

Optimalisasi Pemberian Streptozotocin Beberapa Dosis terhadap Peningkatan Kadar Gula Darah Tikus *Sprague dawley*

Elbert Aldrin Harijanto¹, Anna Maria Dewajanti²

¹Mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Krida Wacana (Ukrida)

²Staf Pengajar Bagian Biokimia Fakultas Kedokteran Ukrida

Alamat Korespondensi: Jl. Arjuna Utara No.6, Jakarta Barat 11510

Email : anna.dewajanthi@ukrida.ac.id

Abstrak

Streptozotocin merupakan derivat sintetik dari nitrosourea glukopiranosida hasil fermentasi *Streptomyces achromogenes*. Salah satu peranannya adalah menghambat sekresi insulin dan menyebabkan terjadinya *insulin-dependent diabetes mellitus* (IDDM). Terdapat dua mekanisme pemberian streptozotocin yaitu *multiple low dose* yang dapat menginduksi inflamasi dari pulau Langerhans dengan menarik sel mononuklear terutama limfosit, sehingga terjadi dekstruksi dari sel beta dan *single high dose* secara langsung dapat merusak sel beta dikarenakan sitotoksitasnya. Diabetes mellitus (DM) adalah suatu penyakit metabolik yang ditandai oleh peningkatan glukosa dalam darah dikarenakan defisiensi atau gangguan sekresi dari insulin. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian streptozotocin dosis tunggal 40 mg/kg BB, 50 mg/kg BB, dan 60 mg/kg BB secara intravena terhadap kadar gula darah sewaktu pada tikus strain *Sprague dawley*. Tujuannya adalah sebagai referensi untuk peneliti lain yang ingin meneliti menggunakan tikus strain *Sprague dawley* dalam menentukan dosis optimal, yang paling banyak menghasilkan tikus diabetes. Pada penelitian ini, tikus dibagi menjadi empat kelompok yang terdiri atas satu kelompok kontrol dan tiga kelompok uji. Tikus kelompok uji I diinjeksi dengan streptozotocin dosis tunggal 40 mg/kg BB, tikus kelompok uji II diinjeksi dengan streptozotocin dosis tunggal 50 mg/kg BB, dan tikus kelompok uji III diinjeksi dengan streptozotocin dosis tunggal 60 mg/kg BB. Gula darah tikus diukur sebelum perlakuan dan tiga hari setelah perlakuan. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa dosis 50 mg/kg BB merupakan dosis optimal yang memiliki tingkat keberhasilan tertinggi.

Kata Kunci: *Sprague dawley*, tikus diabetes, Streptozotocin, diabetes mellitus

Optimization of Streptozotocin Dosages in Increasing Blood Glucose Level of Sprague dawley Rats

Abstract

Streptozotocin is a synthetic derivative of nitrosourea glucopyranose fermented by Streptomyces achromogenes. One of its roles is to inhibit insulin secretion leading to insulin-dependent diabetes mellitus (IDDM). There are two kinds of streptozotocin administrations. The first is multiple low dosage which can induce inflammation from Langerhans island. This inflammation took place by attracting mononuclear cells especially lymphocytes which results in dextrusion of beta cells. The second kind of administration is by single high dose which can directly damage beta cells due to their cytotoxicity. Diabetes mellitus (DM) is a metabolic disease characterized by elevated glucose in the blood due to deficiency or impaired secretion of insulin. This study was aimed to investigate the effect of streptozotocin single dose injection dosage of 40 mg/kg bw, 50 mg/kg bw, and 60 mg/kg bw intravenously to Sprague dawley rat's random blood glucose. In this study, rats were divided into 4

groups consisting of 1 control group and 3 test groups. Mice of the test group 1 were injected with single-dose streptozotocin of 40 mg/kg bw, test group 2 were injected with single-dose streptozotocin of 50 mg/kg bw, and test group 3 were injected with single-dose streptozotocin of 60 mg/kg bw. Blood glucose was measured before treatment and three days after treatment. The results of this study indicated that a dose of 50 mg/kg bw had the highest success rate. The finding can be used as a reference for other researchers who want to induce diabetic rats using Sprague dawley rats.

