terhadap toleransi glukosa secara oral.

MATERIAL DAN METODE

Pembuatan Ekstrak *U.lobata*

Simplisia biji kedelai dan rimpang jahe didapatkan dari Balai Materia Medika Batu Malang dengan surat keterangan determinasi berturut-turut no. 074.241/102.7/2017 dan 074/211/201.7/2017. Biji kedelai 80 g yang telah bersih dari kulit ari diberikan air 90 ml kemudian diblender. Hasil penghancuran diperas di atas kertas saring. Susu kedelai yang diperoleh ditambahkan air hingga 100 ml dan disimpan di lemari es sampai siap digunakan pada dosis 5000 mg/kg BB. Ekstrak jahe dibuat dengan cara infudasi, 1000 mg serbuk jahe ditimbang kemudian dimasukan air panas 10 ml lalu ditutup selama 15 menit dan dibiarkan sampai dingin dengan dosis 500 mg/kg BB. Bentuk kombinasi susu kedelai ditambahkan serbuk jahe dalam jumlah tertentu hingga didapatkan dosis 5000 : 500 mg/kg BB kemudian dihangatkan diatas penangas air.

Perlakuan Hewan Coba

Seluruh hewan coba yang digunakan pada penelitian telah mendapatkan persetujuan dari Komisi Etik Penelitian Universitas Brawijaya dengan Keterangan Kelainan Etik no. 823-KEP-UB. Penelitian ini menggunakan tikus Sprague

Dawley (SD) usia 2-3 bulan berat badan 180-200 g ditempatkan pada kandang individual suhu 25°C ± 1°C dalam 12 jam siklus gelap dan terang. Air minum dan pakan standart susu papdiberikan secukupnya. Tikus dibagi menjadi 5 kelompok terdiri dari 2 kelompok kontrol dan 3 kelompok perlakuan. Ekstrak biji kedelai 5000 mg/kg BB, ekstrak rimpang jahe 500 mg/kg BB dan kombinasinya 5000 ; 500 mg/ kg bb diberikan selama 4 minggu.

Pembuatan Tikus Model DMT-2

Setelah tikus dilakukan aklimatisasi selama 7 hari, kelompok perlakuan dan kontrol diberikan Diet Tinggi Lemak Fruktosa (DTLF) sebesar 20 g/ekor/hari selama 7 minggu. Komposisi DTLF terdiri dari susu pap 60 %, Lemak sapi 25 %, lemak kambing 10 % dan kuning telur bebek 5 %, sedangkan fruktosa 25 % dicampur dengan air minum 50 ml per hari. Pada minggu ke 2 pasca pemberian DTLF, diinjeksi dengan Streptozotzin (STZ) 25 mg/kg BB multiple dose intra peritoneal (i.p). Seminggu pasca injeksi STZ, diukur kadar glukosa darah puasa dengan glucometer dan dinyatakan DM bila kadar glukosa darah puasa lebih dari 126 mg/dl¹².

Pengujian Toleransi Oral Glukosa

Ekstrak biji kedelai, rimpang jahedan kombinasinya diberikan 30 menit sebelum pengambilan darah pertama. Tikus diinduksi larutan glukosa 2 g/kg BB per oral setelah pengambilan darah pertama (menit ke 0). Selanjutnya dilakukan sampling darah melalui vena ekor dengan glucometer pada menit ke 15, 30,60 dan 120. Hasil dinyatakan dalam Area Under Curve (AUC) untuk glukosa yang dihitung dengan rumus trapezoid.

Analisa Statistik

Data dinyatakan dalam bentuk rerata ± SD. Kemudian setelah dilakukan uji normalitas dan homogenitas, data dianalisa dengan metode one way ANOVA kemudian dilanjutkan dengan uji LSD test untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan. Hasil dikatakan berbeda secara bermakna bila p < 0.05.

HASIL

Karakteristik sampel

Sampel hewan coba yang digunakan pada penelitian ini memiliki karakteristik yang dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Karakteristik sampel hewan coba penelitian

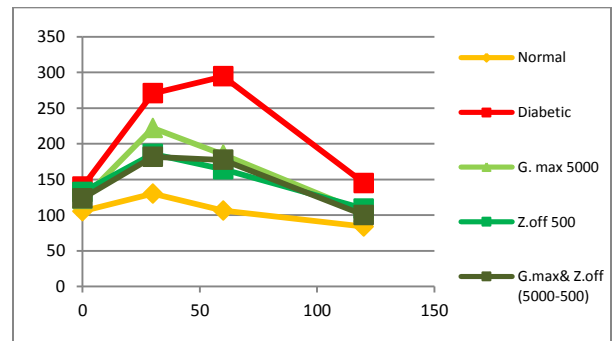
	KN	KP	G. max	Z. off	Komb
--	----	----	--------	--------	------

