

STUDI HISTOLOGI PANKREAS TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus* L.) SETELAH PEMBERIAN CUKA DARI KULIT NANAS (*Ananas comosus* L. Merr)

Christin Monica Hermawati*, Agung Janika Sitasiwi, Siti Nur Jannah

Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Diponegoro

*Corresponding author: monicahermaw@students.undip.ac.id

Abstract

Diabetes mellitus is a metabolic disease that occurs due to impaired insulin secretion caused by progressive destruction of beta cells. Pineapple peel vinegar containing acetic acid and antioxidants has the potential to help improve the structure of beta cells in the Langerhans islet. This study aims to examine the effectiveness of pineapple peel vinegar towards the histological improvement of Langerhans islet in diabetic rats. Twenty-four rats were divided into 6 groups, normal control, positive control (diabetes + 0,4 ml apple vinegar), negative control (diabetes + water), test groups dose I, II, and III (0,2 ml; 0,4 ml; 0,8 ml pineapple vinegar). The treatment group that given 0.4 ml pineapple peel vinegar showed improvement in islet's structure as indicated by its size and number that close to normal. The results of the statistical analysis using Kruskal-Wallis followed by Mann-Whitney showed that the diameter of the Langerhans islet in group P2 (treated by 0,4 ml pineapple peel vinegar) was close to normal. The improved structure of the Langerhans islet resulted in a decrease in blood sugar levels by 41,63%. This percentage is still lower than the K+ group (treated by 0,4 ml apple vinegar) by 52,89%. The antioxidant activity in vinegar improves the structure of the Langerhans islet by binding to free radicals that cause damage. The acetic acid in vinegar inhibits disaccharidase activity so that it can control blood sugar levels.

Keywords: *Diabetes mellitus, alloxan, pineapple peel vinegar, antioxidants, acetic acid*

PENDAHULUAN

Diabetes melitus merupakan penyakit gangguan metabolik menahun akibat pankreas tidak memproduksi cukup insulin atau tubuh tidak dapat menggunakan insulin yang diproduksi secara efektif. Insulin adalah hormon yang mengatur keseimbangan kadar gula darah. Peningkatan konsentrasi glukosa di dalam darah (hiperglikemia) akan terjadi ketika insulin tidak bekerja secara optimal (Kemenkes RI, 2014). Berbagai macam obat kimia sintetis banyak dikembangkan industri farmasi untuk terapi farmakologis diabetes. Penelitian Putra et al. (2016) membuktikan bahwa penggunaan obat sintetis untuk diabetes masih memunculkan berbagai efek samping seperti hipoglikemia,

mual, pusing, tremor, muntah, dan konstipasi. Penggunaan cuka untuk terapi diabetes sudah cukup banyak diteliti oleh para ilmuwan baik di Indonesia maupun mancanegara. Cuka merupakan cairan yang diproduksi oleh bahan yang mengandung pati dan gula melalui dua tahap fermentasi, yaitu fermentasi alkohol dan fermentasi asam asetat. Asam asetat yang terkandung dalam cuka memiliki kemampuan untuk memperlambat enzim disakaridase dalam proses metabolisme karbohidrat sehingga dapat menurunkan glukosa dalam darah (Zubaidah, 2011).

Salah satu buah yang berpotensi untuk dijadikan cuka yaitu nanas. Selain dikonsumsi sebagai buah segar, nanas juga banyak digunakan sebagai bahan baku

industri. Industri pengolahan nanas ini tiap jam dapat menghasilkan limbah sebanyak 50-65 % atau sebesar 15-19,5 ton limbah. Limbah industri nanas ini kebanyakan masih belum dimanfaatkan, padahal kulit nanas mengandung flavonoid, alkaloid, tanin, dan steroid. Kulit nanas juga mengandung enzim bromelin yang memiliki aktivitas anti-inflamasi, *antiedematous*, dan antitrombotik (Pavan *et al.*, 2012). Berdasarkan kandungan senyawa bioaktif yang dimilikinya, kulit nanas berpotensi tinggi untuk diolah menjadi pangan fungsional (Ketnawa *et al.*, 2012). Kulit nanas dapat diproses menjadi *vinegar* atau cuka melalui proses fermentasi. Perubahan biokimia yang terjadi selama fermentasi turut mengubah rasio komponen nutrisi dan antinutrisi sehingga mempengaruhi sifat produk seperti bioaktivitas dan pencernaan (Zhang *et al.*, 2012).

