

**EFEK VITAMIN C TERHADAP KADAR MALONDIALDEHID (MDA) DARAH
TIKUS YANG MENDERITA DIABETES MELLITUS (DM) DENGAN
PEMBERIAN ALOKSAN**

Detty Iryani, Eti Yerizel, Yunes Ario

ABSTRAK

Diabetes melitus adalah penyakit degeneratif yang jika tidak teregulasi dengan baik akan mengakibatkan suatu keadaan stres oksidatif, yaitu terjadi produksi radikal bebas yang melebihi kemampuan anti oksidan tubuh dalam meredamnya. MDA (*Malondialdedid*) merupakan salah satu produk final dari lipid peroksidasi, senyawa ini terbentuk akibat degradasi dari radikal bebas hidroksil dengan lipid membran sel tubuh atau dengan asam lemak tak jenuh, yang selanjutnya ditransformasi menjadi radikal yang sangat reaktif. Vitamin C adalah salah satu anti oksidan kuat yang memiliki efek biologis untuk menghambat kerusakan oksidatif oleh radikal bebas. Vitamin C memiliki efek biologis untuk menghambat kerusakan oksidatif oleh radikal bebas. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh vitamin C sebagai antioksidan terhadap kelinci yang menderita DM akibat pemberian aloksan.

Tiga puluh ekor kelinci dibagi secara random menjadi 3 kelompok. Sebelum perlakuan kelinci diaklimatisasi selama satu minggu. Kelompok I, kontrol negatif, tidak diberi aloksan dan vitamin C, Kelompok II, kontrol positif diinduksi dengan aloksan 200 mg/kg BB dan tidak diberi vitamin C, Kelompok III, perlakuan diinduksi dengan aloksan 200 mg/kgBB dan diberi vitamin C 24 mg/kgBB. Setelah 5-6 hari dilakukan pemeriksaan kadar glukosa darah, kemudian kelompok III diberi vitamin C selama 28 hari, setelah itu baru dilakukan pemeriksaan kadar MDA, dengan menggunakan metode Placer, Cusman, dan Johnson.

Perbedaan kadar rata-rata MDA darah antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok kontrol positif atau sebaliknya adalah 1,09800 dengan $p=0,000$ yang berarti terdapat perbedaan yang bermakna ($p<0,01$), antara kelompok kontrol positif dengan kelompok perlakuan vitamin C (24mg/kgBB) atau sebaliknya adalah 0,93150 dengan $p=0,000$ yang berarti juga terdapat perbedaan yang bermakna ($p<0,01$). Sedangkan perbedaan rata-rata antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan vitamin C (24mg/kgBB) atau sebaliknya adalah 0,16650 dengan $p=0,499$ yang berarti tidak terdapat perbedaan yang bermakna ($p>0,01$) antara kedua kelompok tersebut. Kesimpulan, suplementasi vitamin C berpengaruh terhadap kadar MDA darah kelinci diabetes melitus.

Kata kunci : Vitamin C, Antioksidan, Radikal Bebas, Malondialdehid, Diabetes Mellitus

PENDAHULUAN

Diabetes melitus (DM) adalah penyakit yang ditandai oleh hiperglikemi dan gangguan metabolisme karbohidrat, lemak serta protein yang disebabkan oleh defisiensi kerja insulin dan atau sekresi insulin baik secara absolut maupun relatif disertai oleh gejala seperti rasa haus (polidipsi), volume urin meningkat (poliuri) dan peningkatan nafsu makan (polifagi) (Moningkey, 2000; Askandar Tj, 1998).

