

HOMA-IR INDEX EVALUATION ON ANTIDIABETES MELLITUS EFFECT OF *Andrographis paniculata* (Burm. f.) Nees PURIFIED EXTRACT AND ANDROGRAPHOLIDE

EVALUASI EFEK ANTI-DIABETES MELITUS EKSTRAK TERPURIFIKASI *Andrographis paniculata* (Burm. f.) Nees DAN ANDROGRAFOLID DENGAN PARAMETER INDEKS HOMA-IR

Ignatius Ryan Adriawan¹, Mohamad Andrie², Rina Susilowati³, Suwidjiyo Pramono⁴ and Agung Endro Nugroho^{4*})

¹Faculty of Medicine Universitas Gadjah Mada,

²Department of Pharmacy Faculty of Medicine Tanjungpura University,

³Department of Histology and Cellular Biology Faculty of Medicine Universitas Gadjah Mada,

⁴Faculty of Pharmacy Universitas Gadjah Mada

ABSTRACT

Diabetes mellitus type 2 was induced by high fat diet and fructose. The insulin resistance and hyperinsulinemia compensatory can be measured by index homeostatic model assessment – insulin resistance (HOMA-IR). Andrographis paniculata (Burm. f.) Nees is a traditional plant can be used to treat diabetes mellitus and the main active compound of this plant is Andrographolide. The objective of this study is to evaluate the effect of purified extract of Andrographis paniculata (Burm. f.) Nees and andrographolide on HOMA-IR index of High fat diet and fructose induced Wistar Rats. This study is quasi-experimental and data analysis was using Kruskal-Wallis test. The result showed that purified extract of Andrographis paniculata and andrographolide decreased HOMA-IR index. Purified extract of Andrographis paniculata 1303,8 mg/kg decreased HOMA-IR index by 82,05 %.

Key words: purified extract of Andrographis paniculata, Andrographolide, HOMA-IR index, High fat and fructose diet

ABSTRAK

Diabetes mellitus (DM) tipe 2 dipicu oleh diet tinggi lemak dan fruktosa (DTLF) dan diawali dengan resistensi insulin dan hiperinsulinemia kompensatori, yang dapat dilihat dari indeks homeostatic model assessment – insulin resistance (HOMA-IR). Salah satu tanaman tradisional yang dapat digunakan untuk mengatasi DM adalah Andrographis paniculata (Burm. f.) Nees, dengan senyawa aktif utama andrografolid. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek ekstrak terpurifikasi A. paniculata dan andrografolid pada indeks HOMA-IR tikus Wistar dengan DTLF. Penelitian bersifat kuasi-eksperimental dan analisis data menggunakan uji Kruskal-Wallis. Hasil menunjukkan bahwa ekstrak terpurifikasi A. paniculata dan andrografolid dapat menurunkan indeks HOMA-IR, dan penurunan terbesar (82,05%) dihasilkan oleh ekstrak terpurifikasi A. paniculata dengan dosis 1303,8 mg/kgBB.

Kata kunci: ekstrak terpurifikasi, Andrographis paniculata, andrografolid, indeks HOMA-IR, diet tinggi lemak dan fruktosa

PENDAHULUAN

Diabetes mellitus (DM) diderita oleh 382 juta penduduk di seluruh dunia (IDF, 2013). DM diawali dengan resistensi insulin (hilangnya sensitivitas jaringan yang secara normal sensitif terhadap insulin) disertai dengan hiperinsulinemia kompensatori (peningkatan

kadar insulin yang disekresikan sel beta pankreas sebagai kompensasi terhadap resistensi insulin) (DeFronzo, 2004).

