

**PENGARUH EKSTRAK DAUN KEMIRI (*Aleurites moluccana*)
TERHADAP JUMLAH SEL ENDOTEL ARTERI EKOR TIKUS
(*Rattus norvegicus strain Wistar*) MODEL DIABETES MELLITUS TIPE 2**

Adeliza Firzarosany Insanitaqwa¹, Rachmad Sarwo Bekti², Dian Nugrahenny³

¹Program Studi Kedokteran, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang

²Laboratorium Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang

³Laboratorium Farmakologi, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang

ABSTRAK

Diabetes Mellitus (DM) merupakan suatu kelompok penyakit metabolik dengan karakteristik hiperglikemia yang terjadi karena kelainan sekresi insulin, kerja insulin, atau keduanya. Kondisi hiperglikemia pada DM dapat meningkatkan produksi radikal bebas dalam tubuh melalui berbagai mekanisme dan menyebabkan terjadinya stres oksidatif. Radikal bebas yang berlebihan dapat menginduksi apoptosis pada sel endotel vaskular sehingga sel endotel tersebut terlepas dari dinding pembuluh darah. Ekstrak daun kemiri (*Aleurites moluccana*) memiliki kandungan swertisin dan rhamnosylswertisin yang memiliki efek anti diabetes dengan cara menghambat enzim α -glukosidase dan memiliki aktivitas antioksidan. Swertisin juga memiliki potensi dalam meregenerasi sel-sel beta pankreas. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun kemiri terhadap jumlah sel endotel pada arteri ekor tikus Wistar dengan DM tipe 2. Penelitian eksperimental ini menggunakan 30 ekor tikus Wistar jantan sebagai hewan coba yang dibagi menjadi lima kelompok, yaitu kelompok N (kontrol negatif), kelompok DM (kontrol positif), serta kelompok DK1, DK2, dan DK3 yang diberi ekstrak daun kemiri dosis 100 mg/kgBB, 200 mg/kgBB, dan 400 mg/kgBB. Jumlah sel endotel arteri ekor diamati dan dihitung menggunakan mikroskop dengan perbesaran 400x. Hasil uji statistik menggunakan One Way ANOVA menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$). Pada uji Post Hoc menunjukkan bahwa pada kelompok DK1 terjadi peningkatan jumlah sel endotel secara signifikan ($p < 0,05$). Sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun kemiri memiliki pengaruh dalam meningkatkan jumlah sel endotel arteri ekor dengan efek optimal terdapat pada pemberian dosis 100 mg/kgBB.

Kata kunci : ekstrak daun kemiri, sel endotel, arteri ekor, diabetes mellitus

ABSTRACT

Diabetes Mellitus (DM) is a group of metabolic diseases characterized by hyperglycemia due to defects in insulin secretion, insulin action, or both. Exposure of high glucose level in DM enhances free radical production through several mechanisms and induces oxidative stress. Excessive in free radicals may induce vascular endothelial cells apoptosis and cause endothelial cell shedding from the vessel wall. The presence of swertisin and rhamnosylswertisin in candlenut (*Aleurites moluccana*) leaf extract have an anti diabetic effect

through inhibiting α -glucosidase enzyme and also have antioxidant activity. Swertisin also has the potential in regenerating new beta cells in pancreas. This study was conducted to determine the potential of candlenut leaf extract on endothelial cell count in tail artery of Wistar rats with DM type 2. Thirty male Wistar rats in this experimental study were divided into five groups, group N (negative control), group DM (positive control), and group DK1, DK2, DK3 were given the candlenut leaf extract 100 mg/kgBW, 200 mg/kgBW, and 400 mg/kgBW respectively. Endothelial cell count in tail artery was examined and counted under microscope with 400x magnification. One Way ANOVA analysis had shown statistically significant difference between group means ($p < 0,05$). Multiple comparisons analysis using Post Hoc had shown statistically significant endothelial cell count increase in group DK1 ($p < 0,05$). In conclusion, candlenut leaf extract has the potential in increasing endothelial cell count in tail artery. The optimum effect of candlenut leaf extract was shown in dose of 100 mg/kgBW.