Keywords: *Sprague dawley, Diabetic Rats, Streptozotocin, Diabetes Mellitus*

Pendahuluan

Diabetes mellitus (DM) merupakan suatu penyakit yang ditandai dengan adanya gangguan sekresi insulin ataupun gangguan kerja insulin pada organ target, terutama hati dan otot. Pada permulaannya, resistensi insulin masih belum menyebabkan DM secara klinis. Hal ini dikarenakan sel beta pankreas masih dapat mengkompensasi keadaan resistensi insulin dan terjadi hiperinsulinemia, sementara kadar glukosa darah masih normal atau sedikit meningkat. Namun ketika sel beta pankreas tidak dapat mengkompensasi keadaan ini, kadar glukosa darah dalam tubuh akan meningkat dan memenuhi kriteria diagnosis diabetes mellitus. Sejumlah gejala klinis yang merupakan ciri khas dari diabetes mellitus adalah polidipsi, poliuri, dan polifagi.¹

Berdasarkan hasil riset kesehatan dasar (Riskesdas) Kementerian Kesehatan RI tahun 2007 dan 2013 yang bertujuan untuk menghitung proporsi diabetes mellitus pada usia 15 tahun ke atas, seseorang dinyatakan sebagai penderita diabetes mellitus jika pernah didiagnosis menderita kencing manis oleh dokter atau belum pernah didiagnosis menderita kencing manis oleh dokter tetapi dalam satu bulan terakhir mengalami gejala sering lapar, sering haus, sering buang air kecil dalam jumlah banyak dan berat badan turun. Hasil wawancara tersebut menyatakan bahwa proporsi diabetes mellitus pada Riskesdas 2013 meningkat hampir dua kali lipat dibandingkan dengan tahun 2007. Untuk memastikan diagnosis diabetes mellitus dibutuhkan pemeriksaan kadar glukosa darah. Riskesdas tahun 2007 dan 2013 melakukan pemeriksaan gula darah untuk mendapatkan data proporsi penderita diabetes mellitus di Indonesia pada penduduk usia 15 tahun ke atas. Dari hasil pemeriksaan tersebut, dibandingkan tahun 2007, baik proporsi diabetes mellitus maupun toleransi glukosa terganggu (TGT) di perkotaan, hasil Riskesdas

tahun 2013 lebih tinggi. Jika dibandingkan antara penduduk di perkotaan dan pedesaan, ternyata proporsi di pedesaan tidak lebih rendah dibandingkan di perkotaan.²

Dari data di atas, dapat disimpulkan bahwa saat ini baik di pedesaan maupun perkotaan memiliki persentase kasus diabetes mellitus yang tinggi dan dikawatirkan dapat meningkat setiap tahunnya. Kasus diabetes melitus yang terus meningkat memerlukan suatu penatalaksanaan yang baik dari segi pengobatan maupun konsumsi makanan sehari-hari. Penelitian tentang diabetes mellitus menggunakan hewan coba tikus dengan kondisi DM. Hal ini dilakukan untuk melihat efek makanan sehari-hari dan obat yang diperlukan untuk mendapatkan informasi yang dapat menunjang penatalaksanaan DM yang ada saat ini.³

Dalam penelitian-penelitian dengan model hewan percobaan, obat diabetogenik yang digunakan antara lain alloxan monohidrat, streptozocin dengan atau tanpa nikotinamid, *ferric nitrilotriacetate*, ditizona, dan serum anti insulin. Di antara obat diabetogenik di atas, yang paling sering digunakan adalah Streptozotocin (69%) dan Alloxan (39%). Kedua obat tersebut dapat diberikan secara parenteral baik dengan intravena, intraperitoneal, atau subkutan. Streptozotocin dan Alloxan biasa digunakan pada hewan percobaan seperti primata, anjing, kucing, kelinci, tikus, dan babi. Efek diabetogenik dan dosis toksik berbeda-beda tergantung dari jenis/spesiesnya.^{4,5}

Streptozotocin (STZ) merupakan senyawa yang sering digunakan untuk meningkatkan kadar gula darah tikus uji, sehingga didapatkan tikus dalam kondisi DM. Streptozotocin dilaporkan mempunyai aktivitas diabetogenik pada penelitian Rakietyen *et al.* (1963) yang menggunakan tikus jantan Wistar dengan berat 150-220 gram dan diinjeksi dengan STZ (Calbiocem) intravena 60 mg/kg BB kemudian

diukur kadar gula darahnya. Setelah tiga jam, kadar gula darah mencapai 150-200 mg/dL dan setelah 24 jam mencapai 800 mg/dL dengan gejala glukosuria dan ketonemia.⁶