Resistensi insulin disebabkan oleh asupan diet tinggi lemak dan fruktosa (DTLF) (Bremer, 2012). Lemak dan fruktosa di dalam tubuh akan dimetabolisir dan menghasilkan banyak senyawa antara, misalnya diasilgliserol, *fatty acyl CoA* dan seramid. Ketiga senyawa antara tersebut akan mengaktifkan protein kinase C θ (PKC θ). PKC θ

Corresponding author: Agung Endro Nugroho
E-mail: agungendronugroho@gmail.com

akan memfosforilasi *insulin receptor substrate* (IRS) pada asam amino serin, sehingga IRS tidak dapat menempel PI-3 kinase (PI3K). PI3K berperan dalam translokasi GLUT-4 dari cadangan intraseluler ke membran plasma, sehingga jika PI3K tidak aktif maka GLUT-4 tidak dapat dipindahkan ke membran plasma. Transpor glukosa dari darah ke jaringan akan terganggu. Keseluruhan proses tadi menggambarkan patogenesis resistensi insulin (Shulman, 2000).

Seiring berkembangnya zaman, terdapat peningkatan minat masyarakat pada pengobatan tradisional. Obat tradisional yang telah turun temurun digunakan sebagai antidiabetes di Asia adalah *Andrographis paniculata* (Burm. f.) Nees, atau dikenal dalam Bahasa Jawa sebagai sambiloto (Jayakumar, 2013; Widyawati, 2007). Senyawa aktif utama *A. paniculata* adalah andrografolid. Telah banyak penelitian dilakukan untuk menguji efek pemberian ekstrak *A. paniculata* dan/atau andrografolid dalam mengurangi kadar glukosa darah (Jayakumar, 2013).

Walaupun patogenesis DM tipe 2 erat hubungannya dengan DTLF, belum banyak penelitian terkait *A. paniculata* yang menggunakan DTLF dalam menginduksi DM tipe 2. Kebanyakan penelitian menggunakan streptozotocin (STZ), nikotinamid (NA) atau aloksan untuk menginduksi DM (Zhang dan Tan, 2000; Subramanian et al., 2008; Zhang et al., 2009), padahal ketiga senyawa tersebut menginduksi DM dengan merusak sel beta pankreas sehingga lebih cocok untuk membuat model DM tipe 2 pada tahap lanjut.

Penelitian pendahuluan oleh Nugroho et al. (2012) telah menggunakan DTLF untuk menginduksi resistensi insulin. Penelitian tersebut menggunakan beberapa indikator untuk melihat resistensi insulin, yaitu kadar glukosa pre- dan postprandial, kadar kolesterol total, kadar kolesterol LDL, dan kadar trigliserida. Indikator resistensi insulin lain adalah HOMA-IR (*homeostatic model assessment - insulin resistance*), yang didapat dengan mengalikan kadar glukosa puasa dan kadar insulin puasa, lalu dibagi dengan konstanta. HOMA-IR dapat menjadi indikator tunggal resistensi insulin.

METODOLOGI

Bahan

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Wistar, herba *A. paniculata*, andrografolid 98% (Sigma Chemical), etanol 90%, n-heksana, akuades, kloroform, metanol, etil-asetat, fruktosa (Nacalai), Na-CMC (Merck), reagen GOD-PAP (DiaSys), ELISA kit, pelet (*standard chow diet*), lemak babi, kuning telur bebek.

Pembuatan Model Resistensi Insulin

Tikus putih galur Wistar dibagi menjadi 2 kelompok, yaitu kelompok tikus diet normal (DN) dan diet tinggi lemak dan fruktosa (DTLF). Pemberian DN maupun DTLF dilakukan selama 55 hari. DTLF dibuat dengan komposisi pelet 80%, lemak babi 15% dan kuning telur bebek 5%. Semua bahan dicampur hingga homogen, lalu ditimbang dan diberikan pada hewan uji setiap hari. Berat pakan disesuaikan dengan asupan rata-rata per hari. Fruktosa diberikan 1 kali sehari dengan dosis 180 mg tiap 100 g berat badan tikus.

