

## Efek asam alfa lipoat terhadap insulinitis pada tikus diabetes melitus tipe 2

*Effect of alpha lipoic acid on insulinitis in type 2 diabetic rat*

Ismawati<sup>1</sup>, Mukhyarjon<sup>2</sup>, Ilhami Romus<sup>3</sup>, Sonia Dinda Paramitha<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Kelompok Jabatan Fungsional Dosen Biokimia, Fakultas Kedokteran Universitas Riau

<sup>2</sup> Kelompok Jabatan Fungsional Dosen Ilmu Penyakit Dalam, Fakultas Kedokteran Universitas Riau

<sup>3</sup> Kelompok Jabatan Fungsional Dosen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran Universitas Riau

<sup>4</sup> Program Studi Kedokteran, Fakultas Kedokteran Universitas Riau

### ABSTRACT

**Background:** The damaging of  $\beta$  cell causes hyperglycemia.  $\beta$  cell damaged as insulinitis happens because of the increase of free radical and the decrease of endogen antioxidant that caused oxidative stress. **Objective:** The goal of this research was to find out the effect of alpha lipoic acid (ALA) on pancreas Langerhans island's histopathology in type 2 diabetic rats. **Methods:** This was an experimental laboratory study with post test only design. Fifteen adult male rats of Wistar strain were segregated into three groups ( $n=5$ ) labeled as control, type 2 diabetes (DM), and DM+ALA. The experiment was designed for 3 weeks. The measured parameter was insulinitis level on pancreas Langerhans island of groups labeled. **Results:** The statistical test result showed there was the significant difference between control and type 2 diabetes group ( $p=0,005$ ), but there was no significant difference between DM and DM+ ALA group ( $p=0,549$ ). **Conclusions:** Although not statistically significant, giving ALA 60 mg/kg body weight for 3 weeks decreased the degree of insulinitis in diabetic rats.

**KEYWORDS:** alpha lipoic acid; diabetes mellitus; insulinitis

### ABSTRAK

**Latar belakang:** Kerusakan pada sel  $\beta$  berupa insulinitis yang terjadi karena peningkatan radikal bebas dan penurunan antioksidan endogen dapat menimbulkan stres oksidatif. **Tujuan:** Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek pemberian asam alfa lipoat (ALA) terhadap gambaran histopatologi pulau Langerhans pankreas tikus yang diinduksi diabetes mellitus (DM) tipe 2. **Metode:** Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan desain *post-test only*. Lima belas tikus jantan dewasa galur Wistar dibagi ke dalam 3 kelompok ( $n=5$ ) yaitu kelompok kontrol, kelompok DM, dan kelompok DM+ALA dengan perlakuan selama 3 minggu. Parameter yang diukur adalah derajat insulinitis pulau Langerhans pankreas. **Hasil:** Hasil uji statistik menunjukkan adanya perbedaan insulinitis yang bermakna antara kelompok kontrol dan kelompok DM ( $p=0,005$ ) dan sebaliknya dengan kelompok DM dan kelompok DM+ALA ( $p=0,549$ ). **Simpulan:** Pemberian ALA 60 mg/kg berat badan selama 3 minggu dapat menurunkan derajat insulinitis pada tikus DM, meskipun secara statistik tidak bermakna.

**KATA KUNCI:** asam alfa lipoat; diabetes melitus; insulinitis

**Korespondensi:** Ismawati, Kelompok Jabatan Fungsional Dosen (KJF) Biokimia, Fakultas Kedokteran Universitas Riau, Jl. Diponegoro No.1, Pekanbaru, Riau, Indonesia, e-mail: [ismawati75@yahoo.com](mailto:ismawati75@yahoo.com)

**Cara sitasi:** Ismawati, Mukhyarjon, Romus I, Paramitha SD. Efek asam alfa lipoat terhadap insulinitis pada tikus diabetes melitus tipe 2. Jurnal Gizi Klinik Indonesia. 2019;16(2):58-63. doi: 10.22146/ijcn.31701