Pada tahun 1999, tim peneliti dari *Institute of Experimental Pharmacology Slovak Academy of Sciences* bersama R. Hozova dari *Drug Research Institute*, Slovakia melakukan penelitian untuk melihat efek pemberian STZ dosis tunggal dosis 40 mg/kg BB, 50 mg/kg BB, 60 mg/kg BB dan 70 mg/kg BB terhadap tikus percobaan strain *Wistar*. Dari penelitian tersebut, diketahui bahwa dosis 40 mg/kg BB tidak menghasilkan tikus dengan hiperglikemia yang persisten dan stabil dengan kadar gula darah sewaktu < 360 mg/dL. Pada dosis 50 mg/kg BB dan 60 mg/kg BB terjadi hiperglikemia dengan kadar gula darah sewaktu hingga > 360 mg/dL dan dosis 70 mg/kg BB dikatakan sebagai dosis letal.³

Dari penelitian tersebut di atas, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui dosis yang optimal terhadap peningkatan kadar gula darah pada tikus strain *Sprague dawley* yang diinduksi STZ dengan dosis tunggal 40 mg/kg BB, 50 mg/kg BB, dan 60 mg/kg BB secara intravena. Dengan penelitian ini diharapkan dapat mempermudah peneliti lain yang ingin meneliti seputar DM menggunakan tikus percobaan *Sprague dawley* untuk menentukan dosis tepat pemberian STZ secara intravena, sehingga dapat memperoleh tikus dalam kondisi DM dan dilanjutkan dengan meneliti obat dan pola diet baru yang dapat memperbaiki kondisi tikus percobaan ini.

Hormon Insulin

Hormon insulin merupakan hormon yang disekresi oleh sel β pulau Langerhans pankreas dengan fungsi meningkatkan sintesis glikogen, protein, dan juga trigliserida sehingga kadar glukosa, asam amino, dan asam lemak dalam darah akan turun. Insulin akan meningkatkan pemasukan glukosa ke membran sel otot rangka, otot polos, otot jantung, hati, ginjal, otak, dan sel α pulau Langerhans. Peningkatan sekresi dari hormon insulin dipengaruhi oleh peningkatan glukosa dalam darah, peningkatan asam amino dalam darah, dan aktivitas parasimpatik. Sebaliknya, penurunan sekresi dari hormon insulin dipengaruhi oleh penurunan glukosa dalam darah.⁷

Diabetes Mellitus

Diabetes berasal dari bahasa Yunani yaitu *to pass through* (dia-through and betes-to go) yang mengacu pada urin yang terus menerus ke luar sedangkan mellitus mempunyai arti manis atau madu.⁸ Diabetes mellitus adalah kelainan metabolik yang dikarakteristikan dengan hiperglikemia kronik dengan gangguan metabolisme karbohidrat, lemak, dan protein yang disebabkan karena gangguan dari sekresi insulin ataupun kerja insulin. Gejala lain dari diabetes mellitus adalah haus, poliuria, penglihatan kabur, penurunan berat badan, dan polifagia. Diabetes Mellitus diklasifikasikan menjadi dua tipe yaitu DM tipe I dan DM tipe II. Namun ada juga DM tipe lain dan DM gestasional.⁹

Diabetes melitus tipe I atau dikenal sebagai *Insulin Dependent Diabetes Mellitus (IDDM)* disebabkan karena destruksi dari sel beta di pankreas terutama oleh autoimun, sehingga tidak dapat memproduksi insulin dan ditandai dengan kurangnya kadar insulin plasma. DM tipe I dapat berkembang menjadi tipe II karena faktor usia, obesitas dan kurang aktivitas fisik. Kasus dari DM tipe I adalah sebanyak 10% dari kasus DM dan onsetsnya muncul pada usia yang tergolong muda yaitu 20 tahun dengan usia termuda yaitu 5 tahun di Eropa.^{9,10}