Pembuatan Ekstrak Terpurifikasi *A. paniculata*

Herba *A. paniculata* didapat dari Desa Girimulyo, Kecamatan Nanggulan, Kabupaten Kulonprogo, Provinsi Daerah Istimewa Yogyakarta. Herba dideterminasi di Laboratorium Farmakognosi, Bagian Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi UGM. Herba dikeringkan lalu dimasukkan ke dalam oven 60°C. Proses ini dihentikan ketika kadar air <10%. Herba dihaluskan dengan blender kering hingga diperoleh serbuk, lalu diayak dengan ayakan *mesh* 20.

Serbuk sebanyak 2 kg ditambah dengan etanol 90% sebanyak 14 L, diaduk, lalu didiamkan dalam wadah kaca tertutup yang terlindung dari cahaya matahari selama 24 jam. Campuran disaring dengan flanel dan diperoleh maserat pertama. Residu diremaserasi dengan etanol 90% sebanyak 4 L selama 24 jam, dan diperoleh maserat kedua. Maserat pertama dan kedua digabung dan diendapkan 2 hari, lalu disimpan untuk dipekatkan. Pemekatan dilakukan dengan memindah maserat pada cawan porselin di atas penangas air sehingga didapat ekstrak kental.

Tiap 50 g ekstrak kental ditambah dengan 50 mL n-heksana lalu divorteks selama 5 menit. Pelarut akan berubah warna menjadi hijau. Prosedur diulang hingga warna hijau hilang. Fraksi tak larut n-heksana dipurifikasi dengan penambahan etil-asetat sebanyak 10 kali berat residu. Campuran divorteks 5 menit dan pelarut akan berubah menjadi coklat. Prosedur diulang hingga warna coklat hilang.

Fraksi tak larut etil-asetat dipurifikasi dengan penambahan air panas sebanyak 10 kali berat residu. Fraksi tak larut air panas diuapkan hingga kering dan dilarutkan dengan etanol 90% secukupnya.

Pemberian Ekstrak Terpurifikasi *A. paniculata* dan Andrografolid pada Hewan Coba

Tikus dibagi menjadi 7 kelompok, yaitu kelompok DN, DTLF, DTLF-Met, DTLF-E1, DTLF-E2, DTLF-A1, dan DTLF-A2. Pada hari ke-50

hingga hari ke-55, diberikan perlakuan sesuai pembagian kelompok. Pada kelompok DTLF, diberikan *saline* 10 mL/kgBB per oral. Pada kelompok DTLF-Met, diberikan metformin 45 mg/kgBB 2 kali sehari. Pada kelompok DTLF-E1 dan DTLF-E2 diberikan ekstrak terpurifikasi *A. paniculata* 434,6 mg/kgBB dan 1303,8 mg/kgBB 2 kali sehari. Pada kelompok DTLF-A1 dan DTLF-A2 diberikan andrografolid 1,5 mg/kgBB dan 4,5 mg/kgBB 2 kali sehari. Tikus dipuasakan 8-10 jam sebelum diambil darahnya dari plexus retro-orbitalis sebanyak 2 mL. Darah diproses sehingga didapatkan serum.

Pengukuran Kadar Glukosa Puasa

Kadar glukosa puasa ditentukan dengan metode *glucose oxidase phenol aminophenazone* (GOD-PAP). Serum sebanyak 10 µL ditambah dengan reagen GOD-PAP sebanyak 1000 µL, kemudian divorteks. Larutan diinkubasi pada suhu kamar selama 20 menit, diukur dengan spektrofotometer microlab 300 dan dicatat absorbansinya. Kadar glukosa (dalam satuan mg/dL) didapat dengan memasukkan nilai absorbansi ke dalam rumus.

