

PENURUNAN KADAR GLUKOSA PADA TIKUS HIPERGLIKEMI DENGAN ASUPAN TEMPE KORO BENGUK (*Mucuna pruriens* L)

Christiana Retnaningsih
Program Studi Teknologi Pangan Fakultas Teknologi Pertanian
Unika Soegijapranata

ABSTRACT

A foodstuff that has a hypoglycemia potential is velvet beans (*Mucuna pruriens* L), especially when it is in the form of a fermented product, i.e. *tempe*. The aim of study was to prove the effect of velvet beans *tempe* intake on blood glucose levels

This research used randomized controlled group pre test- post test design using 50 male Sprague Dawley (SD) rats aged 2-3 months. The rats were subdivided into 5 groups, 10 rats per group, by means of random allocation. Group 1 is negative control (C-), group 2 is positive control (C+), group 3 is X₁.TK10%, group 4 is X₂.TK20%, group 5 is X₃.TK30%. The groups of C+, X₁, X₂, X₃ are induced by 40 mg/kg body weight streptozotocin dose by intra peritoneal injection. The research was conducted for 30 days. The data were analyzed with One-way *Anova*.

The results showed that streptozotocin injection increased the level of blood glucose. Bioassay experiment demonstrated that velvet bean *tempe* diet reduced the level of blood glucose in hyperglycemia rats.

Key word : Decreased glucose level, velvet bean *tempe*, hyperglycemia rat

PENDAHULUAN

Jumlah penderita diabetes (seluruh dunia) makin meningkat, yang pada tahun 2006 diperkirakan ada 246 juta orang dan akan menjadi 380 juta orang pada tahun 2025 (Anonim, 2008). Diabetes mellitus ditandai dengan hiperglikemi (kadar glukosa darah tinggi) dan merupakan penyakit kronis yang disebabkan oleh perubahan metabolisme pada karbohidrat dan lipid. Hal tersebut akan meningkatkan pembentukan *Reactive Oxygen Species* (ROS) dari reaksi glikasi dan oksidasi lipid sehingga menurunkan sistem pertahanan antioksidan (Kaneto, dkk., 1999; Percival, 1998). Hiperglikemi menyebabkan peningkatan ROS dalam mitokondria yang dapat merusak *deoxyribonucleat acid* (DNA) serta menurunkan kadar enzim antioksidan sel, sehingga sel β rentan terhadap stres oksidatif. (Kaneto, dkk. 1999, Brownlee, 2003; Brownlee, 2005).

Biji koro benguk mengandung senyawa fenolik. Berdasarkan hasil penelitian *in vitro* menunjukkan bahwa ekstrak metanol biji koro benguk (*Mucuna pruriens*) mempunyai aktivitas antioksidan. Kandungan total fenolik dari ekstrak metanol biji kacang koro menggunakan uji Folin-Ciocalteu menunjukkan 33,04 mg/g. Ekstrak metanol biji koro benguk pada konsentrasi 100 μ g/mL mempunyai kemampuan memerangkap radikal bebas *1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl* (DPPH) sebesar 90,16 %. (Rajeshwar, dkk., 2005)

Pada penelitian ini biji koro benguk diolah menjadi *tempe*. melalui proses fermentasi menggunakan kapang terutama *Rhizopus oligosporus* (Kasmidjo, 1994). Produk *tempe* mempunyai keunggulan yakni kandungan senyawa flavonoid, memiliki nilai pencernaan yang tinggi serta aktivitas antioksidan yang meningkat (Handajani, 2001; Christiana dkk. 2013).

Senyawa antioksidan dalam *tempe* koro benguk berupa flavonoid kelompok fenolik, bahan yang diduga mempunyai potensi memperbaiki kerusakan sel- β pankreas. Penelitian ini bertujuan membuktikan *tempe* koro benguk dapat menurunkan kadar glukosa darah pada tikus *Sprague Dawley* hiperglikemi akibat induksi *streptozotocin*.