Keywords: candlenut leaf extract, endothelial cell, tail artery, diabetes mellitus

PENDAHULUAN

Diabetes Mellitus (DM) merupakan suatu kelompok penyakit metabolik dengan karakteristik hiperglikemia yang terjadi karena kelainan sekresi insulin, kerja insulin, atau kedua-duanya¹. Pada tahun 2015 jumlah penduduk dunia yang menderita DM diperkirakan sudah mencapai 415 juta jiwa dan pada tahun 2040 diperkirakan jumlah penderita DM di dunia akan mencapai jumlah 642 juta jiwa atau naik sebesar 155% dalam kurun waktu 25 tahun². Di Indonesia sendiri, angka kejadian penyakit DM ternyata masih cukup tinggi. Berdasarkan hasil Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) tahun 2013, prevalensi DM pada penduduk umur ≥ 15 tahun berdasarkan anamnesis yang terdiagnosis oleh dokter sebesar 1,5% atau sebanyak 3.564.620 jiwa menderita DM. Angka prevalensi DM tersebut meningkat apabila dibandingkan dengan prevalensi DM berdasarkan Riskesdas tahun 2007 yang hanya sebesar 1.1%. Di Jawa Timur, prevalensi DM tahun 2013 berdasarkan

anamnesis yang terdiagnosis oleh dokter sebesar 2,1% atau sebanyak 787.012 jiwa menderita DM³.

Kadar glukosa darah yang tidak terkontrol pada DM dapat menyebabkan timbulnya komplikasi-komplikasi yang tidak diinginkan. Komplikasi tersebut dapat meningkatkan morbiditas dan mortalitas individu dengan DM. Diabetes Mellitus dan kondisi hiperglikemia dapat meningkatkan produksi radikal bebas dan menyebabkan terjadinya disfungsi dan kerusakan sel endotel. Rusaknya sel endotel dapat menyebabkan lepasnya sel tersebut dari dinding pembuluh darah sehingga terjadi denudasi vaskular dan memicu terjadinya proses aterosklerosis^{4,5}.

Kemiri (*Aleurites moluccana*) yang tergolong dalam famili *Euphorbiaceae* merupakan tanaman yang sangat mudah untuk tumbuh dan telah menyebar luas hampir ke seluruh pulau-pulau di Indonesia sehingga tanaman ini mudah dijumpai dimana-mana⁶. Ekstrak daun kemiri

memiliki kandungan flavonoid C-glikosida yaitu swertisin dan rhamnosylswertisin yang diduga memiliki efek anti diabetes sehingga dapat menurunkan terjadinya aterosklerosis dan disfungsi endotel pada DM. Swertisin dan rhamnosylswertisin dapat menghambat aktivitas enzim α -glukosidase sehingga akan menurunkan kadar glukosa darah *postprandial*⁷. Swertisin dan rhamnosylswertisin sebagai senyawa flavonoid mengandung senyawa fenolik yang memiliki aktivitas antioksidan sehingga akan menurunkan jumlah radikal bebas dan kejadian stres oksidatif pada DM⁸. Swertisin juga dapat memfasilitasi regenerasi sel-sel beta pankreas dan meningkatkan produksi insulin melalui jalur p38 *mitogen-activated protein kinase* (MAPK)⁹.

Berdasarkan hal di atas, adanya dugaan efek anti diabetes pada kandungan ekstrak daun kemiri membuat peneliti ingin mengetahui lebih lanjut mengenai efek tersebut terhadap peningkatan jumlah sel endotel pada pembuluh darah arteri. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk membuktikan pengaruh pemberian ekstrak daun kemiri (*Aleurites moluccana*) dalam meningkatkan jumlah sel endotel arteri ekor pada tikus (*Rattus norvegicus strain Wistar*) model DM Tipe 2. Dengan pemberian ekstrak daun kemiri diharapkan jumlah sel endotel pembuluh darah arteri pada DM dapat meningkat.