Pengukuran Kadar Insulin Puasa

Kadar insulin puasa ditentukan dengan metode *enzyme linked immunosorbent assay* (ELISA). Serum dan kalibrator sebanyak masing-masing 10 µL dimasukkan ke dalam sumuran. *Enzyme conjugate buffer* 1x sebanyak 100 µL ditambahkan ke tiap-tiap sumuran. Larutan dalam sumuran dibuang dengan membalikkan *microplate*, lalu ditambah 350 µL larutan pencuci ke tiap-tiap sumuran. Larutan pencuci dibuang dan *microplate* diletakkan ke kertas tissue beberapa kali. Pencucian dilakukan 5 kali. Selanjutnya, ditambahkan 200 µL substrat TMB ke tiap sumuran dan diinkubasi 15 menit pada suhu ruang. *Stop solution* 50 µL ditambahkan ke tiap sumuran, di-*shake* selama 5 detik dan dibaca absorbansinya pada panjang gelombang 450nm. Absorbansi diolah dengan regresi linier dan didapatkan kadar insulin dalam satuan ng/mL.

Analisis Hasil

Hasil yang didapat diolah dengan IBM SPSS Statistics 21. Distribusi data ditentukan normal tidaknya dengan uji Kolmogorov-Smirnov dan Shapiro-Wilk. Jika data terdistribusi secara normal, digunakan uji One Way ANOVA. Jika data tidak terdistribusi secara normal, digunakan uji Kruskal-Wallis.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Indeks HOMA-IR dihitung menggunakan rumus: kadar glukosa puasa (mg/dL) x kadar insulin puasa (ng/mL) / 405. Konstanta yang dipakai sebagai penyebut didapatkan dari artikel oleh Hirata et al. (2009).

Uji normalitas data dengan uji Shapiro-Wilk dan Kolmogorov-Smirnov menunjukkan bahwa distribusi data kadar glukosa dan insulin puasa serta indeks HOMA-IR tidak normal. Uji statistik yang dipilih untuk mengetahui perbedaan antar kelompok adalah Kruskal-Wallis.

Tabel I. rerata kadar insulin dan kadar glukosa

Kelompok	n	Kadar insulin ng/mL ±SD	Kadar Glukosa (ng/dL ±SD)
DN	5	0,31±0,06	65,60±3,21
DTLF	6	1,36±0,09	114,33±7,53
DTLF-Met	6	1,33±0,02	74,33±7,82
DTLF-E1	5	0,40±0,02	78,00±14,34
DTLF-E2	5	0,40±0,04	73,40±11,55
DTLF-A1	5	0,44±0,03	77,20±8,26
DTLF-A2	6	0,57±0,10	78,00±8,85

Keterangan:

DN: Diet normal; DTLF: Diet tinggi lemak dan fruktosa; DTLF-Met: Diet tinggi lemak dan fruktosa, metformin; DTLF-E1: Diet tinggi lemak dan fruktosa, E1; DTLF-E2: Diet tinggi lemak dan fruktosa, E2; DTLF-A1: Diet tinggi lemak dan fruktosa, A1; DTLF-A2: Diet tinggi lemak dan fruktosa, A2.

Pada tabel I dapat dilihat bahwa diet tinggi lemak dan fruktosa (kelompok DTLF) menyebabkan rerata kadar insulin serum (1,36 ng/mL) lebih tinggi 4 kali lipat dibandingkan rerata kadar insulin serum kelompok DN (0,31 ng/mL). Rerata kadar glukosa darah puasa kelompok DTLF (114,33 mg/dL) lebih tinggi 2 kali lipat dari rerata kadar glukosa darah puasa kelompok DN (65,60 mg/dL). Tabel II, rerata indeks HOMA-IR kelompok DTLF (0,39) lebih tinggi 8 kali lipat dibandingkan rerata indeks HOMA-IR pada kelompok DN (0,05).

Tabel II. Hasil perhitungan indeks HOMA-IR

Kelompok	HOMA-IR ±SD
DN	0,05±0,01
DTLF	0,39±0,04
DTLF-Met	0,06±0,01
DTLF-E1	0,08±0,01
DTLF-E2	0,07±0,01
DTLF-A1	0,08±0,01
DTLF-A2	0,11±0,02

Keterangan:

DN: Diet normal; DTLF: Diet tinggi lemak dan fruktosa; DTLF-Met: Diet tinggi lemak dan fruktosa, metformin; DTLF-E1: Diet tinggi lemak dan fruktosa, E1; DTLF-E2: Diet tinggi lemak dan fruktosa, E2; DTLF-A1: Diet tinggi lemak dan fruktosa, A1; DTLF-A2: Diet tinggi lemak dan fruktosa, A2.

