

Kode/ NamaRumpunIlmu: 331/ IlmuKedokteran Gigi

**EXECUTIVE SUMMARY**

**PENELITIAN DOSEN PEMULA**



**PROFIL KADAR GULA DARAH DIABETES DENGAN METODE  
INDUKSI *STRATIFIED DOSE* STREPTOZOTOCIN (SD-STZ)  
DAN *MULTI LOW DOSE* STREPTOZOTOCIN (MLD-STZ)**

**Peneliti**

**drg. Nuzulul Hikmah, M.Biomed 0017078106**

**Dibiayai oleh**

**DIPA Universitas Jember Tahun Anggaran 2014  
No. DIPA-023.04.2.414995/2014**

**UNIVERSITAS JEMBER  
DESEMBER, 2014**

# **Profil Kadar Gula Darah Diabetes dengan Metode Induksi *Stratified Dose* Streptozotocin (SD-STZ) dan *Multi Low Dose* Streptozotocin (MLD-STZ)**

**Nuzulul Hikmah**

Laboratorium Biomedik, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember, Indonesia

## **Abstract**

The prevalence of diabetes increased from year to year. Diabetic animal model was developed to study the pathogenesis and treatment in diabetes. The aim of this study was to determine the profile of diabetic blood glucose levels using a stratified dose streptozotocin (STZ-SD) and multi-low dose streptozotocin (MLD-STZ) induction methods. 27 Wistar rats were divided into three groups, control group, SD-STZ group, and MLD-STZ group. The induction of experimental animal was using the method of SD-STZ and MLD-STZ for 5 consecutive days intraperitoneally. SD-STZ method using stratified dose of 40, 35, 30, 25, and 20 mg/Kg of body weight, while MLD-STZ method using a dose of 20 mg/Kg of body weight for 5 times. The measurement of blood glucose level (BGL) and body weight (BW) in animal was made on 2, 4, 7, and 14 days after STZ induction. The results of this study indicate that the diabetic conditions ( $BGL \geq 300$  mg/dl) on the SD-STZ induction method was more stable, and no deaths occurred in experimental animals.

*Keywords: Streptozotocin (STZ), diabetes, blood glucose level (BGL).*

## **Abstrak**

Prevalensi diabetes meningkat dari tahun ke tahun, sehingga fenomena ini menjadi pertimbangan pada perawatan di bidang Kedokteran Gigi. Model hewan coba dengan diabetes dikembangkan untuk mempelajari patogenesis dan penatalaksanaan pada diabetes. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui profil kadar gula darah diabetes menggunakan metode induksi *stratified dose* streptozotocin (SD-STZ) dan *multi low dose* streptozotocin (MLD-STZ). 27 ekor tikus *Wistar* yang terbagi menjadi 3 kelompok yaitu, kelompok kontrol, kelompok perlakuan SD-STZ, dan kelompok perlakuan MLD-STZ. Setelah diaklimatisasi, dilakukan induksi pada hewan coba dengan metode SD-STZ dan MLD-STZ selama 5 hari berturut-turut secara intraperitoneal. Metode SD-STZ menggunakan dosis bertingkat yaitu 40, 35, 30, 25, dan 20 mg/kgBB, sedangkan metode MLD-STZ menggunakan dosis 20 mg/kgBB sebanyak 5 kali. Pengukuran kadar gula darah dan berat badan pada hewan coba dilakukan pada hari ke-2, 4, 7, dan 14 hari setelah induksi STZ. Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa dengan metode induksi SD-STZ kondisi diabetes ( $KGD \geq 300$  mg/dl) pada hewan coba lebih stabil serta tidak terjadi kematian pada hewan coba.