Diabetes melitus (DM) merupakan penyakit degeneratif yang jumlah penderitanya selalu meningkat dari tahun ke tahun. Sebelumnya diabetes melitus dianggap sebagai penyakit orang kaya sehingga penyakit ini dianggap sebagai penyakit negara-negara maju dan implikasinya, negara-negara dunia ketiga kurang memperhatikan penyakit ini. Kenyataannya sekarang ini sangat berbeda, beberapa laporan terakhir menunjukkan bahwa terdapat prevalensi diabetes yang cukup besar pada masyarakat di negara yang sedang berkembang. Peningkatan penderita DM untuk 20 sampai 30 tahun mendatang disebabkan oleh peningkatan kemakmuran, perubahan pola makan, demografi dan urbanisasi. Perubahan pola makan menjadi pola makan beresiko, seperti konsumsi karbohidrat dan lemak yang tinggi, kurangnya aktivitas fisik yang mengakibatkan kegemukan dan hipertensi, disamping adanya faktor resiko yang tidak bisa dikendalikan seperti gen, umur, jenis kelamin yang cukup berpengaruh dalam meningkatkan angka kejadian (Moningkey, 2000; King H, Rewers, 1991).

Menurut perkiraan terakhir, prevalensi diabetes melitus (DM) di dunia sebesar 4%. Ini berarti bahwa terdapat lebih dari 143 juta penderita DM di dunia. Diproyeksikan prevalensinya akan menjadi 5,4% (300 juta penderita) pada tahun 2025. Sebanyak 77% diantaranya akan terjadi di negara berkembang. Sedangkan prevalensi DM di Asia Tenggara pada tahun 1995 sebesar 4,1% dan diproyeksikan akan menjadi 6,5% pada tahun 2025. Peningkatan penyakit ini di negara berkembang berhubungan dengan industrialisasi dan perbaikan sosial ekonomi. Berdasarkan berbagai penelitian epidemiologis di Indonesia yang dikeluarkan oleh Persatuan Endokrinologi Indonesia (PERKENI) pada tahun 2002 menyebutkan bahwa prevalensi diabetes melitus di Indonesia sebesar 1,5-2,3% dari penduduk Indonesia yang berumur di atas 15 tahun, dan angka ini cenderung meningkat sejalan dengan pertumbuhan perekonomian Indonesia (Moningkey, 2000; WHO Technical Report Series, 1994).

Diabetes melitus yang tidak teregulasi dengan baik akan mengakibatkan suatu keadaan stres oksidatif, dimana terjadi produksi radikal bebas yang melebihi kemampuan anti oksidan tubuh dalam meredamnya. Hiperglikemia secara luas diketahui menyebabkan peningkatan konsentrasi radikal bebas. Hal ini terjadi melalui tiga jalur yang berbeda, yaitu *nonenzymatic glycation*, autooksidasi glukosa dan aktivasi intraselular *polyol pathway*. Jika membran sel diserang oleh radikal bebas yang ditimbulkan sebagai akibat dari tiga mekanisme tersebut maka terjadilah suatu reaksi peroksidasi lipid yang akan berlanjut sehingga rantai asam lemak terputus menjadi berbagai senyawa yang bersifat toksik terhadap sel, antara lain MDA (*Malondialdehid*) (Inayati,2004; Syafril S,2000).

MDA (*Malondialdedid*) merupakan salah satu produk final dari lipid peroksidasi, senyawa ini terbentuk akibat degradasi dari radikal bebas hidroksil dengan lipid membran sel tubuh atau dengan asam lemak tak jenuh, yang selanjutnya ditransformasi menjadi radikal yang sangat reaktif. Kemampuan radikal bebas hidroksil membentuk reaksi rantai dengan abstraksi satu atom hydrogen dari membran sel dan terbentuklah lipid peroksida. Kelanjutan dari reaksi ini menyebabkan terputusnya rantai asam lemak menjadi senyawa MDA,9-hidroksil nonenal, etana dan pentana. Semua aldehid ini mempunyai daya perusak yang tinggi terhadap sel tubuh.Kadar MDA akan meningkat sesuai dengan fungsi intensitas oksidatif, sehingga MDA akan berkurang bila sistem pertahanan baik (Askandar.Tj,1998 .Sarwono.W,1996).