Pemberian perlakuan (ekstrak dan andrografolid) dapat menurunkan rerata kadar insulin serum. Pemberian ekstrak memberikan hasil pengukuran yang lebih mendekati kadar insulin pada kelompok DN, yaitu 0,40 ng/mL. Namun, rerata kadar insulin ini masih lebih tinggi daripada rerata kadar insulin yang didapatkan pada kelompok DTLF-Met (0,33). Rerata kadar insulin serum pada kelompok yang diberi andrografolid (0,44 dan 0,57) juga mendekati kadar pada kelompok DN namun lebih tinggi dibandingkan kelompok yang diberi ekstrak ($p < 0,05$). Tidak terdapat hubungan antara dosis dengan respons pada kelompok-kelompok perlakuan (ekstrak maupun andrografolid).

Pemberian ekstrak dengan dosis lebih tinggi (kelompok DTLF-E2), menyebabkan rerata kadar glukosa darah puasa 73,40 mg/dL, lebih rendah dibandingkan dengan rerata kadar glukosa darah puasa kelompok DTLF-E1 (78,00 mg/dL, $p > 0,05$). Rerata glukosa darah pada kelompok DTLF-E2 bahkan sedikit lebih rendah daripada rerata glukosa darah pada kelompok DTLF-Met (74,33 mg/dL, $p > 0,05$). Hubungan antara dosis dan respons terdapat pada kelompok ekstrak dan tidak terdapat pada kelompok andrografolid.

Hasil terbaik untuk kelompok-kelompok perlakuan didapatkan pada kelompok DTLF-E2, dengan rerata indeks HOMA-IR 0,07 (82,05% lebih rendah daripada rerata nilai HOMA-IR pada kelompok DTLF). Indeks HOMA-IR pada kelompok DTLF-E2 belum dapat menyetarai indeks pada kelompok DN dan DTLF-Met. Seperti hasil yang didapat pada insulin dan glukosa, dapat dikatakan penurunan indeks HOMA-IR pada kelompok-kelompok ekstrak sedikit lebih baik daripada kelompok-kelompok andrografolid ($p > 0,05$).

Penelitian ini membuktikan adanya hiperinsulinemia kompensatori. Hiperinsulinemia kompensatori dapat diperbaiki oleh pemberian ekstrak terpurifikasi *A. paniculata* maupun andrografolid. Ekstrak terpurifikasi *A. paniculata*, baik dosis 434,6 maupun 1303,8 mg/kgBB, membawa penurunan kadar insulin sebesar 70,59% dibandingkan kelompok DTLF. Penurunan ini belum dapat menyetarai metformin dan kelompok DN. Hal ini dapat disebabkan oleh beberapa hal, misalnya waktu pemberian perlakuan yang terlalu pendek (5 hari).

Dalam pembuatan ekstrak terpurifikasi *A. paniculata* terdapat kemungkinan adanya kekurangan yang bisa mengurangi potensi ekstrak terpurifikasi *A. paniculata*, misalnya pada saat purifikasi dengan etil-asetat. Langkah ini bertujuan mengurangi pengotor (berdasar profil kromatografi lapis tipis) tetapi juga menyebabkan sebagian andrografolid terlarut dalam fraksi etil-asetat. Jumlah andrografolid yang terlarut ini tidak diketahui dan membutuhkan penelitian lebih lanjut (Andrie, 2012).