METODE PENELITIAN

Jenis penelitian yang dilakukan merupakan studi eksperimental *in vivo* pada hewan coba tikus (*Rattus norvegicus strain Wistar*) jantan dengan desain *post test control group design*. Pada penelitian

ini, 30 ekor hewan coba dibagi ke dalam 5 kelompok, yakni satu kelompok kontrol negatif, satu kelompok kontrol positif, dan tiga kelompok perlakuan.

Kelompok kontrol negatif (N) diberikan pakan normal, kelompok kontrol positif (DM) diberi diet tinggi lemak dan injeksi STZ, kelompok perlakuan antara lain kelompok DK1 diberi diet tinggi lemak, injeksi STZ serta ekstrak daun kemiri dosis 100 mg/kgBB, kelompok DK2 diberi diet tinggi lemak, injeksi STZ serta ekstrak daun kemiri dosis 200 mg/kgBB, dan kelompok DK3 diberi diet tinggi lemak, injeksi STZ serta ekstrak daun kemiri dosis 400 mg/kgBB.

Pakan diet tinggi lemak dibuat dengan mencampurkan asam kolat 0,06 gram, kuning telur 2 gram, minyak kambing 4 gram, minyak babi 3,22 gram dan PARS-terigu 30 gram. Berat pakan diet tinggi lemak yang diberikan pada tikus adalah 40 gram/ekor/hari. Sedangkan untuk diet normal yang diberikan pada tikus terdiri dari campuran PARS, tepung terigu, dan air.

Pemberian ekstrak daun kemiri diberikan secara oral menggunakan spuit dan sonde sesuai dosis yang telah ditentukan. Semua kelompok perlakuan diadaptasikan dahulu dengan diberikan pakan normal selama 11 hari. Setelah aklimatisasi, selama 28 hari tikus diberi diet tinggi lemak (DM, DK1, DK2, DK3) dan kemudian tikus diinjeksi streptozotocin (STZ) secara intraperitoneal dengan dosis 25-30 mg/KgBB untuk membuat model tikus DM Tipe 2. Kadar glukosa darah tikus diukur 3 hari setelah injeksi STZ dan dinyatakan positif DM jika kadar glukosa darah acak > 200 mg/dl (11,1 mmol/L) atau gula darah puasa > 140 mg/dl (7,8 mmol/L)¹⁰. Tikus dipertahankan dalam

kondisi DM selama 28 hari berikutnya dan kemudian tikus diberikan ekstrak daun kemiri dengan dosis yang telah ditentukan dalam setiap kelompok selama 28 hari berikutnya dengan diet tinggi lemak tetap berjalan.

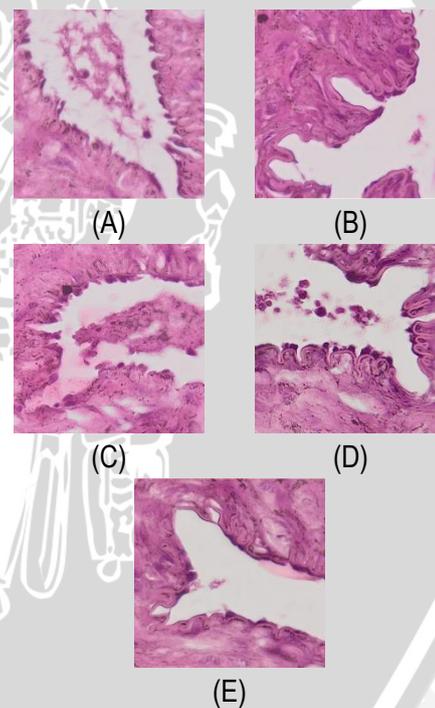
Tikus kemudian dilakukan anestesi menggunakan ketamin dosis 40 mg/kgBB intraperitoneal. Setelah lemas dan tidak bergerak lagi, kemudian dilakukan pembedahan dan *sacrifice* pada tikus dengan metode eksanguinasi yaitu pengambilan darah melalui jantung. Setelah itu dilakukan pengambilan arteri pada bagian ekor tikus. Organ sampel yang telah diambil diletakkan dalam tabung plastik dan difiksasi dengan formalin 10% untuk kemudian dibuat preparat histopatologi dengan pewarnaan Hematoksilin-Eosin (HE).