METODE PENELITIAN

Bahan penelitian

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah *tempe* koro jenis koro benguk (*Mucuna pruriens* L), biji koro benguk diperoleh dari Baturetno-Wonogiri. Bahan-bahan lain untuk pakan tikus mengacu *American Institute of Nutrition* / AIN 1993 (Reeves, dkk., 1993) dan dibuat secara isokalori. Bahan kimia untuk analisa kadar glukosa serum digunakan glukosa kit (Glucocard test strip II, Arkray, Japan) dan untuk induksi diabetes digunakan *Streptozotocin* (Nacalai tesque, Inc. Kyoto,

Japan). Hewan percobaan yang digunakan adalah tikus putih jantan jenis *Sprague Dawley* berumur 2 - 3 bulan dengan berat badan antara 200 - 300 g , diperoleh dari Laboratorium Penelitian dan Pengkajian Terpadu (LPPT), Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

Alat-alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan antara lain peralatan untuk membuat tempe koro bengkuk, sentrifugasi kecil (Hettich EBA III), pH meter (HM-205), kandang tikus individual beserta perlengkapannya, syringe injeksi, *micro-hematocrite tube*, *Super Glucocard II test*, *Glucocard test strip II*.

Jalannya Penelitian

Persiapan komponen penyusun pakan

Pembuatan tempe koro bengkuk, selanjutnya tempe koro bengkuk dipotong dengan ukuran 5 mm lalu dikeringkan dengan *freeze dryer* hingga kadar air $\pm 13\%$ db (*dry base*) lalu ditepungkan dan diayak (lolos 60 mesh), lalu dianalisis komposisi gizi dan aktivitas antioksidannya dengan DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) (Porkony, dkk. 2001).

Pembuatan pakan perlakuan meliputi : a) Pakan standar ; b)Pakan dengan substitusi tempe koro bengkuk (TK) 10% dari total energi; c) Pakan dengan substitusi TK 20% dari total energi; d) Pakan dengan substitusi TK 30% dari total energi. Komposisi bahan pakan standar perlakuan dibuat secara isokalori dan mengacu pada American Institut of Nutrition /AIN 1993 (Reeves, dkk. 1993), tersaji pada Tabel 1.

Tabel 1. Komposisi pakan tikus dengan berbagai dosis tempe koro bengkuk yang dihitung secara isokalori

Komposisi pakan (g)	C+	X ₁ .TK10%	X ₂ .TK20%	X ₃ .TK30%
Pati jagung	620,7	620,7	522,01	423,32
Kasein	140	41,31	41,31	41,31
Tempe kacang koro bengkuk	-	98,69	197,38	296,07
Sukrosa	100	100	100	100
Minyak kedelai	40	40	40	40
Selulosa	50	50	50	50
Mineral mix	35	35	35	35
Vitamin mix	10	10	10	10
Kholin bitartrat	2,5	2,5	2,5	2,5
L-cystine	1,8	1,8	1,8	1,8

Sumber: Reeves, dkk. 1993

Tahapan penelitian dengan hewan percobaan

Tikus *Sprague Dawley* (tikus SD) sejumlah 50 ekor dengan berat badan (BB) 200 – 300 g dan umur 2-3 bulan diaklimatisasi untuk adaptasi. Tikus dipuasakan selama 10 jam, dengan tetap diberi minum *ad libitum*, selanjutnya diambil darahnya melalui vena *orbitalis* untuk diperiksa kadar glukosa darah dan aktivitas antioksidan SOD. Tikus kontrol negatif / C- sebanyak 10 ekor dipisahkan dari total sampel (50 ekor) yang sebelumnya dipilih secara acak. Sebanyak 40 ekor tikus diinduksi streptozotocin secara intra peritoneal dengan dosis 40 mg/kg BB. Kelompok kontrol negatif mendapatkan injeksi intra peritoneal dengan aquabides. Dua minggu (14 hari) kemudian kelompok tikus yang mendapat induksi STZ diperiksa kadar glukosa darahnya dan dipilih yang memiliki kadar glukosa ≥ 200 mg/dl. Tikus dikelompokkan menjadi 4 kelompok secara acak (masing-masing 10 ekor) meliputi : 1 kontrol positif, dan 3 kelompok perlakuan tempe (tempe koro bengkuk 10% total energi, 20% total energi, dan 30% total energi), dan dianalisis kadar glukosa darah (*pre test*). Tikus dipelihara selama 30 hari dan setelah itu diamati perubahan berat badan setiap minggu dan kadar glukosa darahnya (*post test*)

Analisis kadar glukosa darah (Anonim 2007)

Pemeriksaan kadar glukosa darah dilakukan melalui vena *orbitalis* tikus. Tetesan darah yang keluar pertama kali dibuang, tetesan darah berikutnya dihisap *Glucocard test strip II* , selanjutnya diperiksa dengan alat pemeriksaan glukosa darah *Super Glucocard II test meter* yang hasilnya dapat dibaca pada layar.