**Kata kunci:** Streptozotocin (STZ), diabetes, kadar gula darah (KGD).

## **EXECUTIVE SUMMARY**

Judul : Profil Kadar Gula Darah Diabetes dengan Metode  
Induksi *Stratified Dose* Streptozotocin (SD-STZ) dan  
*Multi Low Dose* Streptozotocin (MLD-STZ)

Peneliti/Pelaksana  
Nama Lengkap : drg. Nuzulul Hikmah, M.Biomed  
NIDN : 0017078106  
Sumber Dana : DIPA UniversitasJember  
Diseminasi : belum ada  
Alamat surel (e-mail) : nuzulul.drg@gmail.com  
Perguruan Tinggi : Universitas Jember

Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Jember, 10 Desember 2014  
Ketua,

drg. Nuzulul Hikmah, M.Biomed  
NIP. 198107172008012017

# Profil Kadar Gula Darah Diabetes dengan Metode Induksi *Stratified Dose* Streptozotocin (SD-STZ) dan *Multi Low Dose* Streptozotocin (MLD-STZ)

Nuzulul Hikmah

Laboratorium Biomedik, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember, Indonesia  
Email : nuzulul.drg@gmail.com

## Pendahuluan

Diabetes mellitus (DM) merupakan gangguan metabolik yang ditandai dengan defek pada sekresi atau aksi insulin, atau keduanya, yang menyebabkan hiperglikemia kronis dan gangguan metabolisme karbohidrat, lemak, dan protein [1]. Jumlah penderita diabetes meningkat sejalan dengan pertumbuhan populasi, penuaan, urbanisasi, peningkatan prevalensi obesitas, serta inaktivitas fisik. Secara epidemiologis diperkirakan bahwa pada tahun 2030, prevalensi diabetes melitus di Indonesia mencapai 21,3 juta orang [2]. Fenomena ini menjadi perhatian yang penting pada kesehatan secara umum, khususnya menjadi pertimbangan pada perawatan di bidang Kedokteran Gigi.

Streptozotocin (STZ) (*2-deoxy-2-(((methylnitrosoamino)carbonyl)amino)-D-glucopyranose*) merupakan *cytotoxic methylnitrosourea moiety (N-methyl-N-nitrosourea)* yang melekat pada molekul glukosa (*2-deoxyglucose*). STZ merupakan agen diabetogenik, digunakan sebagai eksperimen diabetes melitus pada hewan coba. STZ menghambat sekresi insulin dan menyebabkan nekrosis pada sel beta pankreas [3].

Metode induksi STZ yang telah dikembangkan saat ini adalah *Single dose* STZ dan *Multiple low dose* STZ dengan berbagai dosis. Metode *single dose* STZ dengan dosis 65 mg/KgBB secara intraperitoneal dilaporkan memiliki keterbatasan, diantaranya kematian pada satu ekor tikus pada setiap kelompok oleh karena penyebab yang tidak diketahui [4]. Metode *Multiple low dose* STZ dengan dosis 40 mg/KgBB selama 5 hari menunjukkan kondisi diabetes yang signifikan pada minggu ke-3 (KGD: 334,16±17,5 mg/dl) dan minggu ke-4 (KGD: 325,7±30,8 mg/dl), serta tidak terjadi kematian pada hewan coba [5]. Metode *Multiple low dose* STZ juga telah dikembangkan menggunakan dosis 20 mg/KgBB selama 5 hari [6], dan dilaporkan terjadi kondisi diabetes pada minggu kedua dengan rata-rata KGD 549,2±11,76 mg/dl [7].

Kegagalan memperoleh tikus diabetes juga disebabkan oleh karena terjadi penurunan kadar gula darah pada beberapa hewan coba setelah terjadi peningkatan kadar gula darah > 300 mg/dl [4,5]. Penelitian terdahulu belum melaporkan apakah metode induksi yang digunakan dapat menghasilkan kondisi diabetes yang stabil serta tidak terjadi penurunan kadar gula darah pada hewan coba oleh karena penyebab yang tidak diketahui, sehingga hewan coba dianggap tidak menderita diabetes. Oleh karena itu, pada penelitian ini akan dikembangkan metode induksi STZ dengan dosis bertingkat (*Stratified Dose STZ/SD-STZ*) selama 5 hari berturut-turut dengan dosis 40, 35, 30, 25, dan 20 mg/KgBB secara intraperitoneal. Metode ini diharapkan dapat menghasilkan kondisi hiperglikemia yang lebih stabil pada kondisi diabetes.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui profil kadar gula darah diabetes dengan metode induksi *stratified dose streptozotocin* (SD-STZ) dan *multi low dose Streptozotocin* (MLD-STZ).