Data-data yang diperoleh dikelompokkan dan disajikan dalam bentuk tabel dan dilakukan analisis uji statistik menggunakan *One Way ANOVA* untuk membandingkan rata-rata jumlah sel endotel pada tiap kelompok perlakuan. Apabila pada hasil uji *One Way ANOVA* terdapat perbedaan yang bermakna, maka dapat dilanjutkan dengan uji *Post Hoc* metode *Least Significant Difference (LSD)* untuk mengetahui di mana letak perbedaan dari lima perlakuan yang diberikan. Uji statistik dilakukan pada derajat kepercayaan 95% dengan $\alpha = 0.05$. Hasil uji statistik dinyatakan bermakna bila $p < 0.05$.

HASIL PENELITIAN

Jumlah sel endotel arteri ekor diamati pada preparat arteri ekor yang discan terlebih dahulu menggunakan

mikroskop cahaya dengan pembesaran 400x, kemudian dilihat dan dihitung dengan menggunakan software *Scan Dot Slide Olyvia*. Penghitungan jumlah sel endotel dilakukan dengan menghitung jumlah semua sel endotel arteri ekor yang masih intak. Pengamatan dan penghitungan dilakukan oleh dua orang pengamat yang terlatih untuk memastikan hasil yang didapat adalah objektif. Data yang diperoleh kemudian dianalisis menggunakan program SPSS versi 16. Hasil pengamatan gambaran histopatologi sel endotel arteri ekor tikus pada tiap kelompok dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Perbandingan foto sediaan histopatologi arteri ekor tikus dengan metode pewarnaan HE perbesaran 400x

Keterangan:

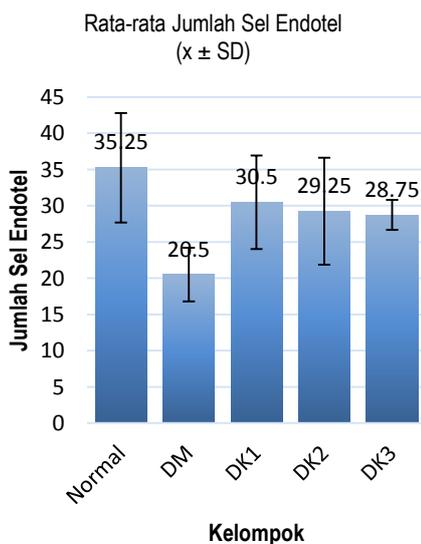
- (A) Kelompok kontrol negatif (N);
- (B) Kelompok kontrol positif (DM);
- (C) Kelompok perlakuan ekstrak daun kemiri dosis 100 mg/kgBB (DK1);
- (D) Kelompok

perlakuan ekstrak daun kemiri dosis 200 mg/kgBB (DK2); (E) Kelompok perlakuan ekstrak daun kemiri dosis 400 mg/kgBB (DK3).

Rerata hasil penghitungan jumlah sel endotel arteri ekor dari tiap kelompok ditampilkan pada Tabel 1. Diagram rerata jumlah sel endotel arteri ekor tikus dari tiap kelompok ditampilkan pada Gambar 2.

Tabel 1. Rerata jumlah sel endotel arteri ekor tikus.