Diabetes melitus tipe II atau dikenal sebagai *Non-Insulin Dependent Diabetes Mellitus (NIDDM)* lebih umum dialami oleh penderita DM, disebabkan karena berkurangnya sensitivitas terhadap insulin atau resistensi insulin. Resistensi insulin adalah kelainan pada reseptor insulin yang tidak adekuat untuk menstimulasi transport glukosa ke otot skeletal dan jaringan lemak, dan tidak adekuat dalam menekan produksi glukosa hati. Resistensi ini dapat disebabkan oleh obesitas, kelebihan glukokortikoid atau hormon pertumbuhan, kehamilan yang menyebabkan diabetes gestasional, ataupun mutasi. Penderita DM tipe II biasanya berusia di atas 30 tahun. Apabila orang tua atau saudara kandung mempunyai DM tipe II, maka akan meningkatkan faktor risiko mengalami DM tipe II.^{9,10}

Penegakan diagnosis diabetes mellitus pada manusia yaitu bila pada dua kali pemeriksaan yang terpisah diperoleh kadar gula darah puasa 126 mg/dL atau lebih dan

kadar gula darah post prandial (toleransi glukosa) 200 mg/dL atau lebih dan gejala DM (poliuria, polidipsia, polifagia, penurunan berat badan dan ketonuria) disertai kadar gula darah sewaktu 198 mg/dL atau lebih.¹¹

Tikus *Sprague dawley*

Tikus dengan strain *Sprague dawley* adalah tikus yang dikembangkan secara khusus untuk keperluan penelitian/riset medis seperti model percobaan DM, kanker, dan penyakit kardiovaskular. Tikus *Sprague dawley* lebih jinak dan lebih terlihat tenang dibandingkan tikus-tikus strain lain. Tikus *Sprague dawley* pertama kali dikembangkan oleh Robert S. Dawley pada tahun 1920.^{12,13} Tikus *Sprague dawley* yang biasa digunakan untuk penelitian dikembangkan dalam kondisi lingkungan yang dijaga yaitu suhu $23 \pm 1^\circ\text{C}$ dan bagian dasar kandangnya diberikan serbuk kayu yang diganti secara rutin. Pemasukan air dan makanan pelet yang standar dan tersedia di dalam kandang *ad libitum*.^{3,13,14}

Pengambilan darah tikus dapat dilakukan dari empat bagian yaitu plexus orbital, vena ekor, vena jugularis, dan *cardiac puncture*. Anestesi umum dilakukan apabila pengambilan melalui plexus orbital dan *cardiac puncture*, sedangkan pengambilan melalui vena ekor dan vena jugularis tidak memerlukan anestesi. Vena yang biasa digunakan dalam pengambilan darah intravena dari ekor adalah vena lateralis. Untuk menginjeksi vena ekor tikus, tikus diletakkan di bawah lampu yang hangat selama 5-15 menit atau menggunakan air hangat pada ekor tikus selama 5-10 detik untuk mendilatasikan venanya. Tikus diletakkan di tempat yang dapat menahannya dengan memegang kuat ekor tikus ke arah luar dari tempat tikus diletakkan. Ekor tikus dibersihkan menggunakan kapas alkohol dan jarum injeksi berisi dosis yang dibutuhkan diinjeksikan ke vena lateral pada ekor tikus yang terlihat. Apabila terasa adanya hambatan berarti jarum tidak berada pada vena, maka dapat dilakukan pengulangan di vena sisi lain.¹⁵⁻¹⁷

Streptozotocin

Streptozotocin adalah derivat sintetik dari nitrosourea glukopiranosose hasil fermentasi