## **Bahan dan Metode**

### **Hewan Coba dan Sampel**

Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain *Wistar*, yang diperoleh dari Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Kriteria inklusi dalam penelitian ini adalah, (a) kondisi fisik tikus putih sehat dan tidak mengalami kelainan, (b) jenis kelamin jantan, (c) usia 4 bulan, (d) Berat badan 250-300 gram. Kriteria eksklusi nya adalah, (a) tikus mengalami cacat atau kelainan, (b) tikus yang mati selama penelitian, (c) pada pemeriksaan kadar gula darah hari ke 3 belum menunjukkan tanda hiperglikemia.

Besar sampel dalam penelitian ini adalah 27 ekor tikus *Wistar* yang terbagi menjadi 3 kelompok yaitu, kelompok kontrol, kelompok perlakuan SD-STZ, dan kelompok perlakuan MLD-STZ. Penelitian dilakukan setelah mendapat persetujuan dari Komite Etik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Gadjah Mada.

### **Pembuatan Larutan stok Streptozotocin (STZ)**

STZ dilarutkan pada aquadest kemudian di tetesi dengan buffer sitrat 0,1 M sampai didapatkan larutan STZ dengan pH 4,5. Larutan STZ kemudian divortex hingga homogen dan disimpan pada suhu 4°C.

## **Perlakuan Hewan Coba**

Setelah Hewan coba diaklimatisasi selama 7 hari, dilakukan induksi pada kelompok MLD-STZ dengan dosis STZ sebesar 20 mg/kgBB sebanyak 5 kali berturut-turut selama 5 hari. Pada kelompok SD-STZ dilakukan induksi STZ dengan dosis bertingkat, dimulai dengan dosis 40 mg/kgBB pada hari pertama, 35 mg/kgBB pada hari kedua, 30 mg/kgBB pada hari ketiga, 25 mg/kgBB pada hari keempat dan 20 mg/KgBB pada hari kelima. Induksi STZ dilakukan secara intraperitoneal. Hewan coba dimasukkan dalam kandang dan diinkubasi selama 14 hari.

## **Pengukuran Kadar Glukosa Darah (KGD) dan Berat Badan (BB)**

Selama inkubasi, hewan coba diobservasi kadar glukosa darahnya yang diambil dari vena ekor tikus pada hari ke-2, 4, 7, dan 14 setelah induksi STZ. Tikus dengan diabetes ditandai dengan Kadar Glukosa Darah (KGD)  $\geq 300$  mg/dl. Berat badan pada hewan coba juga diukur pada hari ke-2, 4, 7, dan 14 setelah induksi STZ.

## **Pengamatan**

Kadar gula darah (KGD) diamati menggunakan pengukur Kadar Gula Digital dan *Glucostick* (Gluco-Dr) dalam satuan mg/dl pada vena ekor tikus. Berat badan diukur menggunakan timbangan digital (Weston).

## **Analisis Data**

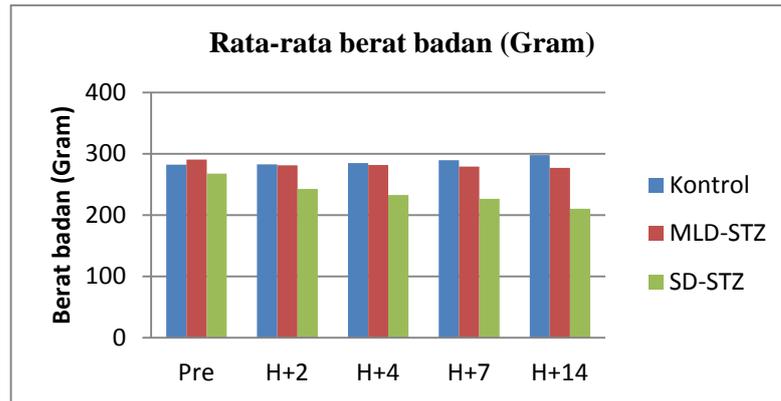
Data yang diperoleh meliputi kadar gula darah (KGD) dan berat badan (BB) hewan coba sebelum dan sesudah perlakuan. Data hasil penelitian selanjutnya dianalisis menggunakan uji *t* dengan SPSS 20.0 *software*.