Untuk mengantisipasi efek radikal bebas pada penderita DM dan kemungkinan terjadinya komplikasi maka diperlukan tambahan antioksidan dari luar tubuh. Antioksidan adalah suatu senyawa yang mampu memberi elektron pada atom yang memiliki elektron yang tidak berpasangan.Vitamin yang banyak digunakan adalah vitamin A, vitamin C dan vitamin E (Younson R,2005; Srinivasan,Anusuya et al,2003; Syafril S,2000).

Vitamin C merupakan vitamin yang larut dalam air, Vitamin C memiliki kemampuan antioksidan yang lebih kuat bila dibandingkan dengan vitamin A dan vitamin E (Klenner, 2005). Selain itu vitamin C juga merupakan satu-satunya antioksidan yang dapat mencegah peroksidasi lipid (Nyyssonen *et al.*, 1997). Vitamin C memiliki efek biologis untuk menghambat kerusakan oksidatif oleh radikal bebas (Wise J, 2001). Mekanisme kerjanya secara langsung menangkal radikal (*Scavenging*) dalam plasma dengan bertindak sebagai pendonor *hydrogen* sehingga efektif untuk menghentikan reaksi peroksidasi lipid.(Sitompul 2003; Syafril S,2000; Mayes et al,1999).

Timbulnya gagasan pemberian terapi antioksidan pada penderita diabetes melitus membuat penulis tertarik melakukan penelitian untuk melihat pengaruh vitamin C sebagai antioksidan dalam menanggulangi stres oksidatif pada penderita diabetes melitus.

METODE

Rancangan penelitian

Jenis penelitian adalah penelitian eksperimental dengan menggunakan kelinci sebagai hewan coba. Jumlah sampel dari penelitian ini adalah sebanyak 30 ekor yang dipilih secara acak yang terdiri dari kelinci jantan dan betina dengan berat badan berkisar 300-500 gram. Besar sampel ditentukan dengan rumus menurut Fraenkle and Wallen.

$$(np - 1) - (p - 1) \geq p^2 \quad \text{Dimana : } p = \text{jumlah kelompok hewan coba}$$
$$n = \text{jumlah hewan coba tiap kelompok}$$

$$(n \cdot 3 - 1) - (3 - 1) \geq 3^2$$

$$(3n - 1) - 2 \geq 9$$

$$3n \geq 12$$

$$n \geq 4$$

Alat dan Bahan

- seperangkat tempat pemeliharaan kelinci
- sonde oral
- timbangan
- botol dengan berbagai ukuran
- seperangkat alat bedah minor
- gelas kimia dan gelas ukur
- tissue pembersih
- water bath
- sentrifuge
- spektrofotometer
- sprit disposable 5 cc
- serbuk gergaji
- Vitamin C
- HCl 1 M
- Na-Thio Barbiturat 1 %

Larutan tris TCA 100 %

Kelinci 30 ekor

Prosedur Kerja

- a. Persiapan alat dan bahan
- b. Persiapan hewan percobaan

Sebelum perlakuan, 30 ekor kelinci terlebih dahulu diaklimatisasi dalam kondisi laboratorium selama satu minggu dengan diberi makanan yang cukup. Pada hari terakhir diukur kadar glukosa darah puasa kelinci. Kelinci yang dipilih adalah kelinci yang mempunyai kadar gula darah normal (90-110mg/dl)