## PENDAHULUAN

Menurut *World Health Organization* (WHO), diabetes mellitus (DM) tipe 2 merupakan kumpulan gangguan anatomik dan kimiawi akibat adanya defisiensi insulin absolut atau relatif dan gangguan fungsi insulin. Diabetes melitus sering tidak disadari oleh penderitanya walaupun onset terjadinya dimulai dari 7 tahun sebelum diagnosis (1). Prevalensi DM tipe-2 terus meningkat dari tahun ke tahun. Menurut *International Diabetes Federation*, DM merupakan penyebab kematian nomor 7 di dunia dengan prevalensi mencapai 1,9% dengan 95% diantaranya merupakan proporsi kejadian DM tipe 2 (2). Menurut hasil Riset Kesehatan Dasar (2013), kasus DM pada kelompok usia diatas 15 tahun yang terdiagnosis oleh dokter berdasarkan gejala adalah 2,1% dari seluruh jumlah penduduk Indonesia sedangkan di Provinsi Riau terdiagnosis sebanyak 1,2% (3).

Streptozotocin (STZ) adalah agen alkilasi yang telah banyak digunakan untuk menginduksi DM pada hewan. Streptozotocin akan menginduksi sel untuk mengaktivasi sintesis *Poli-ADP-Ribose Polymerase-1* (PARP-1), diikuti dengan penurunan kadar *Nikotinamida Adenin Dinukleotida* (NAD). Streptozotocin juga mengganggu sistem pertahanan antioksidan dan meningkatkan pembentukan radikal bebas yang berpengaruh terhadap perkembangan stres oksidatif pada diabetes. Pembentukan nitrat oksida (NO) memiliki peranan penting terhadap kerusakan pankreas dengan menginduksi kematian sel (apoptosis) (4). Lebih lanjut, nikotinamid merupakan amida dari vitamin B3 yang berguna sebagai pelindung pulau Langerhans dari kerusakan akibat STZ. Pemberian nikotinamid akan meningkatkan ketersediaan ATP sehingga menghambat kematian sel  $\beta$  pankreas (5).

Infiltrasi limfosit pada pulau *Langerhans* (insulinitis) pada awalnya diketahui terjadi pada DM tipe 1. Namun, berbagai penelitian kemudian juga membuktikan bahwa insulinitis terjadi pada DM tipe 2. Respon inflamasi ini terkait dengan terjadinya deposit amiloid, fibrosis, dan kematian sel  $\beta$ . Toksisitas glukosa akan menyebabkan pelepasan faktor inflamasi yang kemudian diikuti oleh kematian sel yang masif dan infiltrasi sel imun. Insulinitis ini berperan pada pengaturan fungsi dan survival sel  $\beta$  (6).

Peranan stres oksidatif pada patogenesis DM telah diketahui. Penggunaan antioksidan dapat dilakukan untuk meminimalkan kerusakan oksidatif (7). Asam alfa lipoat merupakan antioksidan yang poten. Asam a-lipoat (ALA) merupakan vitamin dengan rumus kimia  $C_8H_{14}O_2S_2$  dan nama lainnya adalah *thioctic acid*. Pada manusia, ALA disintesis pada hati dan jaringan lain. Asam a-lipoat banyak terdapat pada jaringan dengan aktivitas metabolik yang tinggi seperti jantung, hati, dan ginjal. Asam lipoat juga terdapat dalam jumlah sedikit pada buah-buahan dan sayur-sayuran seperti bayam, brokoli, tomat, dan kacang polong. Asam alfa lipoat memiliki kemampuan mendaur ulang antioksidan lain seperti vitamin C, vitamin E, dan glutathion serta modulasi transduksi sinyal seperti insulin dan nuklear faktor kappa  $\beta$  (NF $\kappa$ b). Asam alfa lipoat diketahui berperan pada jalur metabolik insulin, pengambilan glukosa, dan sintesis glikogen. Penelitian *in vitro* menunjukkan bahwa ALA dapat meningkatkan translokasi *glukosa transporter* 1 (GLUT-1) dan GLUT-4 pada jaringan adiposa dan sel otot rangka. Hal ini berkaitan dengan peningkatan aktivitas protein pada jalur insulin, seperti *insulin receptor* (IR), *insulin receptor substrat* 1 (IRS1), *phosphatidylinositide 3-kinase* (PI3K), dan protein kinase B (Akt) (8).