Penelitian Zubaidah & Nuril (2015) menunjukkan bahwa pada tikus percobaan kontrol negatif yang diberi diabetagon (induktor diabetes) menunjukkan degenerasi sel endokrin yang menuju pada nekrosis sel. Kerusakan ini ditandai dengan adanya ruang kosong pada islet, dan ketidakteraturan bentuk sel (polimorf). Kerusakan sel endokrin ini menyebabkan produksi insulin terhambat, sehingga regulasi glukosa dalam tubuh pun menjadi terganggu. Pemberian cuka apel dan cuka

salak juga mampu memberikan efek perbaikan islet Langerhans meskipun belum dapat mengembalikan ke kondisi normal. Hal ini ditunjukkan dengan penurunan presentase nekrosis sel endokrin pada pengamatan histologi pankreas dengan pewarnaan Haematoxylin-Eosin.

Penelitian ini adalah menguji efektivitas cuka kulit nanas terhadap perbaikan struktur histologi islet Langerhans tikus putih (*Rattus norvegicus* L.) diabetes. Pemanfaatan kulit nanas sebagai cuka ini diharapkan bisa menjadi alternatif untuk terapi penyakit diabetes baik secara represif, maupun kuratif. Penelitian ini juga diharapkan dapat menjadi acuan untuk riset terkait aktivitas antidiabetes selanjutnya.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Bioteknologi dan Laboratorium Biologi Struktur dan Fungsi Hewan, Departemen Biologi, Fakultas Sains dan Matematika (FSM), Universitas Diponegoro (UNDIP). Pembuatan preparat histopatologi dilakukan Laboratorium Patologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada.

Persiapan Hewan Coba

Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus* L.) jantan dari strain Wistar dengan bobot \pm 200 gram, berumur 2-3

bulan, dan berada dalam keadaan normal. Tikus yang digunakan dalam penelitian ini total berjumlah 24 yang telah dikondisikan diabetes dengan pemberian aloksan melalui injeksi intraperitoneal. Hewan diberi pakan dan minum secara *ad libitum*.

Metode

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) 3 (tiga) kelompok uji dan 3 (tiga) kelompok kontrol dimana masing-masing kelompok terdiri dari atas 4 (empat) ekor tikus. Adapun pembagian kelompok uji dan kontrol adalah sebagai berikut.

K0 : Kontrol normal, tikus normal tanpa perlakuan

K+ : Kontrol positif, tikus diabetes diberi 0,4 cc cuka apel

K- : Kontrol negatif, tikus diabetes diberi air minum

P1 : Kelompok Uji Dosis I, tikus diabetes diberi cuka kulit nanas dosis 0,2 cc

P2 : Kelompok Uji Dosis II, tikus diabetes diberi cuka kulit nanas dosis 0,4 cc

P3 : Kelompok Uji Dosis III, tikus diabetes diberi cuka kulit nanas dosis 0,8 cc

Selama masa uji, dilakukan pengukuran terhadap kadar gula darah, bobot tubuh, konsumsi pakan dan minum. Pengukuran kadar gula darah dan bobot hewan coba dilakukan pada hari ke 0, 7, 14, 21, dan 28 untuk mengetahui adanya perubahan sebelum dan setelah perlakuan.

Pakan dan minum hewan coba juga diukur dengan mengumpulkan dan menimbang pakan dan minum sisa dinyatakan dalam satuan gram (pakan) dan mililiter (minum).