	Kelompok Perlakuan	Rerata ± Standar Deviasi
N	Kontrol negatif	35,25 ± 7,54
DM	Kontrol positif	20,50 ± 3,70
DK1	Dosis 100 mg/kgBB	30,50 ± 6,46
DK2	Dosis 200 mg/kgBB	29,25 ± 7,37
DK3	Dosis 400 mg/kgBB	28,75 ± 2,06



Gambar 2. Diagram batang rerata jumlah sel endotel arteri ekor tikus.

Berdasarkan diagram di atas didapatkan bahwa rerata jumlah sel endotel arteri ekor tikus paling tinggi yaitu pada kelompok perlakuan DK1 sebesar 30,50 ± 6,46 dan rerata jumlah sel endotel arteri ekor paling rendah yaitu pada kelompok kontrol positif (DM) sebesar 20,50 ± 3,70.

Pada uji normalitas data didapatkan bahwa data untuk semua kelompok memiliki distribusi yang normal ($p > 0,05$) dan pada uji homogenitas data didapatkan varian data yang homogen ($p > 0,05$). Dilanjutkan dengan uji statistik *One Way ANOVA* dan didapatkan bahwa nilai $p = 0,039$ dan berdasarkan hasil tersebut maka $p < 0,05$ sehingga diketahui bahwa terdapat minimal satu kelompok dengan perbedaan jumlah sel endotel secara bermakna dari kelompok yang lain. Analisis dilanjutkan dengan uji *Post Hoc* yang bertujuan untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda secara signifikan dari hasil uji statistik *One Way ANOVA*, dengan menggunakan metode LSD, yang hasilnya ditampilkan dalam Tabel 2.

Tabel 2. Hasil uji *Post Hoc* rerata jumlah sel endotel pada tiap kelompok dengan metode LSD.

	N	DM	DK1	DK2	DK3
N	-	0,003	0,268	0,167	0,137
DM	0,003	-	0,029	0,051	0,064
DK1	0,268	0,029	-	0,766	0,678
DK2	0,167	0,051	0,766	-	0,905
DK3	0,137	0,064	0,678	0,905	-

Keterangan:

Nilai $p < 0,05$: terdapat perbedaan yang bermakna antara dua kelompok yang dibandingkan.

Nilai $p > 0,05$: tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara dua kelompok yang dibandingkan.

Pada hasil uji korelasi *Pearson*, didapatkan nilai signifikansi sebesar 0,160 yang berarti tidak terdapat hubungan yang bermakna antara peningkatan dosis ekstrak daun kemiri dengan peningkatan jumlah sel endotel pada arteri ekor tikus.

PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada kelompok DM (kontrol positif) terjadi penurunan jumlah sel endotel arteri ekor yang bermakna terhadap kelompok tikus normal (kontrol negatif) dengan $p = 0,003$ ($p < 0,05$). Penurunan jumlah sel endotel ini menunjukkan adanya kematian sel endotel yang berlebihan yang terjadi pada kelompok DM yang diberi diet tinggi lemak dan injeksi STZ.

Diet tinggi lemak merupakan jenis pakan tikus yang akan meningkatkan kejadian dislipidemia, obesitas, hiperglikemia, serta resistensi insulin yang biasa disebut dengan sindroma metabolik¹¹. Injeksi STZ pada tikus akan memberikan efek toksik pada sel-sel beta pankreas yang memproduksi insulin. STZ akan masuk ke dalam sel melalui transporter glukosa GLUT 2 dan menyebabkan alkilasi DNA dan kematian sel beta¹². Diet tinggi lemak disertai dengan injeksi STZ ini yang kemudian akan memicu terjadinya DM tipe 2.