Pemberian antioksidan ALA dapat membantu pulau Langerhans dalam mengatasi stres oksidatif. Asam alfa lipoat merupakan kofaktor dalam metabolisme energi di mitokondria sel  $\beta$  pankreas sehingga apabila ALA eksogen dimasukkan ke dalam tubuh, maka reactive oxygen species (ROS) dapat dieliminasi dari mitokondria sel  $\beta$  pankreas (9). Asam alfa lipoat juga diketahui memiliki efek anti-inflamasi (8).

Efek antihiperqlikemik ALA pada DM tipe 2 telah diketahui, tetapi mekanisme kerja ALA pada pankreas belum diketahui dengan jelas. Beberapa penelitian efek ALA terhadap pankreas telah dilakukan pada DM tipe 1 (10,11). Namun, belum ada penelitian mengenai efek ALA terhadap jaringan pankreas pada DM tipe 2. Pemberian streptozotocin dan nikotinamid pada hewan coba dapat menimbulkan DM tipe 2. Dengan demikian, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek pemberian ALA terhadap derajat insulinitis pada tikus yang diinduksi DM tipe 2. Penelitian ini penting untuk pengembangan ALA sebagai terapi DM tipe 2.

## BAHAN DAN METODE

### Desain dan subjek

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan *desain post-test only with control*. Variabel bebas adalah asam alfa lipoat dan variabel terikatnya adalah derajat insulinitis. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biokimia dan Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Riau pada bulan Juni-November 2016 setelah mendapatkan surat keterangan lolos kaji etik dari Unit Etika Penelitian Kedokteran dan Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Riau nomor 211/UN.19.5.1.1.8/UEPK/2016. Subjek penelitian menggunakan 15 ekor tikus Wistar jantan berumur  $\pm$  2-3 bulan dengan berat badan 200-250 g. Seluruh hewan coba dibagi secara acak menjadi 3 kelompok, masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor, yaitu kelompok I adalah kelompok tikus yang diberi diet standar dan air layak minum, kelompok II adalah kelompok tikus yang diberi streptozotocin + nikotinamid, dan kelompok III adalah kelompok tikus yang diberi streptozotocin + nikotinamid dan ALA.

### Pengumpulan dan pengukuran data

Induksi DM tipe 2 pada penelitian ini dilakukan dengan streptozotocin (STZ) intraperitoneal (50 mg/kg), diikuti 15 menit kemudian dilakukan pemberian nikotinamid (110 mg/kg) intraperitoneal. Sebelum induksi, tikus dipuasakan selama 12 jam. Tikus dikategorikan DM tipe 2 jika pada hari ke-3 setelah induksi memiliki kadar glukosa darah leboh dari 250 mg/dL (12). Pemberian ALA dengan dosis 60 mg/kg BB/hari setiap hari selama 3 minggu pada tikus DM dilakukan dengan sonde lambung (13).

Pengambilan organ pankreas dilakukan setelah tikus dianestesi terlebih dahulu menggunakan eter. Organ selanjutnya dimasukkan dalam bufer formalin 10%. Pembuatan preparat dari organ dikerjakan di Laboratorium Patologi Anatomi. Pewarnaan menggunakan hematoxylin eosin (HE). Jaringan pankreas utuh difiksasi dan diproses seutuhnya, kemudian yang dinilai adalah seluruh pulau Langerhans kecuali kelenjar eksokrin. Analisis dilakukan di bawah mikroskop cahaya dan penilaian dilakukan dengan pembesaran 400x dan dengan sistem skoring sebagai berikut (14), skor 0 (normal): tidak ditemukan

adanya limfosit pada pulau Langerhans; skor 1 (insulinitis ringan): terdapat sebulan sel-sel radang mononuklear (limfosit) disekitar pulau Langerhans (*periinsulinitis*); skor 2 (insulinitis sedang): terdapat sebulan sel-sel radang mononuklear (limfosit) di sebagian kecil pulau Langerhans (<50%); skor 3 (insulinitis berat): terdapat sebulan sel-sel radang mononuklear (limfosit) di sebagian besar pulau Langerhans (>50%). Oleh karena jaringan pankreas tikus ini kecil, maka seluruh jaringan pankreas diproses menjadi blok paraffin dan dibuat slide mikroskop. Pada slide, semua pulau Langerhans dinilai dan dirata-ratakan. Skor setiap slide mikroskopik dijumlahkan dan dihitung reratanya. Penilaian dilakukan oleh ahli patologi anatomi.