			5000	500	G & Z
BB-awal (g)	285.4 ± 18.6	246.5± 26.5	217.2 ± 19.9	224.3 ± 19.0	233 ± 19.3
BB-pre treat(g)	352.7 ± 15.8	300.5 ± 31.0	244.8 ± 17.7	225.± 36.0	297.3 ± 30.5
BB post treat (g)	336.6 ± 29.7	335.3 ± 38.7	253.2 ± 33.1	282.5 ± 45.3	317.5 ± 31.8
% Pakan	75.30	71.92	81.12	71.99	85.00
KGDP-awal (mg/dl)	74.6 ± 3.0	83.0 ± 0.8	85.0 ± 8.5	80.5 ± 5.1	82.3± 5.7
KGDP-pre treat (mg/dL)	92.6 ± 5.9	201.3 ± 35.0	182.6 ± 43.1	168.5 ± 35.8	163.5 ± 11.5
KGDP-post treat (mg/dL)	105.4 ± 7.5	139.0 ± 14.9	109.0 ± 13.2	132.3 ± 17.9	124.0 ± 12.5

Terdapat peningkatan berat badan sebelum maupun sesudah pemberian ekstrak uji. Asupan pakan lebih tinggi pada kelompok kombinasi. Kadar gula darah puasa mengalami peningkatan setelah diinduksi DTLF dan STZ(pre treatment) kemudian mengalami penurunan setelah pemberian ekstrakuji (post treatment).

Efek Ekstrak G. max, Z. officinale dan kombinasinya terhadap Toleransi Oral Glukosa pada tikus DM.

Potensi ekstrak G. max, Z. officinale dan kombinasinyaterhadap pengendalian kadar glukosa darah paska induksi glukosa per oral dapat dilihat pada tabel 2 dan gambar 1 dan 2



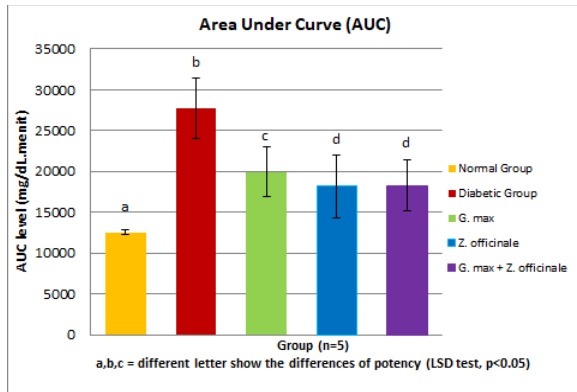
Gambar 1. Grafik Toleransi kadar glukosa darah yang diberi ekstrak G. max, Z. officinale dan kombinasinya pada tikus DM.

Tabel 2. Rerata AUC glukosa darah yang diberi ekstrak G. max, Z. officinale dan kombinasinya pada tikus DM

Perlakuan	n	Rerata ± SD (mg/dl.menit)
Kontrol Normal	5	12555 ± 351.35 ^a
Kontrol Diabetes	5	27795 ± 3696.58 ^b
G. max 5000 mg/kg BB	5	19072 ± 2016.39 ^c
Z. officinale 500 mg/kg BB	5	18198 ± 3838.75 ^d
G. max-Z. officinale 5000 : 500 mg/kg BB	5	18270 ± 3144.58 ^d

Keterangan :

a,b,c ...= huruf berbeda menunjukkan perbedaan efek signifikan (p<0.05, LSD test)



Gambar 2. Histogram AUC glukosa darah yang diberi ekstrak *G. max*, *Z. officinale* dan kombinasinya pada tikus DM

Pada kelompok diabetik terjadi gangguan pengendalian glukosa darah yang ditandai peningkatan signifikan nilai AUC glukosa darah sekitar 1.5 kali dibandingkan kelompok normal ($p < 0.05$). Pemberian ekstrak biji *G. max* 5000 mg/kg BB, *Z. officinale* 500 mg/kg BB dan kombinasinya 5000 mg/kg BB : 500 mg/kg BB menurunkan nilai AUC glukosa darah secara signifikan berturut-turut 30 %, 35 % dan 35 % dibandingkan kelompok kontrol diabetes ($p < 0.05$). Ekstrak rimpang *Z. officinale* komposisi tunggal dan kombinasi ekstrak biji *G. max* dan rimpang *Z. officinale* menurunkan AUC glukosa darah lebih kuat dibandingkan ekstrak biji *G. max* tunggal ($p < 0.05$).