Pembuatan Preparat Histologi Pankreas

Pembuatan preparat histopatologi pankreas yang dilakukan meliputi proses nekropsi, isolasi sampel, fiksasi, dehidrasi, penjernihan (*clearing*), penanaman (*embedding*), pemotongan jaringan, pewarnaan (*staining*), dan pengamatan dengan mikroskop cahaya. Pankreas dipisahkan, lalu dicuci dengan menggunakan larutan fisiologis NaCl 0.9% selama 30 menit. Organ kemudian difiksasi dengan larutan BNF 10% selama minimal 24 jam. Pankreas kemudian dipotong kecil dengan ukuran 10mmx10mmx3mm dan diletakkan dalam *tissue cassette*. Tahap selanjutnya yakni dehidrasi dalam seri larutan alkohol dengan konsentrasi bertingkat (70%, 80%, 90%, 95%) masing-masing selama 1 jam. Dehidrasi dilanjutkan dengan merendam sampel dalam alkohol absolut sebanyak 2 kali, masing-masing selama 1 jam. Penjernihan dilakukan dengan *clearing agent* xilol sebanyak 2 kali pada larutan yang berbeda selama 1 jam. Infiltrasi parafin dilakukan merendam sampel menggunakan larutan paraffin cair I, II, dan III dalam oven dengan suhu 60°C masing-masing selama 1 jam (Nowacek & Kiernan, 2010).

Pemotongan jaringan dilakukan menggunakan *rotary microtom* dengan ketebalan 3-4 μ m. Sayatan diletakkan di atas gelas benda. Deparafinasi dilakukan dengan larutan xilol I, II, dan III selama 2 menit, kemudian dilanjutkan dengan rehidrasi alkohol mulai dari alkohol absolut I, II. Rehidrasi dilanjutkan dengan konsentrasi menurun mulai dari 95%, 90%, 80%, dan 70% masing masing selama 3 menit. Sediaan kemudian dibilas menggunakan air selama 5 menit.

Pewarnaan menggunakan metode Hematoksin-Eosin dimulai dengan deparafinasi dan rehidrasi alkohol. Sediaan ditetesi dengan larutan Hematoksin selama 4 menit, kemudian dibilas menggunakan air mengalir. Pewarnaan dilanjutkan dengan meneteskan pewarna Eosin selama 5 menit, dan dibilas menggunakan air. Tahapan selanjutnya yakni dehidrasi alkohol bertingkat (70%, 80%, 90%, 95%, absolut I, II, III) selama 5 menit. Penjernihan kemudian dilakukan dengan xilol I dan II selama 2 menit. Tahap terakhir dari proses ini, yakni *mounting* atau penempelan gelas penutup pada sediaan dengan bantuan perekat entelan.

Pengamatan Preparat Histologi

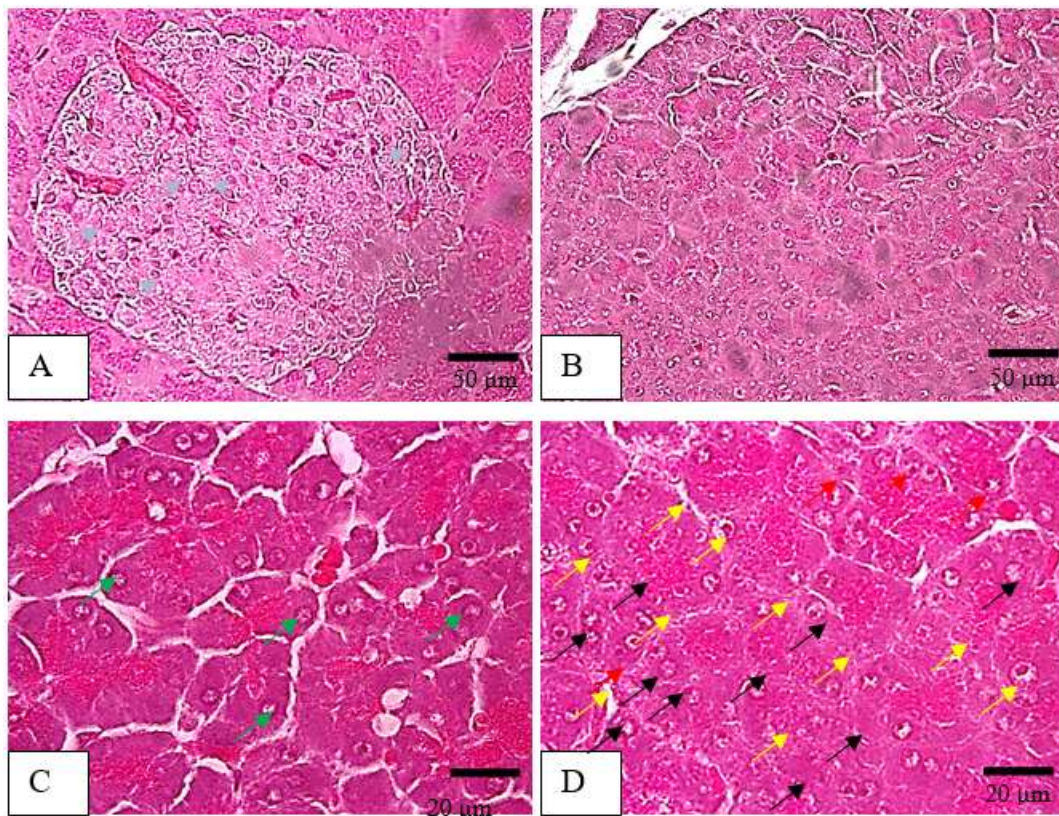
Pengamatan preparat histologi struktur pankreas tikus putih diabetes yang diberi perlakuan cuka kulit nanas dilakukan di Laboratorium Biologi Dasar Kampus FSM UNDIP Semarang. Preparat