Hiperglikemia yang terjadi pada DM tipe 2 akan meningkatkan produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS) melalui beberapa mekanisme yaitu autooksidasi glukosa, jalur poliol, pembentukan *advanced glycation end products* (AGEs),

aktivasi Protein Kinase C (PKC), dan peningkatan jalur heksosamin. Normalnya, produksi ROS akan dinetralisasi oleh mekanisme pertahanan dari antioksidan seluler. Namun, jika terjadi ketidakseimbangan antara antioksidan protektif dan produksi ROS inilah yang akan menyebabkan terjadinya stres oksidatif dan memicu gangguan dan kerusakan fungsi seluler^{13, 14}.

Kerusakan pada sel endotel dapat menginduksi terjadinya apoptosis. Apoptosis merupakan proses kematian sel yang terprogram¹⁵. Radikal bebas dapat mengaktifasi kaskade kaspase dan menginduksi terjadinya apoptosis pada sel endotel melalui beberapa mekanisme. Contohnya, melalui peningkatan rasio protein pro-apoptosis Bax terhadap protein anti-apoptosis Bcl-2^{15, 16}, peningkatan produksi prostaglandin E_2 melalui upregulasi ekspresi COX-2 yang dapat menginduksi kematian sel¹⁷, dan melalui aktivasi jalur *c-Jun N-terminal protein kinase* (JNK)^{5, 15}. Kematian yang terjadi pada sel endotel dapat menyebabkan lepasnya sel tersebut dari dinding pembuluh darah⁴. Lepasnya sel endotel tersebut akan membuat jumlah sel endotel intak pada dinding pembuluh darah menjadi berkurang.

Ekstrak daun kemiri terbukti dapat meningkatkan jumlah rerata sel endotel pada keadaan DM. Dari hasil uji statistik, diketahui bahwa peningkatan jumlah sel endotel pada kelompok tikus DM dengan pemberian ekstrak daun kemiri 100 mg/kgBB memiliki perbedaan secara bermakna terhadap kelompok tikus DM (kontrol positif) dengan $p = 0,029$ ($p < 0,05$).

Peningkatan jumlah sel endotel tersebut berkaitan dengan kandungan

swertisin dan rhamnosylswertisin yang terdapat pada ekstrak daun kemiri. Swertisin dan rhamnosylswertisin merupakan suatu flavonoid C-glikosida yang dapat menurunkan kadar glukosa darah *postprandial* dengan cara menghambat aktivitas enzim α -glukosidase. Enzim α -glukosidase merupakan enzim kunci pada pencernaan karbohidrat yang berfungsi mengkatalisa hidrolisis karbohidrat kompleks menjadi glukosa pada usus halus dan meningkatkan kadar glukosa darah *postprandial*. Penghambatan pada enzim ini akan menurunkan absorpsi glukosa usus karena karbohidrat tidak dapat dipecah menjadi glukosa, sehingga akan menurunkan kadar glukosa darah setelah makan⁷. Swertisin juga memiliki potensi dalam regenerasi sel beta pankreas. Swertisin dapat memfasilitasi *islet neogenesis* dari sel induk/progenitor pankreas melalui jalur p38 MAPK. Dengan adanya generasi sel-sel beta pankreas yang baru, maka produksi insulin juga dapat meningkat⁹. Swertisin dan rhamnosylswertisin sebagai senyawa flavonoid mengandung senyawa fenolik yang memiliki aktivitas antioksidan. Flavonoid dapat mengeliminasi radikal bebas secara langsung melalui donasi atom hidrogen. Dengan adanya aktivitas antioksidan dari swertisin dan rhamnosylswertisin ini, maka akan terjadi penurunan jumlah radikal bebas dan menurunkan kejadian stres oksidatif⁸. Mekanisme-mekanisme ini dapat menurunkan kejadian hiperglikemia dan stres oksidatif sehingga terjadi penurunan apoptosis sel endotel serta peningkatan jumlah sel endotel pada arteri ekor.