- c. Perencanaan dosis

1. Aloksan 200 mg/kgBB intraperitoneal

2. Vitamin C 24 mg/kgBB oral

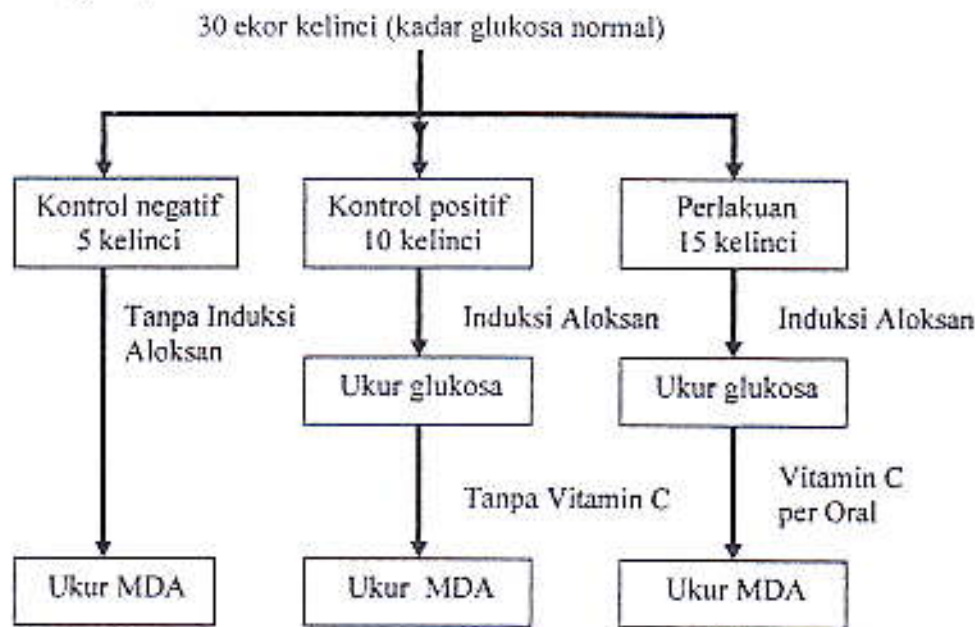
- d. Perlakuan pada hewan coba

30 ekor kelinci yang mempunyai kadar gula darah puasa normal dibagi menjadi tiga kelompok yaitu :

- Kelompok I (Kontrol negatif) kelinci tidak diinduksi aloksan dan tidak diberi Vitamin C hanya diberi makan dan minum.
- Kelompok II (Kontrol positif) kelinci diinduksi aloksan secara intraperitoneal dengan dosis 200 mg/kgBB dan tidak diberi Vitamin C.
- Kelompok III (Perlakuan) kelinci diinduksi aloksan secara intraperitoneal dengan dosis 200 mg/kgBB dan diberi Vitamin C secara oral dengan dosis 24 mg/kgBB.

Khusus untuk Kelompok II dan III beberapa hari (5-6 hari) setelah penginduksian aloksan segera dilakukan pemeriksaan kadar glukosa darah karena pemberian Vitamin C dilakukan jika kadar glukosa kelincinya di atas 200 mg/dl, biasanya keadaan ini tercapai 5-6 hari setelah penginduksian aloksan (Kelompok III). Vitamin C yang diberikan mempunyai dosis 24 mg/kg BB per oral selama 28 hari (Kelompok III). Sedangkan untuk pengukuran kadar MDA darah dilakukan pada hari terakhir penelitian. Penentuan kadar MDA digunakan metode Placer, Cusman, dan Johnson.

Kerangka Operasional Penelitian:



Pemeriksaan Kadar MDA Darah

Pemeriksaan kadar MDA darah menggunakan metode Placer, Cusman, dan Johnson dengan uji *Thio Barbiturat Acid (TBA)* dan pembacaannya dengan menggunakan Spektrofotometer "Spectronic 21" pada panjang gelombang 532 nm atau fluoresen 553 nm.

Cara Kerja:

1. Ambil darah dengan spuit disposable 5 cc dari jantung kelinci kemudian sentrifugasi selama 15 menit (1000 rpm)
2. Serum sampel dipipet 1 cc dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi 10 ml
3. Tambahkan 100 μ l TCA 100 %, lalu divortek.
4. Tambahkan 250 μ L HCl 1 M, lalu divortek dan sentrifugasi selama 15 menit (500 rpm)
5. Ambil supernatannya dan tambahkan Na-Thio 100 μ l, lalu divortek.
6. Kemudian masukkan ke dalam water bath 100 derajat Celcius selama 20 menit.
7. Angkat dan biarkan dingin dalam suhu kamar.
8. Baca dengan spektrofotometer "Spectronic 21"

Pengolahan dan Analisa Data

Data MDA dianalisis secara statistik dengan analisis varian (ANOVA).