Analisis data

Data yang diperoleh diedit, ditabulasi dan dilakukan uji normalitas data untuk melihat sebaran distribusi data. Untuk mengetahui delta *pre test* dan *post test* pada perlakuan dianalisis dengan *Anova satu arah*. Analisis data menggunakan perangkat lunak SPSS (*Statistical Package for the Social Science*) 13 for Windows. (Weiss dan Hassett, 1982).

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Komposisi kimia tempe koro benguk

Dalam penelitian ini biji koro benguk dibuat tempe untuk meningkatkan nilai cerna dan menghilangkan senyawa antigizi seperti asam sianida (Handajani 2001). Hasil analisis komposisi kimia dari biji koro benguk, dan tempe koro benguk dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Komposisi kimia dari biji koro dan tempe koro benguk (*Mucuna pruriens* L) dalam 100 g bahan (db)

Komposisi kimia	Bahan/Sampel	
	Biji koro (%)	Tempe koro (%)
Air	11,27	12,71
Abu	3,48	3,02
Serat	2,51	0,15
Protein	31,49	33,03
Lemak	6,45	2,40
Karbohidrat	44,80	48,54

Tempe koro benguk yang menjadi salah satu komponen pakan memiliki kandungan protein sedikit lebih tinggi dibanding biji karena aktivitas enzim protease dari kapang selama fermentasi (Astuti, dkk., 2000). Tempe koro benguk dengan kandungan gizi yang baik dan seimbang dapat menjadi pilihan pangan terkait dengan pengembangan pangan lokal untuk mendampingi tempe kedelai (karena sebagian besar kedelai diperoleh dari impor).

B. Antioksidan tempe koro benguk

Pengolahan dengan fermentasi ternyata meningkatkan aktivitas antioksidan. Hal itu akan meningkatkan nilai fungsional tempe koro benguk. Hasil analisis aktivitas antioksidan pada biji koro benguk adalah $87,23 \pm 0,68$ % dan tempe koro benguk adalah $95,59 \pm 0,82$ %

Antioksidan dalam pengertian kimia adalah senyawa pemberi elektron (*electron donor*), dalam arti biologis antioksidan adalah semua senyawa yang dapat meredam radikal bebas dan *reactive oxygen species* (ROS) yang bersifat oksidan termasuk protein pengikat logam. Enzim-enzim yang dapat memusnahkan radikal bebas adalah superoksida dismutase (SOD), glutathion peroksidase (GP_x), dan katalase. Antioksidan sering diistilahkan sebagai peredam dan pemerangkap (*scavenger*) radikal bebas yaitu molekul yang dapat bereaksi dengan radikal bebas dan berfungsi menetralkan radikal bebas (Percival, 1998)

Tempe mengandung antioksidan, senyawa yang mampu menangkal radikal bebas. Radikal bebas adalah atom atau molekul yang memiliki elektron yang tidak berpasangan dan bersifat dapat menarik elektron dari senyawa lain sehingga terbentuk radikal bebas yang baru. Radikal bebas yang sangat reaktif bersifat tidak stabil, berumur sangat pendek dan sulit dideteksi. Contoh senyawa reaktif misalnya gugus hidroksil (-OH), radikal peroksil (OOH), ion superoksida (O₂⁻), Hidrogen peroksida (H₂O₂), dan lain-lain. Keberadaan radikal bebas dalam tubuh dapat menyebabkan terjadinya penyakit degeneratif, misalnya jantung, diabetes, aterosklerosis, kanker dan sebagainya. Bahkan radikal bebas ini dapat merusak selaput sel dan asam dioksi ribonukleat (DNA) (Percival, 1998; Agbafor dan Nwachukwu, 2011).

Senyawa aktif yang bersifat antioksidan yang ada di dalam tempe ini terdapat dalam bentuk isoflavon. Senyawa tersebut masuk dalam kelompok flavonoid, senyawa polifenolik yang umumnya terdapat di dalam buah-buahan, sayur-sayuran, dan biji-bijian. (Shahidi, 1999; Bors, dkk., 2001; Miller, 2002).