Pada kelompok tikus DM dengan pemberian ekstrak daun kemiri dosis 200

mg/kgBB (DK2) dan 400 mg/kgBB (DK3), didapatkan jumlah rata-rata sel endotel yang lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol positif DM, namun pada hasil uji statistik tidak menunjukkan peningkatan jumlah sel endotel yang signifikan ($p > 0,05$). Hasil yang tidak signifikan pada penelitian ini mungkin dikarenakan oleh nilai standar deviasi yang tinggi (lebih dari 10%) sehingga diperlukan penelitian lebih lanjut dengan jumlah sampel yang lebih besar agar hasilnya lebih homogen.

Berdasarkan uraian di atas, maka dapat disimpulkan bahwa hipotesis yang mengatakan bahwa ekstrak daun kemiri dapat meningkatkan jumlah sel endotel arteri ekor pada tikus DM tipe 2 terbukti pada penelitian ini. Efek optimal didapatkan pada kelompok tikus DM dengan pemberian ekstrak daun kemiri dosis 100 mg/kgBB.

Keterbatasan Penelitian

Terdapat faktor yang merupakan keterbatasan peneliti dalam melaksanakan penelitian mengenai pengaruh ekstrak daun kemiri terhadap jumlah sel endotel arteri ekor tikus Wistar model DM tipe 2, yaitu perendaman organ arteri ekor dalam larutan fiksasi formalin 10% dalam waktu yang terlalu lama memungkinkan terjadinya perbedaan kualitas pada sediaan histopatologi arteri ekor pada tikus.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian mengenai pengaruh ekstrak daun kemiri (*Aleurites moluccana*) terhadap jumlah sel endotel arteri ekor pada tikus (*Rattus norvegicus* strain Wistar) model DM tipe 2, maka diambil kesimpulan sebagai berikut:

1. Ekstrak daun kemiri (*Aleurites moluccana*) dapat meningkatkan jumlah sel endotel arteri ekor pada tikus (*Rattus norvegicus strain Wistar*) model DM tipe 2, dengan efek optimal pada dosis 100 mg/kgBB.
2. Peningkatan dosis ekstrak daun kemiri (*Aleurites moluccana*) tidak memiliki korelasi secara signifikan terhadap peningkatan jumlah sel endotel arteri ekor pada tikus (*Rattus norvegicus strain Wistar*) model DM tipe 2.

SARAN

Saran yang dapat diberikan sehubungan dengan penelitian yang telah dilakukan adalah sebagai berikut:

1. Diperlukan penelitian lebih lanjut dengan jumlah sampel yang lebih banyak agar standar deviasi data yang diperoleh tidak terlalu besar.
2. Diperlukan penelitian lebih lanjut dengan berbagai variasi dosis untuk mengetahui dosis optimal dan dosis toksik ekstrak daun kemiri.
3. Diperlukan penelitian lebih lanjut dengan rentang waktu pemberian ekstrak daun kemiri yang bervariasi untuk mengetahui rentang waktu pemberian ekstrak daun kemiri yang optimal.