histopatologi diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 200x dan 1000x dan dicatat perubahan mikroskopik yang ditemukan pada 5 (lima) bidang pandang yang dipilih secara acak. Parameter yang diamati ialah jumlah dan diameter islet Langerhans serta presentase degenerasi serta nekrosis sel beta pankreas.

Data hasil penelitian kemudian dikumpulkan dan diuji normalitasnya dengan uji Kolmogorov-Smirnov dan homogenitasnya dengan uji Levene. Uji statistik One Way Anova pada taraf kepercayaan 95% dilakukan untuk menganalisis data bobot pankreas dan jumlah islet Langerhans. Data diameter islet Langerhans dianalisis dengan uji Kruskal-Wallis H karena tidak memenuhi asumsi homogenitas. Uji Kruskal-Wallis H untuk melihat apakah terdapat perbedaan pada setiap perlakuan. Uji Mann-Whitney U dilanjutkan untuk menunjukkan kelompok mana yang memberikan perbedaan paling signifikan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Cuka kulit nanas yang diberikan kepada hewan coba yakni cuka yang diproduksi dengan penambahan gula sebesar 2%. Cuka tersebut memiliki kadar asam asetat sebesar 1.42%. Uji antioksidan terhadap cuka yang digunakan menunjukkan nilai rata-rata % inhibisi sebesar 51,46% (data tidak dipublikasikan).



Gambar 1. Histologi Pankreas Tikus Normal dan Diabetes *Pre-treatment*

Keterangan : A. Histologi pankreas tikus normal pada perbesaran 400x; B. Histologi pankreas tikus diabetes menunjukkan nekrosis sel asinar. Tidak ditemukan islet Langerhans; C. Sel asinar pada tikus normal, perbesaran 1000x; D. Pembengkakan sel asinar pankreas dan nekrosis jaringan

← Sel Beta ← Sel asinar normal ← Sel asinar mengalami onkosis
← Piknosis sel asinar ← Kariolisis sel asinar

Pengamatan histologi pada preparat pankreas tikus normal dan tikus diabetes *pre-treatment* menunjukkan struktur yang berbeda seperti pada **Gambar 1**. Berdasarkan hasil pengamatan tampak pada perbesaran 400x islet Langerhans ditemukan pada pankreas tikus normal. Komposisi islet tampak kompak dan berisi banyak sel endokrin. Sementara itu, pengamatan pankreas yang diinduksi aloksan pada perbesaran 400x menunjukkan komponen eksokrin pada pankreas mengalami nekrosis. Berdasarkan pernyataan Pringgoutomo (2002) jaringan nekrotik seluruhnya berwarna kemerahan,