Proses fermentasi membentuk tempe, terjadi biotransformasi isoflavon glikosida menjadi isoflavon aglikon, yaitu senyawa antioksidan tersebut sudah terlepas dari senyawa gula melalui proses hidrolisa pada ikatan -o-glikosidik. Hal ini akan meningkatkan aktivitas antioksidan pada tempe (Purwoko, 2004; Handajani, 2001 Astuti, dkk. 2000). Pada proses fermentasi tersebut juga terbentuk antioksidan faktor II (6,7,4-trihidroksi isoflavon) yang mempunyai sifat antioksidan paling kuat dibandingkan dengan isoflavon dalam biji. Astuti, dkk.(2000) juga mengungkapkan bahwa selama proses fermentasi tempe mulai jam ke 24 terjadi pembentukan SOD hingga jam ke 60 dan selanjutnya pembentukan SOD mengalami penurunan. Dengan demikian tempe koro benguk memiliki potensi sebagai antioksidan yang tinggi.

C. Berat badan tikus

Berat badan (BB) tikus jantan varietas *Sprague Dawley* yang digunakan dalam penelitian ini antara 207,3 gram hingga 294,5 gram, berumur 2,5 bulan. Penimbangan berat badan tikus dilakukan setiap minggu, mulai dari masa adaptasi, setelah induksi STZ dan setelah mendapat perlakuan pakan selama 30 hari. Data berat badan tikus dapat dilihat pada Tabel 3, dan data perubahan (delta) BB tikus yang disajikan dalam delta 1 dan delta 2 dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 3. Rerata berat badan tikus pada kondisi awal, sebelum perlakuan (pre test) dan setelah perlakuan (post test)

Kelompok tikus*	Kondisi awal (normal) (g)	Sebelum perlakuan (pre test) (g)	Sesudah perlakuan (post test) (g)
C-	219,7 ± 8,1	245,3 ± 13,7	289,1 ± 15,1
C+	216,1 ± 4,4	165,4 ± 44,2	157,6 ± 8,5
X ₁	234,6 ± 9,9	169,3 ± 26,8	185,1 ± 30,3
X ₂	251,0 ± 9,4	178,7 ± 27,3	194,3 ± 18,2
X ₃	280,3 ± 10,5	198,5 ± 29,0	215,1 ± 18,3

Keterangan:

*Kelompok C- (kontrol negatif//normal); Kelompok C+ (Kontrol positif/ induksi STZ dan pakan standar); Kelompok X₁ (induksi STZ dan TK 10%); Kelompok X₂ (induksi STZ dan tk 20%); Kelompok X₃ (induksi STZ dan pakan TK 30%)

Tabel 4. Rerata perubahan berat badan tikus (delta 1 dan delta 2)

Kelompok tikus*	Delta 1 (sebelum perlakuan) (g, %)	Delta 2 (sesudah perlakuan) (g, %)
C-	25,5 (11,6%)	43,8 (17,8%)
C+	-50,8 (-23,5%)	-7,7 (-4,6%)
X ₁	-65,2 (-27,8%)	15,7 (9,3%)
X ₂	-72,4 (-28,8%)	15,6 (8,0%)
X ₃	-81,8 (-29,2%)	16,6 (8,4%)

Keterangan:

*Kelompok C- (kontrol negatif//normal); Kelompok C+ (Kontrol positif/ induksi STZ dan pakan standar); Kelompok X₁ (induksi STZ dan TK 10%); Kelompok X₂ (induksi STZ dan tk 20%); Kelompok X₃ (induksi STZ dan pakan TK 30%)

Delta 1 merupakan selisih berat badan tikus awal (normal, sebelum diinduksi STZ) dan setelah diinduksi STZ. Kelompok tikus yang diinduksi STZ (C+, X₁, X₂ dan X₃) semua mengalami penurunan berat badan. Hal tersebut karena efek STZ yang merusak sel beta pankreas dan mengarah pada insulinitis, akan berpengaruh buruk pada mobilisasi zat gizi antara lain tidak mampu menghasilkan energi dari glukosa yang berasal dari makanan. Menurut Szkudelski (2001) bahwa efek kuat dari STZ menyebabkan produksi ATP (adenosine triphosphat) mitokondria terbatas dan menimbulkan deplesi pada sel nukleotida.