PEMBAHASAN

Efek Ekstrak *G. max*, *Z. officinale* dan kombinasinya terhadap Toleransi Oral Glukosa pada tikus DM.

Pemberian ekstrak biji *G. max*, rimpang *Z. officinale* dan kombinasinya menurunkan AUC glukosa darah tikus model diabetes pada uji toleransi glukosa oral.

Ekstrak biji *G. max* mengandung senyawa isoflavon yang memiliki efek anti hiperglikemik melalui perbaikan resistensi insulin¹³. Pemberian ekstrak biji kedelai meningkatkan ekspresi Glucose Transporter-4 (GLUT-4) sehingga meningkatkan aksi insulin di jaringan perifer untuk menurunkan kadar glukosa darah¹⁴. Ekstrak biji *G. max* mengandung juga berbagai macam zat aktif termasuk isoflavon seperti genistein dan daidzein yang berpotensi sebagai antioksidan⁹. Senyawa antioksidan diduga menghambat kerusakan sel beta pancreas akibat senyawa radikal bebas sehingga produksi insulin dipertahankan untuk mengendalikan kadar glukosa darah pasca induksi glukosa^{10,13}.

Z. officinale mengandung senyawa utama gingerol yang mampu menurunkan kadar glukosa darah dengan meningkatkan produksi insulin, sensitivitas insulin dan penurunan penyerapan glukosa di intestinal pada kondisi hiperglikemia¹⁰. Studi yang dilakukan Khosravi et al (2014) menunjukkan bahwa pemberian serbuk jahe selama 8 minggu dapat memperbaiki resistensi insulin pada pasien DMT-2¹⁵. Beberapa senyawa fenol seperti gingerol juga memberikan aktifitas antioksidan, anti-inflamasi dan analgetik¹¹. Gingerol menunjukkan efek perlindungan terhadap sel beta pancreas pada tikus DM dan memperbaiki sekresi insulin sehingga dapat mengatur kadar glukosa darah¹⁶. Senyawa gingerol juga mampu menurunkan apoptosis sel beta pancreas sehingga mampu mempertahankan produksi insulin untuk pengendalian kadar glukosa darah pasca pemberian beban glukosa¹⁷.

Kombinasi ekstrak *G. max* dan *Z. officinale* menurunkan kadar glukosa darah tikus diabetik. Efek hipoglikemik ini dikendalikan oleh zat aktif pada masing-masing herbal dan interaksinya sehingga terjadi modulasi aktifitas biologis. Pemberian kombinasi *G. max* dan *Z. officinale* menurunkan AUC glukosa darah lebih kuat dibandingkan *G. max* komposisi tunggal. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan Handayani dkk (2018) bahwa pemberian kombinasi ekstrak *G. max* dan *Z. officinale* meningkatkan ekspresi GLUT-4 lebih tinggi dibandingkan bentuk tunggalnya¹⁴ sehingga mampu menurunkan kadar glukosa darah lebih kuat. Efek tersebut diduga akibat adanya interaksi zat aktif dalam *G. max* dan *Z. officinale* yang bersifat sinergistik untuk memperkuat aksi GLUT-4 di jaringan otot⁷. Berdasarkan hasil uji toleransi glukosa oral, tidak didapatkan perbedaan signifikan AUC glukosa darah antara pemberian ekstrak *Z. officinale* tunggal dan kombinasinya dengan *G. max*, tetapi AUC glukosa darah lebih tinggi pada pemberian *G. max* tunggal. Hal ini dapat dijelaskan bahwa pengaturan kadar glukosa darah ternyata tidak hanya dipengaruhi oleh perbaikan sensitivitas insulin tetapi juga melalui jumlah sekresi insulin dan inhibisi enzim pemetabolisme karbohidrat^{18,19}. Berdasarkan studi pustaka, sebagian besar herbal memiliki potensi anti diabetik melalui penghambatan aktifitas alpha-glukosidase dan absorpsi karbohidrat di intestine sehingga menurunkan kadar glukosa darah post prandial²⁰. Selain itu, herbal juga memiliki beberapa komponen zat aktif dan bila dalam bentuk kombinasi maka

akan meningkatkan terjadinya interaksi⁷. Hasil interaksi zat aktif tersebut kemungkinan bersifat antagonis sehingga menurunkan aktifitas hipoglikemiknya seperti pada kombinasi *G. max* dan *Z. officinale* tidak berbeda dengan bentuk tunggal *Z. officinale* untuk menurunkan AUC glukosa darah.