tidak mengambil zat warna hematoxilin, sering pucat apabila diamati secara mikroskopis. Seluruh sel asinar yang tampak pada perbesaran 1000x tampak mengalami onkosis atau pembengkakan sel yang menunjukkan tahap awal nekrosis pada sel. Suarsana *et al.* (2010) menjelaskan bahwa pada induksi diabetes eksperimental menggunakan aloksan menyebabkan nekrosis pada 40-50% sel beta pankreas. Jumlah sel beta menunjukkan penurunan secara nyata pada kondisi diabetes derajat sedang, sedangkan pada diabetes parah sel beta bahkan tidak ditemukan.

Tabel 1. Jumlah dan Diameter Langerhans

Kelompok Perlakuan	Σ Islet Langerhans (Mean ± SD)	Diameter Langerhans (Mean ± SD)
K0	9,5±1,732	123,996*±7,114
K+	6±3,367	83,605±13,391
K-	4,5±2,082	65,232±23,127
P1	8±1,633	86,744±8,544
P2	6,5±2,646	89,531*±38,751
P3	6,75±3,202	56,435±3,202

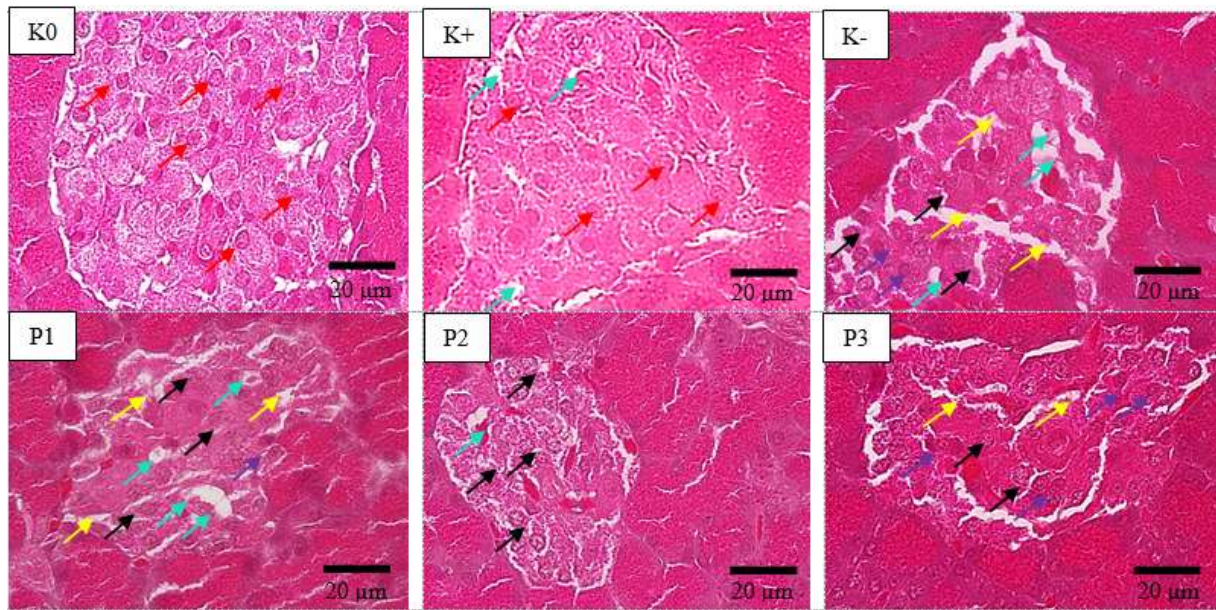
Keterangan : Tanda * menunjukkan kemiripan dengan nilai signifikansi paling besar berdasarkan Uji Kruskal-Wallis H dan Mann-Whitney U (taraf nyata 95%)

Kerusakan yang terjadi pada pankreas tikus *pre-treatment* setelah injeksi aloksan menunjukkan kerusakan seperti pada **Gambar 1.B** dan **Gambar 1.D**. Aloksan menghasilkan *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang terakumulasi pada transporter glukosa 2 (*GLUT2*) (Rohilla & Ali, 2012). ROS akan memicu autofagi, apoptosis dan nekrosis sel. Kondisi stres oksidatif ini mengakibatkan stres pada retikulum endoplasma (RE) dan destabilisasi lisosom yang menstimulasi nekrosis sel (Ghorbani *et al.*, 2019).