## **Hasil**

### **Berat Badan**

Hasil penghitungan berat badan pada hewan coba sebelum dan sesudah induksi Streptozotocin (STZ) ditunjukkan pada Gambar 1 dibawah ini.

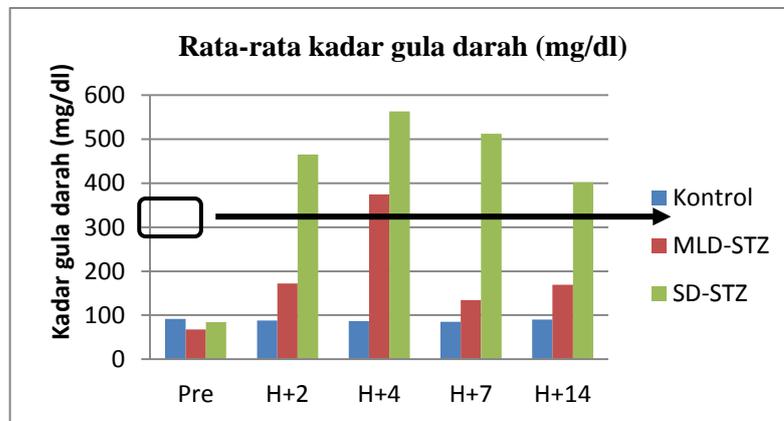
Dari Gambar 1 dapat diketahui bahwa rata-rata berat badan pada kelompok kontrol mengalami peningkatan. Hasil yang berbeda nampak pada kelompok perlakuan baik kelompok MLD-STZ maupun SD-STZ. Kelompok perlakuan SD-STZ mengalami penurunan yang tajam dibandingkan dengan kelompok perlakuan MLD-STZ.



**Gambar 1.** Rata-rata berat badan (BB, gram) pada kelompok kontrol, kelompok perlakuan MLD-STZ, dan kelompok perlakuan SD-STZ sebelum dan sesudah induksi STZ. Pre (pengukuran sebelum induksi), H+2 (pengukuran pada hari ke-2 setelah induksi), H+4 (pengukuran pada hari ke-4 setelah induksi), H+7 (pengukuran pada hari ke-7 setelah induksi), dan H+14 (pengukuran pada hari ke-14 setelah induksi).

### Kadar Gula Darah

Hasil penghitungan kadar gula darah pada hewan coba sebelum dan sesudah induksi Streptozotocin (STZ) ditunjukkan pada Gambar 2 dibawah ini.



**Gambar 2.** Rata-rata kadar gula darah (KGD, mg/dl) pada kelompok kontrol, kelompok perlakuan MLD-STZ, dan kelompok perlakuan SD-STZ sebelum dan sesudah induksi STZ. Pre (pengukuran sebelum induksi), H+2 (pengukuran pada hari ke-2 setelah induksi), H+4 (pengukuran pada hari ke-4 setelah induksi), H+7 (pengukuran pada hari ke-7 setelah induksi), dan H+14 (pengukuran pada hari ke-14 setelah induksi). Anak panah hitam menunjukkan batas nilai KGD diabetes (KGD  $\geq$  300 mg/dl).

Dari Gambar 2 dapat diketahui bahwa rata-rata kadar gula darah pada kelompok kontrol berada pada kondisi KGD yang normal. Dengan berpedoman pada nilai kadar gula darah pada tikus diabetes  $\geq$  300 mg/dl, maka pada kelompok

perlakuan MLD-STZ, terjadi peningkatan rata-rata kadar gula darah pada hari ke 4 setelah induksi (374,2 mg/dl) namun mengalami penurunan kembali pada hari ke 14 setelah induksi (169,1 mg/dl).