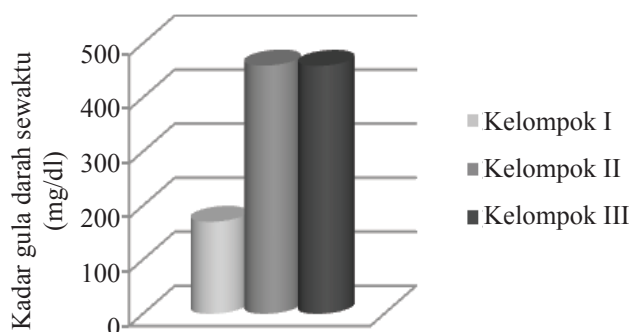
### Analisis data

Data skor derajat insulinitis disajikan sebagai rerata $\pm$ SD. Uji statistik yang digunakan adalah uji *Mann Whitney*.

## HASIL

Setelah 3 hari induksi DM dengan streptozotocin dan nikotinamid pada 10 ekor hewan coba, kelompok II dan III dilakukan pemeriksaan glukosa darah sewaktu. Rerata kadar glukosa darah sewaktu pada kelompok II dan III lebih tinggi dibandingkan kelompok I. Semua tikus yang diinduksi DM memiliki kadar glukosa lebih dari 250 mg/dL sedangkan semua tikus pada kelompok I memiliki kadar glukosa darah kurang dari 250 mg/dL (**Gambar 1**).

Hasil penelitian menunjukkan peningkatan skor insulinitis pada kelompok yang diinduksi DM (II) dibandingkan kelompok I (kontrol) dan peningkatan ini bermakna secara statistik. Pemberian ALA pada tikus DM (kelompok III) dapat menurunkan derajat insulinitis meskipun secara statistik tidak bermakna (**Tabel 1**). Pada penelitian ini menggunakan penilaian insulinitis secara kuantitatif. Angka rerata ini didapatkan dari jumlah skor semua pulau Langerhans dalam 1 slide mikroskopik atau jumlah pulau Langerhans. Skor pada penelitian ini merujuk pada studi sebelumnya di Jerman (14) dan Amerika yang melakukan penilaian kuantitatif insulinitis serupa (15).



Gambar 1. Kadar glukosa darah sewaktu pada hari ke-3 induksi (mg/dL)

Tabel 1. Rerata skor insulinitis pulau Langerhans pankreas tikus pada setiap kelompok perlakuan

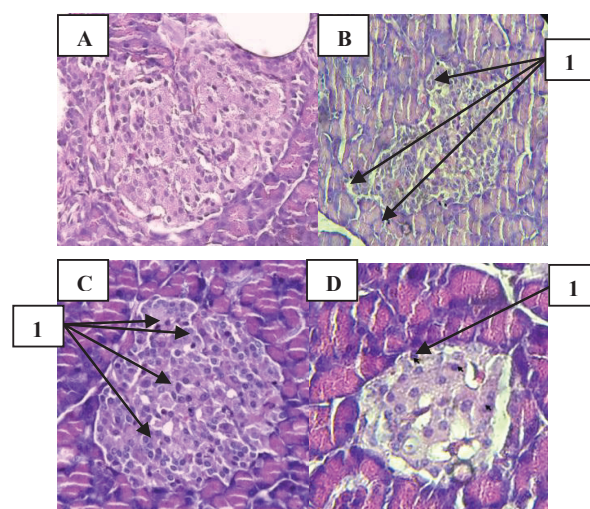
Kelompok	n	Rerata±SD
I	5	0,0000
II	5	1,39±0,6 <sup>a</sup>
III	5	1,09±0,2