Islet Langerhans paling banyak ditemukan pada perlakuan kontrol (K0), diikuti kelompok uji dosis I (P1), kelompok uji dosis III (P3), kelompok kontrol positif (K+), dan kelompok uji dosis II (P2). Islet Langerhans paling sedikit ditemukan pada kelompok kontrol negatif (P1). Berdasarkan analisis ANOVA yang dilakukan pada taraf kepercayaan 95% menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan bermakna jumlah islet Langerhans antar masing-masing perlakuan.

Kelompok kontrol memiliki rerata ukuran islet Langerhans paling besar disbanding kelompok perlakuan yang lain dengan rerata diameter 123,996±7,114 µm. Kelompok uji dosis II (P2) tampak pula memiliki islet Langerhans paling besar dibandingkan kelompok tikus diabetes yang lain (K+, K-, P1 dan P3). Uji Mann-Whitney menunjukkan nilai signifikansi paling besar antara kelompok kontrol (K0) dan kelompok uji dosis II (P2). Hasil analisis ini menunjukkan bahwa pemberian cuka dengan dosis 0,4 ml (P2) memberikan dampak terhadap regenerasi islet Langerhans yang ditunjukkan dengan ukuran islet Langerhans mendekati normal.

Berdasarkan data penelitian, dapat dijelaskan bahwa pada tikus kontrol normal (K0) ditemukan banyak islet Langerhans berukuran besar. Islet Langerhans pada kontrol positif (K+) dan kelompok uji dosis II (P2) juga ditemukan dalam jumlah cukup banyak dan berukuran besar (rerata diameter > 80µm).



Gambar 2. Histologi Pankreas Tikus setelah Pemberian Cuka Kulit Nanas 1,42%

Keterangan : Perbesaran 1000x K0 menunjukkan histologi islet Langerhans normal; K+ regenerasi islet Langerhans oleh cuka apel 0,4 ml; K- vakuolisasi dan fragmentasi islet Langerhans akibat diabetes (K-); P1 vakuolisasi islet Langerhans masih ditemukan pada uji dosis I; P2 regenerasi islet Langerhans menyerupai kontrol positif; P3 fragmentasi masih ditemukan pada uji dosis III

➔ Sel Beta Normal ➔ Vakuolisasi ➔ Fragmentasi ➔ Piknotis ➔ Karioreksis

Suarsana (2010) menjelaskan bahwa pada tikus diabetes derajat sedang, ditemukan hampir 67% pulau Langerhans berdiameter kurang dari 150 µm, sedangkan pada tikus normal jumlah pulau Langerhans yang berdiameter lebih dari 150 µm sekitar 50%. Selain terjadi perubahan pada ukuran, dan bentuk juga terjadi fragmentasi pulau Langerhans. Farid (2014) menjelaskan bahwa perubahan ini diduga terjadi karena glukotoksisitas pada sel beta pulau Langerhans yang menyebabkan menurunnya massa selnya.

Berdasarkan hasil pengamatan histologi pada masing-masing perlakuan, tampak bahwa kondisi islet Langerhans pada kelompok K+ dan P2 mengalami regenerasi menuju normal. Kedua kelompok ini menunjukkan perbaikan islet

Langerhans oleh aktivitas dari cuka kulit nanas. Pankreas K- tampak paling rusak di antara yang lain, walaupun di dalamnya masih terdapat sel beta dan sel endokrin lainnya yang tampak normal. Vakuolisasi dan fragmentasi tampak jelas pada gambaran histopatologi pankreas K-. Kelompok P1 dan P3 menunjukkan histopatologi pankreas yang belum pulih, dikarenakan masih terdapat fragmentasi dan tampak beberapa sel yang mengalami nekrosis. Suarsana *et al.* (2010) menjelaskan bahwa pada kondisi diabetes akibat induksi aloksan dapat menyebabkan nekrosis, degenerasi, infiltrasi fibrosa, vakuolisasi, hingga insulinitis.