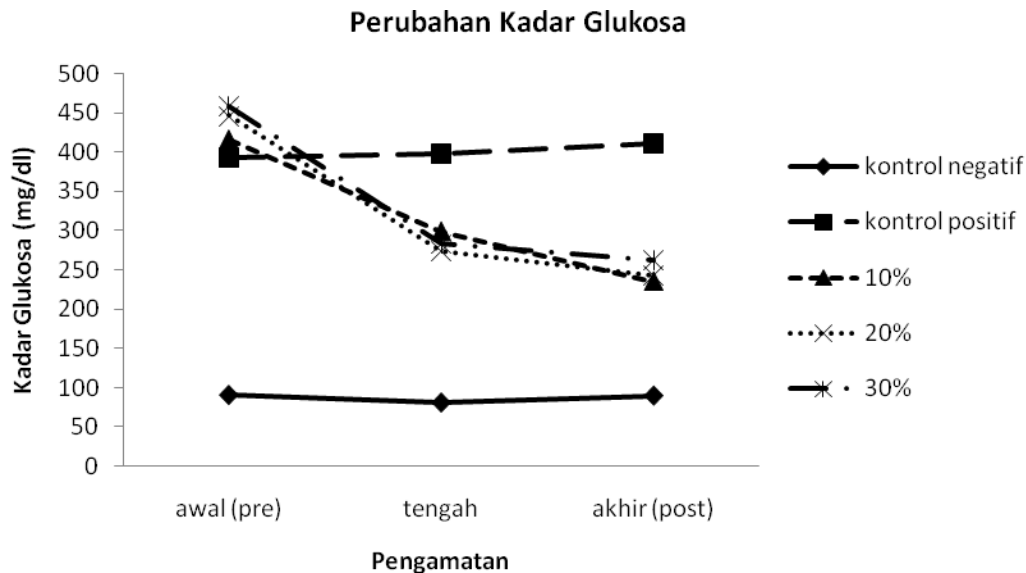
Data delta 2 adalah selisih antara berat badan tikus setelah diinduksi STZ dan setelah mendapatkan perlakuan tempe koro benguk selama 30 hari. Berat badan pada kelompok tikus X₁, X₂ dan X₃ mengalami peningkatan. Peningkatan BB tersebut mengindikasikan adanya perbaikan pada kesehatan tikus. Tempe koro benguk yang di dalamnya banyak terkandung antioksidan dapat menghambat kerusakan sel beta pankreas. Proses tersebut terjadi karena antioksidan flavonoid menstimulasi aktivitas enzim SOD, selanjutnya SOD di dalam tubuh akan memerangkap anion superoksida (O₂^{*}) sehingga tidak terbentuk hidrogen peroksida (H₂O₂) dan radikal hidroksil (OH^{*}) (Szaleczky, dkk. 1999, Szkudelski, 2001). Kondisi sel beta yang baik akan meningkatkan produksi insulin yang dampaknya metabolisme zat gizi akan membaik sehingga pada tikus perlakuan X₁-TK10%, X₂-TK-20% dan X₃-TK30% meningkat berat badannya.

D. Kadar glukosa darah tikus

Kadar glukosa darah adalah salah satu parameter kondisi diabetes. Tikus yang mendapatkan induksi streptozotocin (STZ) menunjukkan peningkatan kadar glukosa. Streptozotocin merupakan turunan nitrosourea diisolasi dari kapang *Streptomyces griseus*,

secara selektif toksik terhadap sel beta pankreas tidak menyebabkan kerusakan pada sel endokrin lain maupun pada parenkim eksokrin (Szkudelski, 2001; Lenzen, 2008).

Uji coba *in vitro*, menunjukkan bahwa induksi streptozotocin menyebabkan konsumsi O_2 meningkat dan menghasilkan radikal H_2O_2 (Szkudelski, 2001). Hal tersebut berlanjut pada kerusakan sel beta pankreas sehingga produksi dan aksi insulin menurun. Kondisi ini menimbulkan gangguan pada metabolisme karbohidrat, lemak dan protein dan bermanifestasi pada peningkatan kadar gula darah. Tempe koro bengkuk memiliki kandungan antioksidan yang dapat mengurangi kerusakan sel beta pankreas pada tikus hiperglikemi, hal itu terlihat pada kelompok X_1 , X_2 , dan X_3 yang mengalami penurunan kadar glukosa darah pada akhir penelitian (Gambar 1)