Pada kelompok perlakuan SD-STZ terjadi peningkatan rata-rata kadar gula darah pada hari ke 2 (464,7 mg/dl) dan hari ke 14 (563 mg/dl). Rata-rata kadar gula darah pada kelompok perlakuan SD-STZ pada hari ke 7 dan ke 14 mengalami penurunan sebesar 511,9 mg/dl dan 401 mg/dl, namun masih dalam kategori tikus diabetes. Hasil ini menunjukkan bahwa KGD pada kelompok perlakuan SD-STZ lebih stabil diatas 300 mg/dl, baik pada hari ke 2, 4, 7 dan 14. Selanjutnya dilakukan uji *t* untuk mengetahui perbandingan antara kadar gula darah pada kelompok perlakuan MLD-STZ dan SD-STZ (Tabel 1).

Hasil uji statistik menunjukkan perbedaan yang bermakna KGD sebelum induksi dan sesudah induksi pada kelompok perlakuan SD-STZ dan MLD-STZ. Hasil uji statistik juga menunjukkan perbedaan yang bermakna KGD pada kelompok perlakuan SD-STZ antara H+4 - H+14 dan H+7 - H+14. Pada kelompok perlakuan MLD-STZ terlihat perbedaan yang bermakna secara statistik pada H+2 - H+4, H+4 - H+7, dan H+4 - H+14.

**Tabel 1. Hasil Uji t Rata-rata Kadar Gula Darah pada Kelompok SD-STZ dan MLD-STZ.**

KGD	<i>p value</i>	
	SD-STZ	MLD-STZ
Kontrol	0.00*	0.00*
Pre - H+4	0.00*	0.00*
Pre - H+7	0.00*	0.10
Pre - H+14	0.00*	0.00*
H+2 - H+4	0.08	0.00*
H+2 - H+7	0.22	0.23
H+2 - H+14	0.17	0.93
H+4 - H+7	0.08	0.00*
H+4 - H+14	0.00*	0.00*
H+7 - H+14	0.02*	0.30

Keterangan : \* = berbeda bermakna secara statistik (*p value* < 0.05).

## Pembahasan

Penelitian ini menggunakan model tikus diabetes 2, 4, 7 dan 14 hari. Perbedaan waktu bertujuan untuk mengetahui perbedaan kadar gula darah oleh

karena perbedaan lama diabetes yang singkat. Konversi umur model tikus dengan umur manusia menunjukkan bahwa 20 hari umur tikus kurang lebih sama dengan 2 tahun umur manusia [8]. Sehingga pada model tikus diabetes 14 hari, dapat dianalogikan dengan manusia yang telah menderita diabetes selama kurang lebih 17 bulan.

Hasil pada penelitian ini menunjukkan bahwa rata-rata berat badan pada kelompok kontrol mengalami peningkatan. Hasil yang berbeda nampak pada kelompok perlakuan baik kelompok MLD-STZ maupun SD-STZ. Kelompok perlakuan SD-STZ mengalami penurunan yang tajam dibandingkan dengan kelompok perlakuan MLD-STZ (Gambar 1). Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian terdahulu dimana pada model tikus diabetes dengan induksi Streptozotocin terjadi penurunan berat badan yang signifikan pada minggu ke 2 setelah induksi STZ [9].

Induksi diabetes menggunakan STZ berkaitan dengan penurunan berat badan oleh karena peningkatan pengecilan otot (pada proses *gluconeogenesis* dan *glycogenolysis*) dan hilangnya protein jaringan [10,11]. Defisiensi insulin dapat menyebabkan berbagai gangguan metabolisme, antara lain peningkatan glukosa darah, penurunan kadar protein dan peningkatan kadar kolesterol dan trigliserida [12].