Aktivitas senyawa bioaktif dalam cuka seperti antioksidan dan asam asetat berperan dalam regenerasi sel beta pankreas.

Hamidatun (2014) menyatakan bahwa perbaikan sel beta pankreas terkait dengan aktivitas antioksidan yang terkandung pada cuka buah. Antioksidan mampu mengikat radikal bebas penyebab kerusakan sel beta pankreas dan menghambat kerusakan sel beta pankreas sehingga sel beta yang tersisa masih tetap berfungsi. Metabolisme glukosa akan kembali normal seiring dengan perbaikan fungsi sel beta.

Kandungan flavonoid dan asam asetat pada cuka kulit nanas berperan sebagai penangkal radikal bebas (ROS) yang akibat paparan aloksan. Widowati (2008) menyatakan bahwa pemberian komponen senyawa polifenol, termasuk flavonoid dapat menangkap radikal bebas dan mengurangi stres oksidatif akibat pemberian aloksan. Senyawa flavonoid mampu memperbaiki dengan berbagai mekanisme, salah satunya dengan meningkatkan enzim katalase yang akan memecah hidrogen peroksida menjadi oksigen dan air yang tidak berbahaya untuk sel dan pertumbuhan sel. Aktivitas antioksidan juga turut mempengaruhi laju proliferasi sel beta (Wang & Wang, 2017).

Penambahan senyawa flavonoid pada sel juga dapat mengurangi jumlah ROS sehingga dapat membantu mengembalikan integritas sel dan menambah viabilitas suatu sel (Patel, 2008). Semakin baik struktur histologis pankreas diduga karena senyawa flavonoid yang terkandung bahan pangan

mampu mengikat dan mengurangi jumlah ROS, penyebab nekrosis pada sel beta pankreas. Mekanisme flavonoid melawan radikal bebas yakni dengan menekan pembentukan ROS, mengikat ROS, dan meningkatkan regulasi atau perlindungan pertahanan antioksidan. Flavonoid mengikat ROS dengan menyumbangkan atom hidrogen dan elektronnya untuk radikal hidroksil, peroksil, dan peroksinirit. Flavonoid menekan pembentukan ROS dengan menghambat aktivitas enzim superoksida dismutase yang terlibat dalam pembentukan ROS (Kumar & Pandey, 2013).

Hasil pengukuran gula darah setiap minggu selama 28 hari perlakuan menunjukkan penurunan pada kelompok K+, K-, P2, dan P3. Presentase penurunan gula darah terbesar terjadi pada kelompok kontrol positif (K+) yang diberi cuka apel sebanyak 0,4 ml sebesar 52,89%. Hal tersebut menunjukkan bahwa potensi cuka kulit nanas 1,42% dengan dosis 0,4 ml memiliki efektivitas dalam menurunkan gula darah hampir setara dengan cuka apel.

Cuka kulit nanas 1,42% memiliki kandungan utama asam asetat sebagai produk hasil fermentasi. Hasil penelitian dari Ogawa (2002) memperkuat asumsi tersebut. Asam asetat mampu menurunkan aktivitas enzim glikosidase. Enzim glikosidase berperan menghidrolisis disakarida menjadi monosakarida pada usus

halus. Mitrou *et al.* (2015) menjelaskan pula bahwa asam asetat menghambat glikolisis. Sebaliknya, asam asetat mendorong sintesis glikogen yang dibuktikan dengan adanya akumulasi glukosa-6-fosfat karena penekanan glikolisis.

KESIMPULAN

Pengujian aktivitas antidiabetes cuka kulit nanas dengan dosis 0,4 ml mampu memperbaiki histopatologi islet Langerhans yang ditunjukkan dengan rata-rata jumlah serta diameter islet yang mendekati normal.