HASIL PENELITIAN

Hasil pengukuran kadar MDA pada tikus yang mengalami diabetes mellitus dan kontrol disajikan dalam tabel berikut ini.

Tabel 1. Hasil pengukuran kadar MDA darah kelinci pada kelompok kontrol negatif.

| No.Kelinci | Kadar MDA darah (nmol/ml) |
|----------------|---------------------------|
| 1 | 0,958 |
| 2 | 1,591 |
| 3 | 1,557 |
| 4 | 1,391 |
| Rata-rata | 1,3743 |
| Simpangan baku | 0,2909 |

Tabel 1 menunjukkan bahwa kadar rata-rata MDA darah kelompok kontrol negatif adalah $1,3743 \pm 0,2909$ nmol/ml.

Tabel 2. Hasil pengukuran kadar MDA darah kelinci pada kelompok kontrol positif.

| No.Kelinci | Kadar MDA darah (nmol/ml) |
|----------------|---------------------------|
| 1 | 2,456 |
| 2 | 2,389 |
| 3 | 2,522 |
| 4 | 2,522 |
| Rata-rata | 2,4723 |
| Simpangan baku | 0,6363 |

Tabel 2 menunjukkan bahwa kadar rata-rata MDA darah kelompok kontrol positif adalah $2,4723 \pm 0,6363$ nmol/ml.

Tabel 3. Hasil pengukuran kadar MDA darah kelinci pada kelompok perlakuan vitamin C (24 mg/kgBB) per oral.

| No.Kelinci | Kadar MDA darah (nmol/ml) |
|----------------|---------------------------|
| 1 | 1,724 |
| 2 | 1,557 |
| 3 | 1,291 |
| 4 | 1,591 |
| Rata-rata | 1,5407 |
| Simpangan baku | 0,1814 |

Tabel 3 menunjukkan bahwa kadar rata-rata MDA darah kelompok perlakuan vitamin C (24mg/kgBB) per oral adalah 1,5407±0,1814 nmol/ml.

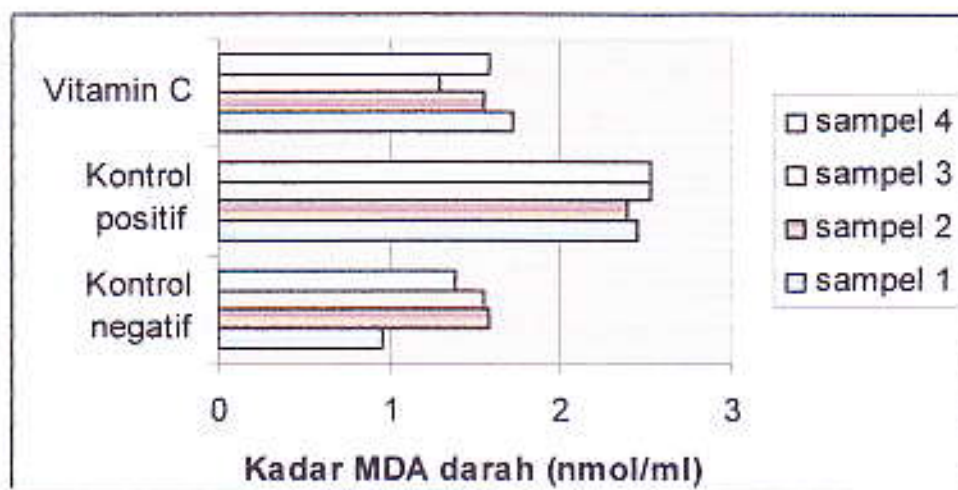
Tabel 4. Tingkat kemaknaan hasil uji Tukey HSD terhadap kadar MDA darah kelinci