Streptomyces achromogenes yang merupakan antibiotik spektrum luas anti tumor, dan secara kimiawi berhubungan dengan nitrosourea lain yang digunakan pada kemoterapi kanker. Sebagai obat kemoterapi kanker, STZ mempunyai manfaat dalam mencegah sintesis DNA, menyebabkan kematian sel dan mencegah regenerasi sel. Selain itu, STZ juga menghambat sekresi insulin dan menyebabkan terjadinya *insulin-dependent diabetes mellitus*. Terdapat dua mekanisme pemberian STZ yaitu *multiple low dose* yang dapat menginduksi inflamasi dari pulau Langerhans dengan menarik sel mononuklear terutama limfosit, sehingga terjadi dekstruksi sel beta, dan *single high dose* secara langsung dapat merusak sel beta dikarenakan sitotoksitasnya. Pemberian STZ *multiple low dose* tidak langsung memberikan efek, tetapi efek akan terjadi beberapa hari kemudian tergantung dari pengaruh terhadap *glucose transporter 2* (GLUT 2) pada sel beta pankreas tikus yang menstimulasi jalur aktivasi dari sel T. Pemberian STZ *multiple low dose* dapat disertai dengan pemberian diet tinggi kalori pada tikus percobaan untuk menghasilkan tikus dengan DM tipe-2. Mekanisme aksi STZ berada pada level DNA.¹⁸⁻²¹

Metode Penelitian

Tikus dibagi menjadi empat kelompok yaitu kelompok kontrol, kelompok uji I dengan dosis 40 mg/kg BB, kelompok uji II dengan dosis 50 mg/kg BB, dan kelompok uji III dengan dosis 60 mg/kg BB. Tikus yang digunakan adalah tikus *Sprague dawley* dengan berat 100-150 g, dengan umur satu bulan.

Perhitungan besar sampel menggunakan rumus Freederer yaitu : $(t-1)(r-1) \geq 15$, dimana t = banyak kelompok (empat kelompok) perlakuan dan r = jumlah sampel per kelompok. Dari hasil perhitungan diperoleh tiap kelompok memakai enam ekor tikus percobaan.

Pembuatan larutan stok STZ dibuat dengan cara melarutkan 162 mg STZ pada 9 mL buffer sitrat 0,1 M (pH 4,5), sehingga setiap 0,5 mL mengandung 9 mg streptozotocin (untuk dosis 60 mg/kg BB pada berat 150 g). Larutan disimpan di suhu dingin, tidak boleh terkena cahaya matahari.

Sebelum perlakuan dan tiga hari setelah perlakuan (pemberian STZ), dilakukan penimbangan berat badan dan pengukuran kadar gula darah tikus percobaan. Kadar gula darah tikus > 198 mg/dL dinyatakan DM.

Pemberian STZ dilakukan dengan cara injeksi intravena melalui vena ekor dan pengecekan kadar gula darah sewaktu tikus dilakukan menggunakan glukometer, darah tikus diperoleh dengan cara menusuk vena ekor tikus percobaan menggunakan lancet.

Hasil dan Pembahasan

Sebelum diberi injeksi STZ secara intravena, dilakukan pengukuran kadar gula darah sewaktu tikus percobaan *Sprague dawley* menggunakan glukometer. Gula darah rata-rata tikus uji sebelum perlakuan rata-rata 110-130 mg/dL. Tiga hari setelah injeksi STZ

diperoleh data sebagai berikut : pada kelompok uji pertama yaitu dosis injeksi 40 mg/kg BB, dua dari enam ekor tikus tidak mengalami peningkatan kadar gula darah, satu ekor tikus mengalami kematian pada hari ketiga setelah perlakuan, dan tiga dari enam ekor tikus mengalami peningkatan kadar gula darah hingga mencapai kondisi DM. Pada kelompok uji kedua yaitu dosis injeksi 50 mg/kg BB, dua dari enam ekor tikus mengalami kematian pada hari ketiga setelah perlakuan, dan empat dari enam ekor tikus mengalami peningkatan kadar gula darah hingga mencapai kondisi diabetes. Pada kelompok uji ketiga yaitu dosis injeksi 60 mg/kg BB, empat dari enam ekor tikus mengalami kejang-kejang setelah diinjeksi kemudian mati, dan dua dari enam ekor tikus mengalami peningkatan kadar gula darah hingga mencapai kondisi DM (Tabel 1).