DAFTAR PUSTAKA

- Farid M, E Darwindan & D Sulastri. 2014. Pengaruh hiperglikemia terhadap gambaran histopatologis pulau langerhans Mencit. *Andalas Journal of Health*, 3(3): 420-427.
- Ghorbani A, R Rashidi & R Shafiee-Nick. 2019. Flavonoids for preserving pancreatic beta cell survival and function: A mechanistic review. *Biomedicine and Pharmacotherapy*. 111: 947-957.
- Hamidatun H. 2014 . Efek pemberian cuka Salak (*Salacca vinegar*) terhadap penurunan kadar glukosa darah dan histopatologi pankreas Tikus Wistar Jantan diabetes mellitus yang diinduksi dengan Streptozotocin (STZ). *Prosiding Elektronik (e-Proceedings) PIMNAS*.
- Kemendes RI. 2014. InfoDATIN : Situasi dan analisis *diabetes melitus*. Jakarta: Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan RI.
- Ketnawa S, P Chaiwut & S Rawdkuen, 2012. Pineapple wastes: A potential source for bromelain extraction. *Food and Bioproducts Processing*, 90(3): 385–391.
- Kumar S & Pandey AK. 2013. Chemistry and biological activities of flavonoids: An overview. *The Scientific World Journal*. 2013: 162750.
- Lenzen S. 2008. The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia*. 51, 216–226.
- Mitrou P, E Petsiou & E Papakonstantinou. 2015. Vinegar consumption increases insulin-stimulated glucose uptake by the forearm muscle in humans with Type 2 Diabetes. *Journal of Diabetes Research*, 2015.
- Nowacek JM & JA Kiernan. 2010. *Education guide special stains and H & E 2nd Edition*. California: Daco.
- Ogawa NH, H Satsu, M Watanabe, Y Fukaya, Y Tsukamoto, M Miyamoto & Shimizu. 2002. Acetic acid suppresses the increase in disaccharidase activity that occurs during culture of Caco-2 cells. *J Nutr*, 130: 507–513.
- Patel JM. 2008. A review of potential health benefits of flavonoids. *Lethbridge Undergraduate Res. Journal*, 3: 2.
- Pavan R, S Jain, Shraddha & A Kumar. 2012. Properties and therapeutic application of bromelain: a review. *Biotechnology research international*, 2012, 976203. doi:10.1155/2012/976203.
- Pringgoutomo S, S Himawan & A Tjarta. 2002. *Buku ajar patologi I*. Jakarta: Sagung Seto.
- Putra, RJS, A Anisyah & RP Hananditia. 2017. Kejadian efek samping potensial terapi obat anti diabetes pasien *diabetes melitus* berdasarkan algoritma naranjo. *Pharmaceutical Journal Of Indonesia*, 2(2): 45–50.
- Rohilla A & S Ali. 2012. Alloxan induced diabetes: Mechanisms and effects. *International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences*, 3(2): 819-823.
- Suarsana IN, BP Priosoeryanto, M Bintang & T Wresdiyati. 2010. Profil glukosa

- darah dan ultrastruktur sel beta pankreas tikus yang diinduksi senyawa aloksan. *JITV*, 150: 118-123.
- Wang J & H. Wang. 2017. Oxidative stress in pancreatic beta cell regeneration. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2017. <https://doi.org/10.1155/2017/1930261>.
- Widowati W. 2008. Potensi antioksidan sebagai antidiabetes. *Jurnal Kesehatan Masyarakat*, 7: 1-10.
- Zhang Z, Lv G, H Pan, L Fan, CR Soccol & A Pandey. 2012. Production of powerful antioxidant supplements via solid-state fermentatin of wheat (*Triticum aestivum* Linn.) by cordyceps militaris. *Food Technology and Biotechnology*, 50(1): 32-39.
- Zubaidah E & I. Nuril. 2015. Efek cuka apel dan cuka salak terhadap penurunan glukosa darah dan histopatologi pankreas Tikus Wistar diabetes. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*, 28(4): 297-301.
- Zubaidah E. 2011. Pengaruh pemberian cuka apel dan cuka salak terhadap kadar glukosa darah Tikus Wistar 15. yang diberi diet tinggi gula. *Jurnal Teknologi Pertanian*, 12(3):163-169.