| Kelompok | Kelompok | Perbedaan Rata-rata | Standar error | Probabilitas |
|-----------------|-----------------|---------------------|---------------|--------------|
| Kontrol negatif | Kontrol positif | -1.09800* | .142363 | .000 |
| | Vitamin C | -.16650 | .142363 | .499 |
| Kontrol positif | Kontrol negatif | 1.09800* | .142363 | .000 |
| | Vitamin C | .93150* | .142363 | .000 |
| Vitamin C | Kontrol negatif | -.16650 | .142363 | .499 |
| | Kontrol positif | -.93150* | .142363 | .000 |

($\alpha = 99\%$, $p = 0,01$, * Terdapat perbedaan bermakna)

Dari table 4 dapat diketahui bahwa perbedaan kadar rata-rata MDA darah antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok kontrol positif atau sebaliknya adalah 1,09800 dengan $p=0,000$ yang berarti terdapat perbedaan yang bermakna ($p<0,01$), antara kelompok kontrol positif dengan kelompok perlakuan vitamin C (24mg/kgBB) atau sebaliknya adalah 0,93150 dengan $p=0,000$ yang berarti juga terdapat perbedaan yang

bermakna ($p < 0,01$). Sedangkan perbedaan rata-rata antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan vitamin C (24 mg/kgBB) atau sebaliknya adalah $0,16650$ dengan $p = 0,499$ yang berarti tidak terdapat perbedaan yang bermakna ($p > 0,01$) antara kedua kelompok tersebut.



Gambar 1. Grafik kadar MDA darah kelinci

Gambar 5.1 menunjukkan bahwa kadar rata-rata MDA darah tertinggi ditemukan pada kelompok kontrol positif, kemudian diikuti oleh kadar rata-rata MDA darah kelinci kelompok perlakuan vitamin C (24 mg/kgBB) per oral, sedangkan kadar rata-rata MDA darah terendah ditemukan pada kelinci kelompok kontrol negatif.

DISKUSI

Diabetes melitus yang tidak dikontrol dengan baik dapat menyebabkan stres oksidatif, dimana terjadi gangguan keseimbangan antara radikal bebas dengan antioksidan tubuh. Stres oksidatif akan menimbulkan kerusakan oksidatif pada lipid, protein, asam nukleat dan mengarah pada kematian sel (Shiels *et al.*, 1994). Kerusakan oksidatif akan membentuk hasil akhir berupa MDA, 9-Hidroksi Nonenal, peroksida, dan bermacam-macam senyawa hidrokarbon yang toksik terhadap sel (Suryohudoyo, 2000). MDA merupakan salah satu produk final dari lipid peroksida dan parameter yang mudah terdeteksi.

Penelitian yang telah dilakukan terhadap 30 ekor kelinci dan dibagi menjadi tiga kelompok ($n \geq 4$), yaitu kelompok kontrol negatif, kelompok kontrol positif DM akibat

pemberian aloksan, dan kelompok yang menderita DM akibat pemberian aloksan yang diberikan vitamin C (24 mg/kgBB) secara oral selama 28 hari berturut-turut.

Berdasarkan pada tabel 5.1 dan gambar 5.1 tampak bahwa kadar rata-rata MDA darah kelompok kontrol negatif adalah $1,3743 \pm 0,2909$ nmol/ml dan kelompok kontrol negatif merupakan kelompok dengan kadar rata-rata MDA darah terendah. Hal ini menunjukkan kadar MDA normal karena pada kelompok ini kelinci tidak diberikan perlakuan. Radikal bebas yang dihasilkan di dalam tubuh secara fisiologis dapat dikompensasi oleh antioksidan tubuh (antioksidan endogen), misalnya superoksida dismutase (SOD), katalase (CAT), glutathion (GSH), glutathion peroksidase (GPX), dan glutathion reduktase (GR) sehingga kadar MDA darah yang terbentuk lebih rendah dibanding dengan dua kelompok yang lain (Suryohudoyo, 2000; Syahbudin, 2000). Berdasarkan tabel 5.4 kelompok kontrol negatif menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p < 0,01$) dengan kelompok kontrol positif namun tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna dengan kelompok yang menderita DM yang diberi vitamin C secara oral.