<sup>a</sup> = p<0,05 dibandingkan kelompok I

Hasil pemeriksaan mikroskopik pankreas pada berbagai kelompok dapat dilihat pada **Gambar 2**. Skor insulinitis paling tinggi terdapat pada kelompok DM (kelompok II) diikuti oleh kelompok DM+ALA (kelompok III) dan terakhir kelompok kontrol (kelompok I). Pada kelompok I (**Gambar 2A**) dengan skor 0 (normal) terlihat sel  $\beta$  yang tersebar merata dan tidak tampak adanya sebaran limfosit maupun nekrosis. Pada kelompok DM tipe 2 (**Gambar 2B**) dengan skor 1 (kategori ringan) tampak sebaran limfosit pada pinggir pulau Langerhans (*periinsulitis*) sedangkan pada kelompok II dengan skor 2 (kategori sedang) (**Gambar 2C**) tampak sebaran limfosit di dalam pulau Langerhans. Kelompok DM tipe 2 + ALA (**Gambar 2D**) dengan skor 1 (kategori ringan) tampak sebaran limfosit pada pinggir pulau Langerhans (*periinsulitis*).

## BAHASAN

Pada penelitian ini, induksi DM dilakukan dengan pemberian STZ (50 mg/kg BB) dan 15 menit kemudian diberikan injeksi nikotinamid 110 mg/kg berat badan intraperitoneal. Pemberian STZ-nikotinamid akan menginduksi DM tipe 2 pada hewan coba (12). Hasil penelitian ini menunjukkan kejadian insulinitis ringan



Gambar 2. Gambaran histopatologi pulau Langerhans pankreas tikus pada setiap kelompok perlakuan

(Pewarnaan HE) (Pembesaran 400x);

A=kelompok I; B=kelompok II skor 1; C=kelompok II skor 2; D=kelompok III skor 1; 1=limfosit

sampai sedang pada kelompok DM. Hasil ini sejalan dengan studi sebelumnya (16) yang mendapatkan insulinitis pada tikus wistar yang diinduksi STZ (60 mg/kg BB) diikuti oleh nikotinamid 120 mg/kg berat badan intraperitoneal.

Insulinitis telah diketahui sebagai patogenesis DM tipe 1, tetapi seiring perkembangan penelitian ternyata diketahui bahwa insulinitis juga terjadi pada DM tipe 2. Meskipun dengan penyebab yang berbeda, insulinitis pada DM tipe 1 dan 2 melibatkan molekul efektor dan transduksi sinyal yang sama. Menurut hipotesis yang diajukan oleh Böni-Schnetzler, hiperglikemia akan menginduksi produksi interleukin 1-b (IL-1b). Selanjutnya, produksi IL-1b ini akan meningkatkan produksinya sendiri melalui mekanisme autoinduksi dan produksi faktor inflamasi lainnya seperti IL-8. Hal ini selanjutnya akan mengaktifkan makrofag yang akan memproduksi lebih banyak IL-1b sehingga menimbulkan kematian dan kegagalan fungsi sel  $\beta$  pankreas (17).

Hiperglikemia mengakibatkan stres oksidatif yang selanjutnya meningkatkan aktivitas jalur sinyal NF $\kappa$ b. Pada tikus yang diinduksi dengan STZ-nikotinamid, terjadi peningkatan kadar NF- $\kappa$ B, IL-1b, IL-6, TNF- $\alpha$ , dan NO. Sitokin ini bersifat sitotoksik terhadap sel  $\beta$  pankreas sehingga mengakibatkan destruksi dan



disfungsi sel b. Sekresi IL-1b meningkatkan ROS, IL-6 memperberat resistensi insulin, dan TNF- $\alpha$  memperparah kerusakan pulau Langerhans (18).

Hasil studi ini menemukan bahwa pemberian ALA 60 mg/ kg berat badan/ hari setiap hari selama 3 minggu dapat menurunkan derajat insulinitis yang terjadi pada DM yaitu rerata skor sebesar 1,09 (insulinitis ringan), meskipun secara statistik penurunan ini tidak bermakna. Hal ini terkait dengan kemampuan ALA meningkatkan sensitivitas insulin dan mempercepat pemulihan sel b pankreas akibat diabetes (10). Asam alfa lipoat mengaktifkan jalur sinyal insulin sehingga dapat memperbaiki transportasi glukosa. Setelah transportasi glukosa membaik, maka sekresi IL-1 $\beta$  akibat aktivasi makrofag yang menyebabkan kematian sel pulau Langerhans akan diblok sehingga ALA dapat melindungi sel pulau Langerhans dari kerusakan (10).