Gambar 1. Kadar glukosa darah tikus (mg/dl) dari kondisi sebelum perlakuan hingga sesudah perlakuan

Menurut Matthew (2002) hiperglikemi adalah inisiator utama untuk berbagai komplikasi mikrovaskular pada penyakit diabetes seperti retinopati, neuropati dan nephropati. Kadar glukosa yang tinggi akan meningkatkan stress oksidatif melalui proses enzimatis maupun non enzimatis. Pada proses enzimatis terjadi perubahan fungsi protein misalnya NADPH oksidase sehingga mengganggu dan merusak fungsi sel serta menimbulkan *reactive oxygen intermediates* yang dapat mengoksidasi LDL (low density lipoprotein). Sedangkan proses non enzimatis akan mengubah ekspresi gen (*growth factor* dan *cytokine*) serta mengganggu pertahanan antioksidan (meningkatkan stres oksidatif) yang berujung pada kerusakan fungsi sel beta pankreas.

Perlakuan pakan dengan tempe koro bengkuk (X_1 -TK10%; X_2 -TK-20% dan X_3 -TK30%) menurunkan kadar glukosa darah masing-masing adalah 44,7% (dari $425,5 \pm 79,6$ menjadi $235,3 \pm 21,0$ mg/dl); 46,1% (dari $449,6 \pm 82,6$ menjadi $242,3 \pm 35,1$ mg/dl); dan 43,9%. (dari $469,0 \pm 63,1$ menjadi $262,7 \pm 20,1$ mg/dl)

Penurunan kadar glukosa darah tersebut dikarenakan kandungan senyawa antioksidan yang ada di dalam tempe koro bengkuk. Menurut Pinent, dkk. (2008) dalam penelitian *in vitro* bahwa genistein yang terdapat pada isoflavon mampu meningkatkan sekresi insulin pada MIN6 (*mouse-derived*) line sel beta pankreas dari mencit yang dikulturkan hingga konsentrasi $100\mu\text{mol/L}$. Mineral yang ada dalam tempe koro bengkuk seperti Na, K, Ca, Zn, MG, Fe, P, Cu Mn dan Cr membantu mekanisme pelepasan insulin sehingga menurunkan kadar glukosa (Pinent, dkk. 2008). Selain itu sifat hipoglikemi tersebut juga karena adanya senyawa D-chiro-inositol di dalam *Mucuna pruriens* L (Donati, dkk. 2005)

KESIMPULAN

Tempe koro benguk memiliki kandungan gizi yang baik dan seimbang dengan kadar protein dan karbohidrat yang tinggi dan kadar lemak yang rendah. Aktivitas antioksidan pada tempe koro benguk lebih tinggi dibandingkan biji koro benguk. Pada tikus yang mendapat asupan tempe koro benguk (X₁-TK10%), (X₂-TK20%), (X₅-TK30%) mengalami penurunan kadar glukosa darah bermakna dibandingkan kelompok kontrol positif (C+).

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Kementerian Riset dan Teknologi Tahun 2007, yang mendanai penelitian "Isolasi Senyawa Antioksidan dan Antidiabetes dari Biji Koro (*Mucuna pruriens* L).
2. Direktorat Penelitian dan Pengabdian kepada masyarakat, Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi (DP2M Ditjen Dikti) Kementerian Pendidikan Nasional Tahun Anggaran 2011 melalui DIPA Undip Nomor : 0596/023-04-2-16/13/2011, dalam skim Hibah Doktor.