Berdasarkan pada tabel 5.2 dan gambar 5.1 tampak bahwa kadar rata-rata MDA darah kelompok kontrol positif adalah $2,4723 \pm 0,6363$ nmol/ml dan kelompok kontrol positif merupakan kelompok dengan kadar rata-rata MDA darah tertinggi. Berdasarkan tabel 5.4 terlihat bahwa kelompok kontrol positif menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p < 0,01$) dengan dua kelompok lainnya. Hal ini sesuai dengan teori bahwa pada DM terjadi peningkatan kadar MDA darah akibat dari kerusakan oksidatif yang disebabkan oleh peningkatan radikal bebas di dalam tubuh (Bartosikova *et al.*, 2003; Kriscahoyo *et al.*, 2003; Jetawattana, 2005). Peningkatan produksi peningkatan radikal bebas di dalam tubuh pada keadaan hiperglikemia melalui tiga jalur yang berbeda, yaitu *nonenzymatic glycation*, autooksidasi glukosa dan aktivasi intraselular *polyol pathway*. Peroksidasi lipid akan berlangsung secara terus menerus karena antioksidan tubuh tidak mampu lagi meredam radikal bebas yang terbentuk pada DM, ditambah tidak adanya pemberian antioksidan dari luar tubuh seperti suplementasi vitamin menyebabkan kelompok kontrol positif memiliki kadar rata-rata MDA darah tertinggi dibanding dengan dua kelompok yang lainnya.

Berdasarkan pada tabel 5.3 tampak bahwa kelompok yang menderita DM yang diberi vitamin C secara oral didapatkan kadar rata-rata MDA darah adalah $1,5407 \pm 0,1814$ nmol/ml. Setelah dilakukan analisis ANOVA (tabel 5.4) didapatkan perbedaan yang bermakna ($p < 0,01$) dengan kelompok kontrol positif namun tidak menunjukkan perbedaan

yang bermakna dengan kelompok kontrol negatif. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian vitamin C (24 mg/kgBB) secara oral pada kelinci DM selama 28 hari dapat menurunkan kadar MDA darah secara signifikan bahkan mendekati kadar MDA darah dalam keadaan fisiologis. Hal ini juga membuktikan bahwa vitamin C merupakan antioksidan yang sangat potensial dalam meredam radikal bebas yang terbentuk sehingga sangat efektif dalam mengurangi peroksidasi lipid dan kerusakan membran sel (Charr *et al*, 1999).

Vitamin C merupakan antioksidan yang luar biasa dan merupakan agen reduksi yang sangat baik karena vitamin C sangat mudah melepaskan elektronnya atau kehilangan elektron. Secara fisiologis hal tersebut berarti vitamin C menyediakan elektron untuk enzim atau untuk elektron lainnya atau zat kimia berupa oksidan, yang berarti vitamin C merupakan pendonor elektron yang sempurna dalam sistem biologis. Vitamin C bersifat hidrofilik dan berfungsi baik dalam lingkungan air. Sebagai zat peredam radikal bebas, vitamin C dapat secara langsung bereaksi dengan superoksida dan anion hidroksil serta berbagai hidro peroksida lipid yang mencetus reaksi peroksida lipid dengan hasil akhir berupa senyawa toksik yang disebut MDA (Iis I, 2004). Oleh karena vitamin C dapat mengurangi peroksidasi lipid, maka MDA yang terbentuk sangat rendah bahkan hampir mendekati normal dimana kadarnya tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna dengan kadar MDA darah kelompok kontrol negatif.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian yang dikemukakan sebelumnya dapat disimpulkan bahwa suplementasi vitamin C berpengaruh terhadap kadar MDA darah kelinci diabetes melitus.