Tabel 1. Kondisi Tikus Setelah Perlakuan

Kelompok Tikus	Persentase Tikus Hidup Yang Berhasil Diabetes (%)	Persentase Tikus Yang Hidup Setelah Perlakuan (%)	Persentase Keberhasilan (%)
Kelompok Kontrol	0	100	0
Kelompok Uji I Dosis 40 mg/kg BB	60	83,33	50
Kelompok Uji II Dosis 50 mg/kg BB	100	66,67	66,67
Kelompok Uji III Dosis 60 mg/kg BB	100	33,33	33,33

Persentase tikus hidup yang berhasil DM adalah persentase banyaknya tikus yang DM dari seluruh tikus yang hidup pada hari ketiga setelah injeksi STZ. Persentase banyaknya tikus yang hidup setelah perlakuan merupakan persentase tikus yang hidup pada hari ketiga setelah injeksi STZ dari seluruh tikus uji tanpa mempedulikan kadar gula darah tikus tersebut. Persentase keberhasilan merupakan persentase banyaknya tikus yang hidup dan mengalami peningkatan kadar gula darah hingga kondisi DM ketika diukur pada hari ketiga setelah injeksi STZ dari seluruh tikus percobaan pada kelompok tersebut.

Berdasarkan hasil eksperimen tersebut di atas, pada dosis 50 mg/kg BB, persentase keberhasilan adalah 66,67%, merupakan dosis dengan tingkat keberhasilan tertinggi dimana empat tikus hidup dan mengalami kenaikan kadar gula darah sewaktu hingga mencapai kondisi DM. Pada dosis 40 mg/kg BB, persentase keberhasilan 50%, lima tikus hidup namun hanya tiga yang mengalami kenaikan gula darah sewaktu hingga mencapai kondisi DM. Sedangkan pada dosis 60 mg/kg BB, persentase keberhasilan 33,33%, merupakan dosis dengan tingkat kematian paling tinggi dan keberhasilan paling rendah dimana empat ekor tikus mati dan dua ekor tikus berhasil

mencapai kondisi diabetes. Berdasarkan data yang diperoleh maka dosis 40 mg/kg BB dan 50 mg/kg BB dapat digunakan dalam penelitian berikutnya, dimana letak perbedaan hasil yang diperoleh pada kedua dosis tersebut adalah pada dosis 40 mg/kg BB kegagalan induksi disebabkan oleh karena kadar gula darah tikus tidak berhasil mencapai kondisi DM, sedangkan pada dosis 50 mg/kg BB kegagalan induksi disebabkan oleh kematian.

Hasil ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh tim peneliti dari *Institute of Experimental Pharmacology Slovak Academy of Sciences* bersama R. Hozova dari *Drug Research Institute, Slovakia*,⁶ dimana dosis 50 mg/kg BB maupun dosis 60 mg/kg BB memberikan efek hiperglikemik yang persisten dan stabil dengan kadar gula darah sewaktu > 360 mg/dL, sedangkan pada dosis 40 mg/kg BB tidak semua tikus percobaan mengalami kenaikan kadar gula darah sewaktu hingga > 360 mg/dL dan kondisi DM pada kelompok uji ini dapat sembuh secara spontan. Hal inilah yang menyebabkan tidak semua tikus pada kelompok uji I mengalami DM pada tes penilaian kadar gula darah sewaktu di hari ketiga setelah perlakuan. Dua Jam pertama setelah diinjeksi STZ, gula darah tikus akan meningkat dikarenakan pemecahan glikogen secara mendadak. Pada tikus yang dipuaskan akan mengalami hipoglikemik enam jam setelah injeksi dan baru akan mencapai kondisi hiperglikemik permanen pada 10-12 jam setelah injeksi STZ.

Berdasarkan informasi dari penelitian tersebut dapat dinyatakan bahwa dapat dilakukan pengambilan gula darah sewaktu dan melakukan injeksi STZ tanpa puasa pada tikus uji. Namun, tujuh dari 18 tikus uji mati dalam penelitian ini dan empat dari tujuh tikus yang mati tersebut mati pada hari kedua dan ketiga setelah injeksi STZ. Hasil ini sesuai dengan hasil penelitian Gajdosik *et al.* (1999), dimana sebagian besar tikus percobaan mati pada hari kedua dan ketiga setelah pemberian STZ dan merupakan masa-masa kritis. Kemungkinan kematian disebabkan karena keracunan urea, ammonia, dan nitrat yang terbentuk ketika proses dekomposisi *N-nitrosomethyl urea* oleh STZ.⁶

Kesimpulan

Dari hasil uji eksperimen yang telah dilakukan di Laboratorium Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Krida Wacana tentang pengaruh pemberian STZ terhadap kenaikan kadar gula darah tikus *Sprague dawley*, menunjukkan bahwa baik dosis 40, 50 dan 60 mg/kg BB dapat meningkatkan kadar gula darah tikus percobaan; Dosis 50 mg/kg BB merupakan dosis dengan tingkat keberhasilan paling tinggi. Sedangkan tingkat kematian tertinggi ada pada kelompok uji III yaitu tikus percobaan yang diberi induksi STZ dosis tunggal dosis 60 mg/kg BB.