Berbeda dengan kadar insulin, rerata kadar glukosa puasa yang disebabkan oleh pemberian ekstrak terpurifikasi *A. paniculata* justru memiliki hasil sedikit lebih baik daripada pemberian metformin, walaupun secara statistik tidak bermakna ($p > 0,05$). Hasil terbaik didapatkan pada ekstrak dengan dosis 1303,8 mg/kgBB, dengan kadar glukosa sebesar 73,40 mg/dL atau 35,80% lebih rendah daripada kelompok DTLF. Kadar glukosa puasa dikendalikan oleh produksi glukosa hepar, yaitu melalui proses glukoneogenesis dan glikogenolisis. Berdasarkan teori tersebut, hasil penelitian ini dapat dikaitkan dengan temuan Zhang dan Tan (2000), bahwa pemberian ekstrak *A. paniculata* menurunkan aktivitas glukosa-6-fosfatase dan meningkatkan cadangan glikogen pada hepar. Selain itu, terdapat peningkatan glukokinase, heksokinase dan laktat dehidrogenase pada pemberian ekstrak etanol *A. paniculata* dan andrografolid (Subramanian et al., 2008). Heksokinase dan glukokinase berperan dalam perubahan glukosa menjadi glukosa-6-fosfat, yang menjaga kadar glukosa intraseluler tetap rendah sehingga ambilan glukosa darah tetap berjalan.

Peningkatan sensitivitas terhadap insulin, yang dibuktikan dengan penurunan indeks HOMA-IR, mengkonfirmasi mekanisme efek antihiperglisemik *A. paniculata* sebagai *insulin sensitiser*. Penelitian pendahuluan oleh Nugroho et al. (2012) mengungkapkan bahwa ekspresi GLUT-4 pada otot soleus tikus mengalami peningkatan dengan pemberian *A. paniculata*. Seperti telah kita ketahui, peningkatan ekspresi GLUT-4 pada sel otot skelet menyebabkan ambilan glukosa dari darah ke dalam sel meningkat, sehingga kadar glukosa darah menurun.

Selain meningkatkan sensitivitas insulin, *A. paniculata* diketahui bekerja pada pankreas. Penelitian oleh Wibudi et al. (2006) secara *in vitro* dengan menggunakan sel lestari penghasil insulin BRIN-BD11 mengungkapkan bahwa *A. paniculata* berperan sebagai pemicu sekresi insulin. Kandungan zat yang ada pada *A. paniculata* menghambat kanal kalium sehingga kalium tertumpuk di dalam sel dan terjadilah

depolarisasi. Depolarisasi membran plasma akan memicu pelepasan insulin oleh sel beta pankreas.

A. paniculata juga memiliki potensi untuk bekerja pada traktus gastrointestinal, yaitu dengan menghambat enzim alfa-glukosidase dan alfa-amilase yang berada pada *brush border* usus. Dengan menghambat enzim-enzim ini, yang berfungsi memecah karbohidrat kompleks, maka peningkatan kadar glukosa postprandial dapat ditahan. Potensi *A. paniculata* dalam menghambat enzim alfa-glukosidase dan alfa-amilase telah dibuktikan oleh Subramanian et al. secara *in vitro* (2008).

Ekstrak suatu tanaman dapat memiliki efek yang lebih baik daripada senyawa aktif tunggal. Hal tersebut terbukti pada penelitian ini, di mana rerata kadar insulin dan glukosa puasa serta indeks HOMA-IR pada kelompok ekstrak terpurifikasi *A. paniculata* lebih rendah daripada kelompok andrografolid. Hal ini diamati pula pada penelitian lain, baik dengan *A. paniculata* (Subramanian et al., 2008) maupun tanaman lain (Rasoanaivo et al., 2011).

KESIMPULAN

Ekstrak terpurifikasi *A. paniculata* dan andrografolid dapat menurunkan tingkat resistensi insulin pada tikus dengan DTLF, dilihat dari indeks HOMA-IR. Ekstrak terpurifikasi *A. paniculata* dengan dosis 1303,8 mg/kgBB merupakan bahan uji dan dosis terbaik untuk menurunkan indeks HOMA-IR pada tikus dengan DTLF, dengan penurunan sebesar 82,05% dibanding kelompok DTLF.