Menurut penelitian yang mempelajari ekspresi *lipoic acid synthase* (LASY) pada model hewan diabetes tipe 2, adanya *downregulation* dan penurunan asam alfa lipoat endogen akan menyebabkan ketidakseimbangan redoks yang menyebabkan inflamasi dan disfungsi mitokondria yang merupakan dua ciri penting diabetes. Asam alfa lipoat endogen disintesis dari asam oktanoat melalui LASY. Penurunan LASY menyebabkan penurunan aktivitas SOD dan katalase di mitokondria dan sitosol sehingga terjadi peningkatan kadar anion superoksida (ROS). Adanya *downregulation* LASY pada keadaan hiperglikemia dapat menurunkan kadar glutathione (GSH), *superoxide dismutase* (SOD), dan katalase serta menghasilkan TNF- $\alpha$  dan meningkatkan kadar anion superoksida (8). Pemberian ALA eksogen dapat memacu LASY untuk meningkatkan ALA endogen (19).

Derajat insulinitis pada tikus DM tipe 2 yang diberi ALA menunjukkan penurunan yang tidak signifikan secara statistik. Hal ini kemungkinan karena dosis dan waktu pemberian ALA yang tidak adekuat. Dosis ALA dan lama pemberian ALA pada penelitian ini lebih kecil dibandingkan penelitian lain. Dosis ALA yang digunakan pada penelitian ini berdasarkan penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa pemberian ALA selama 2 minggu terbukti dapat menurunkan skor aterosklerosis pada aorta mencit yang diberi diet tinggi kolesterol (13).

Penggunaan dosis ini juga dengan mempertimbangkan dosis terkecil yang dapat memberikan efek terapi dengan efek samping minimal. Penelitian menunjukkan pemberian ALA dengan dosis rendah (31-62 mg/kg berat badan/hari) pada tikus Wistar selama 2 tahun tidak memberikan efek samping. Sementara itu, pemberian ALA 121 mg/ kg berat badan/ hari selama 4 minggu mengakibatkan gangguan fungsi hepar (20). Lebih lanjut, pemberian ALA sebanyak 100 mg/kg berat badan selama 4 minggu melalui sonde lambung terbukti meningkatkan kadar insulin serum pada kelompok tikus DM (10). Studi sejenis juga menemukan bahwa pemberian ALA 100mg/ kg berat badan secara oral pada tikus DM selama 4 minggu meningkatkan sensitivitas insulin yang signifikan (11).

## SIMPULAN DAN SARAN

Pemberian ALA 60 mg/kg berat badan selama 3 minggu dapat menurunkan derajat insulinitis pada tikus DM tipe 2, meskipun secara statistik tidak bermakna. Dengan demikian, masih perlu dilakukan penelitian lanjutan mengenai efek ALA terhadap fungsi pankreas dan efek ALA pada organ lainnya yang terkait pada hewan coba DM tipe 2. Penelitian ini memberikan pemahaman mengenai mekanisme kerja ALA untuk dapat dikembangkan sebagai terapi DM tipe 2.

### *Pernyataan konflik kepentingan*

Penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan dengan pihak-pihak yang terkait dalam penelitian ini..

## RUJUKAN

1. Setiati S, Idrus A, Suyodo AW, Simadibrata M, Setiyohadi BA, Syam AF. Ilmu penyakit dalam. Jakarta: Interna Publishing; 2014.
2. Fatimah RN. Diabetes melitus tipe 2. Majority: Medical Journal of Lampung University 2015;4(5):93-101.
3. Kemenkes RI. Riset kesehatan dasar. Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian Kesehatan Republik Indonesia; 2013.
4. Szkudelski T. Streptozotocin–nicotinamide-induced diabetes in the rat. Characteristics of the experimental model. Exp Biol Med. 2012;237(5):481-90. doi: 10.1258/