DAFTAR PUSTAKA

1. American Diabetes Association. 2011. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*. Volume 34 Supplement 1: S62-S69.
2. International Diabetes Federation. 2015. IDF Diabetes Atlas 7th Edition (Online) <http://www.diabetesatlas.org>, diakses 18 September 2016.
3. Riskesdas. 2013. *Riset Kesehatan Dasar*. Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
4. Lampka, M., Grabczewska, Z., Jendryczka-Mackiewicz, E., Holynska-Iwan, I., Sukiennik, A., Kubica, J., Halota, W., Tyrakowski, T. 2010. Circulating endothelial cells in coronary artery disease. *Kardiologia Polska*. 68,10: 1100-1105.
5. Avogaro A., Albiero, M., Menegazzo, L., Kreutzenberg, S.D., Fadini, G.P. 2011. Endothelial Dysfunction in Diabetes: The role of reparatory mechanism. *Diabetes Care*. Volume 34. Supplement 2. S285-s290.
6. Krisnawati, H., Kallio, M. and Kanninen, M. 2011. *Aleurites moluccana* (L.) Willd.: Ecology, silviculture and productivity. CIFOR, Bogor
7. Wu, C., Shen, J., He, P., Chen, Y., Li, L., Zhang, L., Li, Y., Fu, Y., Dai, R., Meng, W., Deng, Y. 2012. The α -Glucosidase Inhibiting Isoflavones Isolated from *Belamcanda chinensis* Leaf Extract. *Rec. Nat.* 6(2): 110-120.
8. Prochazkova, D., Bousova, I., Wilhelmova, N. 2011. Antioxidant and prooxidant properties of flavonoids. *Fitoterapia*. 82(2011): 513-523.
9. Dadheech, N., Srivastava, A., Paranjape, N., Gupta, S., Dave, A., Shah, G.M., Bhonde, R.R., Gupta, S. 2015. Swertisin an anti-diabetic compound facilitate islet neogenesis from pancreatic stem/progenitor cells via p-38 MAP kinase-SMAD pathway: an in-vitro and in-vivo study. *PLoS ONE*. 10(6): e0128244.
10. Zhang, M., Lv, X.Y., Li, J., Xu, Z.G., Chen, L. 2008. The Characterization of

- High-Fat Diet and Multiple Low Streptozotocin Induced Type 2 Diabetes Rat Model. *Experimental Diabetes Research*. Volume 2008, Article ID 704045.
11. Buettner, R., Parhofer, K.G., Woenckhaus, M., Wrede, C.E., Kunz-Schughart, L.A., Scholmerich, J., Bollheimer, L.C. 2006. Defining high-fat-diet rat models: metabolic and molecular effects of different fat types. *Journal of Molecular Endocrinology*. 36(3):485-501.
 12. Deeds, M.C., Anderson, J.M., Armstrong, A.S., Gastineau, D.A., Hiddinga, H.J., Jahangir, A., Eberhardt, N.L., Kudva, Y.C. 2011. Single Dose Streptozotocin Induced Diabetes: Considerations for Study Design in Islet Transplantation Models. *Laboratory Animals*. 45(3): 131-140.
 13. Mohora, M., Greabu, M., Muscurel, C., Duta, C., Totan, A. 2007. The sources and the targets of oxidative stress in the etiology of diabetic complications. *Romanian J. Biophys*. 17(2): 63-84.
 14. Tangvarasittichai, Surapon. 2015. Oxidative stress, insulin resistance, dyslipidemia and type 2 diabetes mellitus. *World J Diabetes*. 6(3): 456-480.
 15. Oever, I.A., Raterman, H.G., Nurmohamed, M.T., Simsek, S. 2010. Endothelial Dysfunction, Inflammation, and Apoptosis in Diabetes Mellitus. *Mediators of Inflammation*. Volume 2010. Article ID 792393.
 16. Kageyama, S., Yokoo, H., Tomita, K., Yahara, N.K., Uchimodo, R., Matsuda, N., Yamamoto, S., Hattori, Y. 2011. High glucose-induced apoptosis in human coronary artery endothelial cells involves up-regulation of death receptors. *Cardiovascular Diabetology*. 10:73.
 17. Sheu, M.L., Ho, F.M., Yang, R.S., Chao, K.F., Lin, W.W., Lin-Shiau, S.Y., Liu, S.H. 2006. High Glucose Induces Human Endothelial Cell Apoptosis Through a Phosphoinositide 3-Kinase—Regulated Cyclooxygenase-2 Pathway. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2005;25: 539-545.
 18. Moncada, S. dan Higgs, E.A. 2006. The discovery of nitric oxide and its role in vascular biology. *British Journal of Pharmacology*. (2006)147: S193-S201.
 19. Chatterjee, A. dan Catravas, J.D. 2008. Endothelial nitric oxide (NO) and its pathophysiologic regulation. *Vascular Pharmacology*. 49(2008): 134-140.