DAFTAR PUSTAKA

- Andrie, M. 2012. *Uji Aktivitas Antidiabetes Mellitus (DM) Tipe 2 Andrografolid dan Ekstrak Terpurifikasi Herba Sambiloto (Andrographis paniculata (Burm. f.) Nees.) Melalui Peningkatan Translokasi Protein GLUT-4 pada Otot Paha Tikus Resisten Insulin*. Tesis. Universitas Gadjah Mada.
- Bremer, A. A., Mietus-Snyder, M., Lustig, R. H. 2012. Toward a Unifying Hypothesis of Metabolic Syndrome. *Pediatrics* 129(3):557-570.
- DeFronzo, R. A. 2004. Pathogenesis of Type 2 Diabetes Mellitus. *Med Clin N Am* 88:787-835.
- Hirata, A., Maeda, N., Hiuge, A., Hibuse, T., Fujita, K., Okada, T., Kihara, S., Funahashi, T., Shimomura, I. 2009. Blockade of Mineralocorticoid Receptor Reverses Adipocyte Dysfunction and Insulin Resistance in Obese Mice. *Cardiovascular Research* 84:164-172.
- International Diabetes Federation. 2013. *Diabetes Atlas*, edisi ke-6. Brussels: International Diabetes Federation.
- Jayakumar, T., Hsieh, C. Y., Lee, J. J., Sheu, J. R. 2013. Experimental and Clinical Pharmacology of *Andrographis paniculata* and Its Major Bioactive Phytoconstituent Andrographolide. *Evid Based Complement Alternat Med* 2013:846740.
- Nugroho, A. E., Andrie, M., Warditiani, N. K., Siswanto, E., Pramono, S., Lukitaningsih, E. 2012. Antidiabetic and Antihyperlipidemic Effect of *Andrographis paniculata* (Burm. f.) Nees and Andrographolide in High-Fructose-Fat-Fed Rats. *Indian J Pharmacol* 44(3):377-381.
- Rasoanaivo, P., Wright, C. W., Willcox, M. L., Gilbert, B. 2011. Whole Plant Extracts versus Single Compounds for the Treatment of Malaria: Synergy and Positive Interactions. *Malaria Journal* 10(Suppl 1):S4.
- Shulman, G. I. 2000. Cellular Mechanism of Insulin Resistance. *J Clin Invest* 106:171-76.
- Subramanian, R., Asmawi, M. Z., Sadikun, A. 2008. Effect of Andrographolide and Ethanol Extract of *Andrographis paniculata* on Liver Glycolytic, Gluconeogenic, and Lipogenic Enzymes in a Type 2 Diabetic Rat Model. *Pharmaceutical Biology* 46(10-11):772-780.
- Subramanian, R., Asmawi, M. Z., Sadikun, A. 2008. Effect of Ethanolic Extract of *Andrographis paniculata* (Burm. f.) Nees on a Combination of Fat-Fed Diet and Low Dose Streptozotocin Induced Chronic Insulin Resistance in Rats. *Diabetologia Croatica* 37-1.
- Wibudi, A. 2006. *Mekanisme Kerja Sambiloto sebagai Antidiabetes*. Disertasi. Institut Pertanian Bogor.
- Widyawati, T. 2007. Aspek Farmakologi Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees). *Majalah Kedokteran Nusantara* 40(3):216-222.
- Zhang X. F., Tan, B. K. H. 2000. Anti-diabetic Property of Ethanolic Extract of *Andrographis paniculata* in Streptozotocin-Diabetic Rats. *Acta Pharmacol Sin* 21(12):1157-1164.
- Zhang, Z., Jiang, J., Yu, P., Zeng, X., Larrick, J. W., Wang, Y. 2009. Hypoglycemic and Beta Cell Protective Effects of Andrographolide Analogue for Diabetes Treatment. *Journal of Translational Medicine* 7:62.