DAFTAR PUSTAKA

- Agbafor, K.N. dan Nwachukwu N. (2011). Phytochemical Analysis and Antioxidant Property of Leaf Extracts of *Vitexdoniana* and *Mucuna pruriens*. Research Article. *Biochemistry Research International*. Vol.2011
- Anonim (2007). Glucocard test strip II. Arkray Factory, Inc. Japan
- Anonim (2008). American Diabetes Association, Diabetes Care, Volume 31, Supplement 1
- Astuti, M., Meliala, A., Dalais, F.S. dan Wahlqvist, M.L. (2000). Tempe, a nutritious and healthy food from Indonesia. *Asia Pacific J. Clin Nutr* 9 (4): 322-325
- Bors, W. C., Michel, K. dan Stettmaier. (2001). Flavonoids and Other Polyphenols. Packer, L. Ed. Academic Press. San Diego.
- Brownlee, M. 2005. Banting Lecture: The Pathobiology of Diabetic Complications A unifying Mechanism. (2005). *Diabetes*. **54**:1615-1625
- Brownlee, M. (2003). A radical explanation for glucose-induced beta cell dysfunction. *The Journal of Clinical Investigations* **112**:1788-1790
- Donati, D., lampariella, L.R., Pagani, R., Guerranti, R., Cinci, G dan Marinello, E. (2005). Antidiabetic oligocyclitols in seeds of *Mucuna pruriens*. *Phytother Res*. 19 (12):1057-1060
- Handajani, S. (2001). Indogenous mucuna tempe as functional food. *Asia Pacific J Clin Nutr* 10(3): 222-225
- Jha (1997). Antioxidative Constituents of Tempe. Tempe Foundation. Jakarta.
- Kaneto, H., Kajimoto, Y., Migawa, J., Matsuoka, T., Fujitani, Y., Umayahara, Y., Hanafusa, T., Matsuzawa, Y., Yamasaki, Y. dan Hori, M. (1999). Beneficial effects of antioxidants in diabetes: Possible protection of pancreatic beta cells against glucose toxicity. *Diabetes* **48**: 2398-2406.
- Kaneto, H., Katakami, N., Madsuhisa, M dan Madsuoka, T. (2010). Role of reactive oxygen species in the progression of type 2 diabetes and atherosclerosis. Mediator of inflammation.
- Kasmidjo (1994.) Tempe, Mikrobiologi dan Biokimia Pengolahan serta Pemanfaatannya, hal 45-56. PAU Pangan dan Gizi Universitas Gadjah mada, Yogyakarta.
- Lenzen, S. (2008). The mechanisms of alloxan-and streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia* 51:216-226
- Miller, A. L. (2002). Antioxidant Flavonoid Structure Function and Clinical Usage. [http://www.thorne.com/alt medrev/fulltext/flavonoids 1-2.html](http://www.thorne.com/alt%20medrev/fulltext/flavonoids%201-2.html). Diunduh tanggal 18 Maret 2011
- Percival, M. (1998) Antioxidants. *Clinical Nutrition Insights*: 1-4
- Poitout, V dan Robertson, R. P. (2008). Glucotoxicity: Fuel excess and beta cell dysfunction. *Endocrine Reviews* 29(3):351-366
- Pokorny, J., Yanishlieva, N dan Gordon, M. (2001). Antioxidants in Food. hal 71-84. CRC Press. Washington, DC.

- Purwoko, T. (2004), Kandungan Isoflavon Aglikon pada Tempe Hasil Fermentasi *Rhizopus mikrosporus* var. *oligosporus*: pengaruh perendaman Biosmart, vol 6 no.2.Okt.2004, UNS, Surakarta
- Rajeshwar, Y., Kumar, G.P.S., Gupta, M. U. K. dan Mazumber. (2005). Studies on In Vitro Antioxidant Activities of Methanol Extract of *Mucuna pruriens* (Fabaceae) Seeds. *European Bulletin of Drug Research*. Vol 13, No 1, 2005.
- Reeves, P.G., Nielsen, F. H. dan Fahey, G.C.(1993). AIN-93 Purified Diets for Laboratory Rodents : Final Report of the American Institute of Nutrition Ad. Hoc Writing Committee on the Reformulation of the AIN-76A Rodent Diet. *J. Nutr.* 123: 1939-1951.
- Shahidi, F.(1999). Natural Antioxidants. Chemistry, Health Effect, and Applications, hal 235-73. AOCS Press. Champaign, Illinois.
- Srinivasan, K. dan Ramarao, P. (2007). Animals models in type 2 diabetes research: an overview. *Indian J Med res* 125:451-472
- Szaleczky, E, Perchl, Y., Feher, J dan Somogyi, A. (1999). Alterations in enzymatic antioxidant defence in diabetes mellitus-a rational approach. *Postgrad Med J* 75:13-17
- Szkudelski, T. (2001). The Mechanism of Alloxan and Streptozotocin Action in B Cells of The Rat Pancreas. *Physiol. Res.* 50: 536-546
- Weiss, N dan Hasset, M. (1982). Introductory Statistic, hal. 406-31. Addison-Wesley Publishing company.