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa rata-rata kadar gula darah pada kelompok perlakuan SD-STZ lebih stabil diatas 300 mg/dl jika dibandingkan pada kelompok perlakuan MLD-STZ (Gambar 2). Hasil ini menunjukkan bahwa metode induksi SD-STZ menghasilkan kondisi hiperglikemia ( $KGD \geq 300$  mg/dl) yang lebih stabil dibandingkan menggunakan metode induksi MLD-STZ. Hasil uji statistik menunjukkan perbedaan yang bermakna KGD sebelum dan sesudah induksi, baik pada kelompok perlakuan SD-STZ dan MLD-STZ (Tabel 1). Hasil uji statistik KGD pada kelompok perlakuan SD-STZ dan MLD-STZ setelah induksi menunjukkan perbedaan yang tidak bermakna pada sebagian besar kelompok yang diuji. Hasil ini menunjukkan bahwa nilai kadar gula darah pada hari ke 2, 4, 7, dan 14 dengan metode induksi SD-STZ dan MLD-STZ secara umum tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna.

Kadar glukosa darah digunakan untuk menegakkan diagnosis diabetes. Hiperglikemia pada diabetes disebabkan defisiensi sekresi insulin oleh karena disfungsi sel beta pankreas atau resistansi aksi insulin pada hati dan otot, atau kombinasi keduanya [13].

Pada hewan coba diabetes dengan metode induksi SD-STZ menunjukkan kondisi hiperglikemia yang lebih stabil. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh dosis induksi Streptozotocin yang lebih besar, namun diberikan secara bertingkat menuju ke dosis yang lebih kecil. Pemberian dosis bertingkat dimaksudkan sebagai respon adaptasi pada model tikus diabetes terhadap pemberian Streptozotocin. Kondisi hiperglikemia yang kurang stabil pada metode induksi MLD-STZ dimungkinkan oleh karena pemberian dosis berulang yang lebih kecil, sehingga terjadi penurunan kadar gula darah pada hari ke 7 dan 14 setelah induksi. Kondisi KGD yang kurang stabil dan reversible dimungkinkan oleh karena proses regenerasi dari kerusakan sel beta pankreas. Beberapa bahan penyebab diabetes pada hewan coba seperti Alloxan, dapat menyebabkan regenerasi spontan dari sel beta pankreas [14].

Streptozotocin (STZ) merupakan agen diabetogenik, yang digunakan sebagai eksperimen diabetes melitus pada hewan coba. STZ menghambat sekresi insulin dan menyebabkan nekrosis pada sel sel beta pankreas [3]. STZ dapat menghambat biosintesis dan sekresi insulin melalui gangguan pada metabolisme glukosa dan konsumsi oksigen [3]. *Streptozotocin-induced diabetes mellitus* (STZ-DM), yang disebabkan oleh karena destruksi pada sel sel beta pankreas mempunyai kesamaan dengan diabetes tipe 1 pada manusia, yang ditandai dengan hiperglikemia, glukosuria, polifagi, hipoinsulinemia, hiperlipidemia, serta penurunan berat badan. STZ-DM juga dapat menunjukkan beberapa komplikasi yang meliputi peningkatan kerentanan terhadap infeksi, penyakit kardiovaskular, *retinopathy*, perubahan pada angiogenesis, gangguan penyembuhan luka, penurunan ekspresi *growth factor*, dan penurunan pembentukan tulang [15,16].

Keuntungan penggunaan STZ pada induksi diabetes antara lain, kondisi diabetes oleh karena STZ lebih stabil jika dibandingkan bahan yang lain, serta model hewa coba yang dihasilkan dapat digunakan sebagai studi ekperimental dalam jangka waktu yang lama. Kerugian penggunaan STZ pada induksi diabetes yaitu tingginya tingkat kematian, serta kegagalan mendapatkan kondisi diabetes (Kumar *et al.*,

2012). Hasil pada penelitian ini menunjukkan bahwa dengan metode induksi SD-STZ kondisi diabetes ( $KGD \geq 300$  mg/dl) pada hewan coba lebih stabil serta tidak terjadi kematian pada hewan coba.