KESIMPULAN

1. Ekstrak biji *G. max*, rimpang *Z. officinale* dan kombinasinya menurunkan AUC glukosa darah pada tikus diabetik.
2. Ekstrak rimpang *Z. officinale* komposisi tunggal dan kombinasinya dengan biji *G. max* menurunkan AUC glukosa darah lebih kuat dibandingkan ekstrak biji *G. max* tunggal.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan pelarut penyari yang lain untuk uji potensi herbal ini serta melakukan uji keamanannya.

UCAPAN TERIMA KASIH

Dewan Riset Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang yang telah mendanai riset ini.

PUSTAKA

1. International Diabetes Federation. IDF Diabetes Atlas, 6th ed. Brussels, Belgium: International Diabetes Federation, 2013.
2. Ndraha S. Diabetes mellitus tipe 2 dan tatalaksana kini, *Scientific Journal of Pharmaceutical Development and medical application*. 2014;27 (2):9-16.
3. Soegondo S, Soewondo P, Subekti I. Penatalaksanaan Diabetes Mellitus Terpadu. *Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia*. 2004: 4th ed.
4. Joslin, Elliot Proctor. Joslin's Diabetes mellitus. Lippincott Williams and wilkins. 2005.
5. Halliwell B., Gutteridge JM. Free Radical in Biology and Medicine. Oxford Science Publication, Oxford. 1999: 3th ed.
6. Permana H. Komplikasi kronik dan Penyakit Penyerta Pada Diabetes. Division of Endocrinology and Metabolism Department of Internal Medicine, Padjadjaran University Medical School – Hasan Sadikin Hospital Bandung. 2009.
7. Goodman LS, Gilman A, *et al.*, Goodman & Gilman's the pharmacological basis of therapeutics. McGraw-Hill, New York. 2006.
8. World Health Organization. *Life Course Perspective on Coronary Hearth Disease, Stroke and Diabetes*. 2000
9. Rizka HN, *Efek antihiperlipidemia susu kacang kedelai (Glycine max) pada tikus purth jantan yang diberi diet tinggi kolesterol*, Skripsi. Prodi Farmasi, Universitas Indonesia. 2012.
10. Handayani W, Indra MR, Rudijanto A, Soybean milk reduces insulin resistant in rattus norvegicus of type 2 model diabetes mellitus. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*. 2009; 25(2).
11. Hernani and Winarti. Kandungan Bahan aktif Jahe dan pemanfaatannya dalam bidang kesehatan. Jakarta: Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pasca Panen. 2011.
12. Shirwaikar A, Rajendran K, Barik R. Effect of water bark extract of *Garuga pinnata* Roxb. in streptozotocin-nicotinamide induced type-II diabetes mellitus. *Journal of ethnopharmacology*. 2006;107(2):285–290.
13. Bhathena SJ, Velasquez MT. 2002. Benefecial Role of Dietary Phytoestrogens in obesity and Diabetes. *Am J Clin Nutr* 2002; 76:1191-1201.
14. Handayani W, Lyrawati D, Andarini S, Rudijanto A, Pengaruh kombinasi susu kedelai dan jahe terhadap peningkatan sensitivitas insulin pada tikus model resistensi insulin (studi in silico dan in vivo). Disertasi. Program Doktor Ilmu Kedokteran. Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. 2018.
15. Khosravi, M.H. The effect of Ginger Powder supplementation on insulin resistance and glycemic induces in patient with type 2 Diabetes: A Randomized, double-Blind, Placebo-Controlled Trial. *Complementary Therapies in Medicine Journal*. 2014;22, 9-16.
16. Patel DK, Prasad SK, Kumar R, Hemalatha S. An overview on antidiabetic medicinal plants having insulin mimetic property. *Asian Pac J Trop Biomed*. 2012;2(4):320-30.
17. Elshater A.A., Salman M.M.A and Moussa M.M.A Salman MA et al. Effect of Ginger extract consumption on level of blood glucose, lipid profile, and kidney fuinction in alloxan induced-diabetic rat. *Egypt Acad. J. Biol. Sci*. 2009;2 (1):153-162.
18. Stephen L. Aronoff, Kathy Berkowitz, Barb Shreiner et al. Glucose Metabolism and Regulation: Beyond Insulin and Glucagon. *Diabetes spectrum*. 2004; 17(3):183-190.

19. Rhodes C.J, White M.F. Molecular insight into insulin action and secretion. *European Journal of Clinical Investigation*. 2002; 32: 3-13.
20. Kumar, S. et al., Review article enzymes Inhibitor from plants: An alternate approach to treat diabetes. 2012;2(2).