- ebm.2012.011372
5. Ghasemi A, Khalifi S, Jedi S. Streptozotocin-nicotinamide-induced rat model of type 2 diabetes. *Acta Physiol Hung*. 2014;101(4):408-20. doi: 10.1556/APhysiol.101.2014.4.2
  6. Donath MY, Schumann DM, Faulenbach M, Ellingsgaard H, Perren A, Ehses JA. Islet inflammation in type 2 diabetes: from metabolic stress to therapy. *Diabetes Care*. 2008;31 Suppl 2:S161-4. doi: 10.2337/dc08-s243
  7. Matough FA, Budin SB, Hamid ZA, Alwahaibi N, Mohamed J. The role of oxidative stress and antioxidants in diabetic complications. *Sultan Qaboos Univ Med J*. 2012;12(1):5-18. doi: 10.12816/0003082
  8. Gomes MB, Negrato CA. Alpha-lipoic acid as a pleiotropic compound with potential therapeutic use in diabetes and other chronic diseases. *Diabetol Metab Syndr*. 2014;6(1):80. doi: 10.1186/1758-5996-6-80
  9. Poh ZX, Goh KP. A current update on the use of alpha lipoic acid in the management of type 2 diabetes mellitus. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets* 2009;9(4):392-8. doi: 10.2174/187153009789839147
  10. Kandeil MA, Amin KA, Hassanin KA, Ali KM, Mohammed ET. Role of lipoic acid on insulin resistance and leptin in experimentally diabetic rats. *J Diabetes Complications*. 2011;25(1):31-8. doi: 10.1016/j.jdiacomp.2009.09.007
  11. Salama RHM. Hypoglycemic effect of lipoic acid, carnitine and nigella sativa in diabetic rat model. *Int J Health Sci (Qassim)*. 2011 Jul;5(2):126-34.
  12. Annadurai T, Muralidharan AR, Joseph T, Hsu MJ, Thomas PA, Geraldine P. Antihyperglycemic and antioxidant effects of a flavanone, naringenin, in streptozotocin-nicotinamide-induced experimental diabetic rats. *J Physiol Biochem*. 2012;68(3):307-18. doi: 10.1007/s13105-011-0142-y
  13. Ismawati I, Winarto W, Sari RP. Pencegahan lesi aterosklerosis oleh asam alfa lipoat pada aorta mencit jantan (*Mus musculus*) yang diberi diet tinggi kolesterol. *JIK (Jurnal Ilmu Kedokteran)*. 2011;5(1):19-25.
  14. Gutierrez DA, Fu W, Schonefeldt S, Feyerabend TB, Ortiz-Lopez A, Lampi Y, et al. Type 1 diabetes in NOD mice unaffected by mast cell deficiency. *Diabetes*. 2014;63(11):3827-34. doi: 10.2337/db14-0372
  15. Wang H, Xue Y, Wang B, Zhao J, Yan X, Zhu MJ, et al. Maternal obesity exacerbates insulinitis and type 1 diabetes in non-obese diabetic mice. *Reproduction*. 2014;148(1):73-9. doi: 10.1530/REP-13-0614
  16. Rathinavelusamy P, Mazumder PM, Sasmal D, Jayaprakash V. Evaluation of in silico, in vitro  $\alpha$ -amylase inhibition potential and antidiabetic activity of *Pterospermum acerifolium* bark. *Pharm Biol*. 2014;52(2):199-207. doi: 10.3109/13880209.2013.823551
  17. Böni-Schnetzler M, Ehses JA, Faulenbach M, Donath MY. Insulinitis in type 2 diabetes. *Diabetes Obes Metab*. 2008;10(s4):201-4. doi: 10.1111/j.1463-1326.2008.00950.x
  18. Palsamy P, Subramanian S. Ameliorative potential of resveratrol on proinflammatory cytokines, hyperglycemia mediated oxidative stress, and pancreatic  $\beta$ -cell dysfunction in streptozotocin-nicotinamide-induced diabetic rats. *J Cell Physiol*. 2010;224(2):423-32. doi: 10.1002/jcp.22138
  19. Padmalayam I, Hasham S, Saxena U, Pillarisetti S. Lipoic acid synthase (LASY): a novel role in inflammation, mitochondrial function, and insulin resistance. *Diabetes*. 2009 Mar;58(3):600-8. doi: 10.2337/db08-0473
  20. Goraca A, Huk-Kolega H, Piechota A, Kleniewska P, Ciejka E, Skibska B. Lipoic acid - biological activity and therapeutic potential. *Pharmacol Rep*. 2011;63(4):849-58. doi: 10.1016/s1734-1140(11)70600-4