### Daftar Pustaka

1. Alberti KG dan Zimmet PZ. 1998. Definition, Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus and Its Complications. Part 1: Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus Provisional Report of A WHO Consultation. *Diabet Med* 1998; 15: 539–553.
2. Wild S, Roglic G, Green A, Sicree R, King H. 2004. Global Prevalence of Diabetes Estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes Care* 27:1047–1053.
3. Lenzen S. 2007. Alloxan and Streptozotocin Diabetes. [www.saw-leipzig.de/endo\\_07-lenzen\\_3.pdf](http://www.saw-leipzig.de/endo_07-lenzen_3.pdf). Diakses pada tanggal 30 Oktober 2012.
4. Nurdiana, Permatasari N, Setyawati dan Ali M. 1998. Efek Streptozotocin Sebagai Bahan Diabetogenik pada Tikus Wistar dengan Cara Pemberian Intraperitoneal dan Intravena. *Majalah Kedokteran Unibraw* Vol. XIV, No. 2 Agustus 1998. pp. 66-73.
5. Arora S, Ojha K, dan Vohora D. 2009. Characterisation of Streptozotocin Induced Diabetes Mellitus in Swiss Albino Mice. *Global Journal of Pharmacology*, 3 (2): 81-84, 2009.
6. Aulanni'am. 2011. Superoxide Dismutase (SOD) Activity and Histological Pancreas of Type 1 Diabetes Mellitus Rats which Get The Temu Giring (*Curcuma heyneana*) Extract Treatment. *Media Kedokteran Hewan* Vol. 27-No 1.
7. Herawati A, Aulanni'am, dan Prasetyawan S. 2012. The role of d-alpha tocopherol Therapy to Blood Glucose Levels and Levels of MDA (malondialdehyde) in diabetes mellitus Type 1 Rats by MLD-STZ. *Veterinaria Medica*. Vol. 5 No. 3 Nopember 2012.
8. Rajashree R, Kholkute SD, dan Goudar SS. 2011. Effects Duration of Diabetes on Behavioural and Cognitive Parameters in Streptozotocin-Induced Juvenile Diabetic Rats. *Malaysian J Med Sci*. Oct-Dec 2011; 18(4): 26-31.
9. Minaiyan M, Ghannadi A, Movahedian A dan Hakim-Elahi I. 2014. Effect of *Hordeum vulgare* L. (Barley) on blood glucose levels of normal and STZ-induced diabetic rats. *Research in Pharmaceutical Sciences*, June 2014; 9(3): 173-178.
10. Kato A, Minoshima Y, Yamamoto J, Adachi I, Watson A, dan Nash R. 2008. Protective Effects of Dietary Chamomile Tea on Diabetic Complications. *J. Agric. Food Chemistry* 2008; 56: 8206–8211.
11. Emam MA. 2012. Comparative evaluation of antidiabetic activity of *Rosmarinus officinalis* L. and *Chamomile recutita* in streptozotocin induced diabetic rats. *Agric.Biol.J.N.Am.*, 2012, 3(6): 247-252.
12. Tenpe CR dan Yeole PG. 2009. Comparative evaluation of antidiabetic activity of some marketed polyherbal formulations in alloxan induced diabetic rats. *International Journal of Pharm Tech Research* 2009;1(1):43-49.

13. Mealey BL dan Ocampo GL. 2007. Diabetes Mellitus and Periodontal Disease. *Periodontology 2000*, Vol. 44, 2007, 127-153.
14. Kumar S, Singh R, Vasudeva N, dan Sharma S. 2012. Acute and Chronic Animal Models for The Evaluation of Anti-diabetic Agents. *Cardiovascular Diabetology* 2012, 11:9.
15. Kunjathoor VV, Wilson DL, dan LeBoeuf RC. 1996. Increased Atherosclerosis in Streptozotocin-induced Diabetic Mice. *J. Clin. Invest.* Volume 97, Number 7, April 1996, 1767–1773.
16. Lu H, Kraut D, Gerstenfeld LC, dan Graves DT. 2003. Diabetes Interferes with the Bone Formation by Affecting the Expression of Transcription Factors that Regulate Osteoblast Differentiation. *Endocrinology* 144(1):346–352.