Daftar Pustaka

1. Sudoyo AW, Setiyohadi B, Alwi I, Simadibrata M, Setiati S. Buku ajar ilmu penyakit dalam jilid 3. Edisi 5. Jakarta: Interna Publishing; 2009; h.1865-88, 91-5.
2. Pusat Data dan Informasi Kementerian RI. Situasi dan Analisis Diabetes. Jakarta: Kementerian Kesehatan RI; 2014; h. 1-3.
3. Gajdosik A, Gajdosikova A, Stefek M, Navaroza J, Hozova R. Streptozotocin-induced experimental diabetes in male wistar rats". *Gen Physiol Biophys*. 1999; 18: 54-62.
4. Etuk EU. Animals models for studying diabetes mellitus. *Agric. Biol. J. N. Am*. 2010; 1(2): 130-4.
5. Horowitz M, Samson M. Gastrointestinal function in diabetes mellitus. West Sussex: John Wiley & Son; 2004; p. 33
6. Volk BW, Arquilla ER. The Diabetic pancreas. New York: Springer; 2012; p. 421-2.
7. Silverthorn DU. Human physiology : an integrated approach. 6th ed. New York: Pearson education; 2013; p. 753-5
8. Poretzky L. Principle of diabetes mellitus. 2th Ed. New York: Springer; 2010; p. 3.
9. Kahn CR, Weir GC, King GL, Jacobson AM, Moses AC, *et al.* Joslin's diabetes mellitus. 14th Ed. Boston: Joslin Diabetes Center; 2005; p. 331, 3-4.
10. Ozougwu JC, Obimba KC, Belonwu CD, Unakalamba CB. The pathogenesis and pathophysiology of type 1 and type 2 diabetes mellitus. *Academic Journal*. 2013; 4(4):46-57.

11. Kosasih EN, Kosasih AS. Tafsiran hasil pemeriksaan laboratorium klinik. Tangerang: Karisma Publishing Group; 2008; h. 58, 275-7.
12. Suckow MA, Weisbroth SH, Franklin CL. The Laboratory rat. London: Elseiver, Inc; 2006; p. 32.
13. Brower M, Grace M, Kotz CM, Koya V. Comparative analysis of growth characteristics of sprague dawley rats obtained from different sources. *Lab Anim Res.* 2015; 31(4): 166–73.
14. Hikmah N, Shita ADP, Maulana H. Rat diabetic blood glucose level profile with stratified dose streptozotocin (SD-STZ) and multi low dose streptozotocin (MLD-STZ) induction methods. *J. Trop. Life. Science.* 2015; 1(5): 30-4.
15. Fox JG, Barthold SW, Davisson MT, Newcomer CE, Quimby FW, *et al.* The Mouse in biomedical research: normative biology, husbandry, and models. 2th Ed. London: Elseiver; 2007; p. 179
16. Hedrick HJ. The Laboratory mouse. London: Elseiver; 2012; p. 718.
17. Brooks SA, Schumacher U. Metastasis research protocol: analysis of cell behaviour in vitro and in vivo. New Jersey: Humana Press; 2012; 208.
18. Basu S, Wiklund L. Studies on Experimental models: oxidative stress in applied basic research and clinical practice. New York : Humana Press; 2011; p. 48-9.
19. Abe H, Bonen A, Chabowski A, Dawson A, El-Salhy M, *et al.* Focus on diabetes mellitus research. New York: Nova Biomedical Books; 2006; p. 178.
20. LeRoith D, Taylor SI, Olefsky JM. Diabetes mellitus: a fundamental and clinical text. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2004; p. 601.
21. Vogel HG, Vogel WH. Drug discovery and evaluation: pharmacological assays. Berlin: Springer-Verlag; 2008; p. 537.