KEPUSTAKAAN

- Askandar Tjokroprawiro, 1998. Hidup Sehat dan Bahagia bersama Diabetes. Edisi 2. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.
- Bartosikova L *et al*, 2003. Monitoring of Antioxidative Effect of Morine in Alloxan-Induced Diabetes Mellitus in the Laboratory Rat. Acta Vet. Brno, 72:191-200.
- Carr AC, Frei B, 1999. Toward a new recommended dietary allowance for vitamin C based on antioxidant and health effects in humans. American Journal of Clinical Nutrition, Vol.

- Iis Inayati, 2004. Pengaruh Ekstrak Etanol Buah Mahkota Dewa [*Phaleria macrocarpa* (Scheff.)toerl.] terhadap Kadar Malondialdehid Tikus Diabetes Melitus yang Diinduksi Aloksan. *Medika Kartika Majalah Ilmiah Kedokteran Fakultas Kedokteran Ahmad Yani*, Vol 2, No 2.
- King H, Rewers M, 1991. Diabetes in Adults is now a third world Problem. *Bulletin WHO* 69(6): 643-648.
- Kriscahoyo, Makmun, Setiati, Dharmeizar, Jusman, 2003. The Influence of Calorie Restriction during Fasting of the Month of Ramadhan on Free Radicals and Antioxidants Expressed in the Form of Malondialdehyde and Gluthation in Healthy Young Males. *Acta Medica Indonesiana*, Volume XXXV, Number 4.
- Marita Kaniawati, 1996. Pemeriksaan Status Antioksidan Total. *Forum Diagnostikum* 02.
- Mayes, Peter A, 1999. Struktur & Fungsi Vitamin Larut Air. Dalam (Murray K, *et al.*, ed) *Biokimia Harper*, Edisi 24. Jakarta: EGC.
- Mayes, Peter A, 1999. Lintasan Pentosa Fosfat dan Lintasan Lainnya Dalam Metabolisme Heksosa. Dalam (Murray K, *et al.*, ed) *Biokimia Harper*, Edisi 24. Jakarta: EGC.
- Moningkey SI, 2000. Epidemiologi Diabetes Melitus dan Pengendaliannya. *Jurnal Kedokteran Farmasi Medika* no.3 Tahun XXVI: 187-190.
- National Diabetes Fund, 2004. Prevention and Treatment of Diabetes with Natural Therapeutics. Fourth Edition - Published as a public service. Washington, D.C.: National Diabetes Fund.
- Nyyssonen, *et al.*, 1997. Vitamin C deficiency and Risk of Myocardial Infarction. *Finlandia : Research Institute of Public Health, University of Kuopio*. Diakses dari www.bmj.com.
- Sarwono Waspadji, 1999. *Komplikasi Kronik Diabetes Melitus, Pengenalan dan Penanganan*. Buku Ajar IPD jilid 1 FKUI. Jakarta.
- Srinivasan A et al., 2003 Protection of Pancreatic B-Cell by the Potential Antioxidant bis-o-hydroxycinnamamoyl methane, Analogue of Natural Curcuminoid in Experimental Diabetes, *J Pharm Pharmaceut Sci* (www.uaiberia.ca/~csns) 6 (3): 327-333.
- Syafril Syahbudin, 2000. Peran Radikal Bebas dan Antioksidan pada Proses Penuaan pada Diabetes Melitus. Naskah Lengkap Simposium Pengaruh Radikal Bebas Terhadap Penuaan Dalam Rangka Lustrum IX FKUA 7 September 1955-2000, hlm 36-43.

WHO Technical Report Series, 1994. Prevention of Diabetes Mellitus.

Younson R, 2005. Antioksidan Manfaat Vitamin C dan E Bagi Kesehatan. Ed 1, Jakarta:
Penerbit Arcan, hal. 1-95.