

Current Biochemistry
Volume 3 (2): 66 - 79, 2016

CURRENT BIOCHEMISTRY
ISSN: 2355-7877
Homepage: <http://biokimia.ipb.ac.id>
E-mail: current.biochemistry@gmail.com

Antihyperglycemic Activity of *Curcuma xanthorrhiza* Roxb. Nanocurcuminoid Emulsion on Streptozotocin Induced *Sprague-Dawley* Rat
(Aktivitas Antihiperqlikemia Sediaan Emulsi Nanokurkuminoid Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* RoxB) pada Tikus *Sprague Dawley* yang Diinduksi Streptozotosin)
Irma Rahmayani¹, Laksmi Ambarsari^{1*}, Mega Safithri¹

¹*Department of Biochemistry, Bogor Agricultural University, Bogor, 16680, Indonesia*

Received : 27 July 2015; Accepted: 25 November 2015

Corresponding author: Dr. Laksmi Ambarsari, M.S; Departemen Biokimia, Jl. Agatis Gd. Fapet Lt. 5, Wing 5, Bogor 16680; Telp/Fax. +62251-8423267; Email: ami_icha@yahoo.com

ABSTRACT

Curcuminoid, a natural compound isolated from Curcuma xanthorrhiza RoxB (Temulawak) has been reported to possess antioxidant, anti-inflammatory, anticancer, antimicrobial and anti-hyperglycemic properties. The curcuminoid is weakly soluble in water that restricts its bioavailability. This problem could be overcome by incorporating curcuminoid into solid lipid nanoparticles (SLN). Nanocurcuminoid was prepared by using homogenization-ultra sonication methods. Nanocurcuminoid obtained in this study was 523.5 nm in size and polydispersity index of 0.218 with entrapment efficiency of 24.2 %. Rats were made diabetic by induction of 50 mg / kg BW STZ, treated with the chosen formula (doses 5, 10, 20 mg/kg BW) orally for 15 days. Body weight and blood glucose levels were measured from day 0, 4th, 7th, 11th and 15th. The results showed that 15 days of daily treatment of 10 mg/kg BW nanocurcuminoid emulsion led to a reduction of blood glucose level by 30.93±14.90 % and body weight by 15.5±13.92 %. Curcuminoid formulated in solid lipid nanoparticles could suppress a decrease in body weight and lower blood glucose levels of rats.

Keywords: *anti-hyperglycemic, Curcuma xanthorrhiza, nanocurcuminoid, streptozotocin, rats*

ABSTRAK

Kurkuminoid, adalah senyawa alami yang diisolasi dari Curcuma xanthorrhiza RoxB (Temulawak) telah dilaporkan memiliki khasiat sebagai antioksidan, antiinflamasi, antikanker, antimikroba, dan antihyperqlikemia. Kurkuminoid memiliki kelarutan yang rendah di dalam air sehingga menghambat bioavailibilitasnya. Masalah ini dapat diatasi dengan menggabungkan kurkuminoid ke dalam nanopartikel lemak padat (SLN). Nanokurkuminoid diproduksi menggunakan metode ho-

mogenisasi - ultra sonikasi. Nanokurkuminoid yang dihasilkan dalam penelitian ini memiliki ukuran partikel 523.5 nm, dan indeks polidispersitas 0.218 dengan efisiensi penyerapan 24.2 %. Tikus dibuat diabetes dengan menginduksi 50 mg/kg BB STZ, diberi perlakuan dengan formula terpilih (dosis 5,10,20 mg/kg BB) secara oral selama 15 hari. Bobot badan dan kadar glukosa darah diukur pada hari ke-0, 4, 7, 11 dan 15. Hasil penelitian menunjukkan bahwa selama 15 hari pemberian 10 mg/kg BB emulsi nanokurkuminoid dapat mengurangi kadar glukosa darah sebesar 30.93 ± 14.90 % dan bobot badan sebesar 15.5 ± 13.92 %. Kurkuminoid yang diformulasi ke dalam nanopartikel lemak padat mampu menekan penurunan bobot badan dan menurunkan kadar glukosa darah tikus.

Kata kunci: antihiperqlikemia, *Curcuma xanthorrhiza roxb*, nanokurkuminoid, streptozotosin, tikus

1. PENDAHULUAN

Diabetes melitus adalah penyakit akibat gangguan metabolisme tubuh yang ditandai dengan tingginya kadar glukosa darah (hiperglikemia). Diabetes telah menjadi masalah kesehatan global yang mempengaruhi jutaan orang diseluruh dunia. Hal ini menjadi salah satu penyebab utama cacat dan kematian (Singh 2011). Data terbaru dari *International Diabetes Federation* (IDF) pada tahun 2013 menunjukkan bahwa 8.3 % orang dewasa dari 382 juta orang di seluruh dunia menderita diabetes, dan jumlah ini akan meningkat melampaui 592 juta dalam waktu kurang dari 25 tahun (IDF 2013).

Berbagai upaya untuk mengatasi penyakit ini telah dilakukan, diantaranya dengan pengaturan pola makan, olah raga teratur (Mal-kawi 2012), penggunaan obat antidiabetes oral, serta suntikan insulin (Levich 2011). Pemberian insulin secara intensif membutuhkan biaya yang relatif mahal. Penggunaan obat sintesis seperti golongan sulfonil dan biguanida juga tidak dapat menurunkan konsentrasi glukosa menjadi normal dan mengembalikan pola normal homeostatis glukosa secara permanen. Selain itu obat-obat tersebut juga memiliki kelemahan yaitu adanya efek samping pada lambung (Hus-

sain 2002)), sehingga perlu dicari alternatif lain yang secara alami mampu mengatasi masalah tersebut.

Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb) telah digunakan sebagai tanaman obat tradisional di beberapa negara tropis seperti Indonesia dan Malaysia (Kim *et al.* 2014). Komponen utama temulawak yang berkhasiat sebagai obat salah satunya adalah kurkuminoid. Beberapa aktivitas kurkuminoid diantaranya adalah antiinflamasi, antioksidan, antikanker (Basnet dan Natasa 2011), antibakteri (Mangunwardoyo *et al.* 2012), antidiabetes (Zhang *et al.* 2013). Berbagai penelitian telah dilakukan untuk membuktikan keamanan dan kemanjuran kurkuminoid pada dosis yang sangat tinggi, namun bioavailabilitas kurkuminoid diketahui sangat rendah seperti, metabolisme yang cepat, absorpsi yang rendah dan pengeluaran sistemik yang cepat (Anand *et al.* 2007). Kurkuminoid memiliki kelarutan yang sangat rendah dalam air yaitu sebesar 11 ng/mL pada pH asam maupun netral tetapi larut pada pH basa (Dutta dan Ikiki 2013). Rendahnya bioavailabilitas kurkuminoid mengakibatkan penyerapannya di dalam tubuh kecil sehingga cepat di metabolisme di dalam usus dan hati (Kocher *et al.* 2015). Masalah ini

dapat diatasi dengan pembuatan nanopartikel tersalut lemak padat. Nanopartikel lemak padat diketahui memiliki keuntungan dalam meningkatkan pengisian obat, meningkatkan bioavailabilitas senyawa-senyawa bioaktif yang terjerap, dan stabil digunakan dalam jangka waktu yang lama (Ghalandarlaki *et al.* 2014). Formulasi kurkumin kedalam nanopartikel lemak padat yang dilakukan Kakkar *et al.* (2011) menunjukkan peningkatan bioavailabilitas yang signifikan sehingga mampu memberikan efek terapi yang lebih baik. Metode yang digunakan dalam pembuatan nanopartikel kurkuminoid tersalut lemak padat ini yaitu dengan mengembangkan metode homogenasi-ultrasonikasi pada amplitudo 20 % selama 60 menit (Ambarsari *et al.* 2014). Nanopartikel lemak padat (*solid lipid nanoparticle*) adalah suatu sistem pembawa obat baru yang berbasis teknologi nanopartikel dengan kisaran diameter 50-1000 nm (Shi *et al.* 2012). Nanopartikel lemak padat memiliki beberapa keuntungan yaitu luas permukaan yang besar, ukuran yang kecil dan kapasitas muatan obat yang tinggi (Howard 2011). Berdasarkan hal tersebut, penelitian ini bertujuan mengukur aktivitas antihiperqlikemia pada variasi dosis sediaan emulsi nanokurkuminoid temulawak tersalut asam palmitat yang dibuat dengan metode homogenisasi-ultrasonikasi pada tikus *Sprague Dawley*.

2. METODOLOGI

Hewan uji yang digunakan adalah tikus putih jantan galur *Sprague Dawley* yang diperoleh dari Pusat Studi Biofarmaka (PSB) berumur 3 bulan, sehat, memiliki aktivitas normal, dan mempunyai bobot badan antara 200-300 gram. Bahan yang diperlukan dalam penelitian

ini antara lain simplisia temulawak yang berasal dari daerah Ciemas - Sukabumi, etanol 96 %, n-heksana, asam palmitat (Merck), poloksamer 188 (BASF), air *reverse osmosis* (RO) dengan pH 7, Streptozotosin, glibenklamid.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini, antara lain *homogenizer* (Ultra Turrax T18), *ultrasonic processor* (130 Watt 20 kHz, Cole-Parmer), *particle size analyzer* (Delsa NanoC, Beckman Coulter, Versi 2.31/2.00), HPLC (Hitachi L-2000), *coolbox*, glukometer, sonde oral, tabung Eppendorf, pipet mikro, syringe, mikrosentrifus (MIKRO 200R, Hettich Zentrifugen).

Prosedur Penelitian

Ekstraksi Kurkuminoid

Serbuk rimpang temulawak kering sebanyak 100 g diekstraksi secara maserasi dengan etanol 96 % selama 24 jam. Ekstrak disaring dan filtratnya dikumpulkan. Ekstrak hasil maserasi diekstraksi cair-cair dengan n-heksana dan etanol (1:1). Fraksi etanol kemudian dipisahkan dengan penguap putar (*rotary evaporator*) (Sutrisno *et al* 2008).

$$\text{Persentase rendemen} = \frac{\text{berat akhir (ekstrak)}}{\text{berat awal (sampel)}} \times 100 \%$$

Analisis Kurkuminoid Rimpang Temulawak dengan HPLC

Sebanyak 0.05 g sampel ditimbang dan dilarutkan ke dalam 50 mL metanol. Larutan disaring dengan kertas saring 0.45 μm , kemudian dimasukkan ke dalam vial HPLC. Sebanyak 20 μL diinjeksikan ke dalam kolom HPLC. Standar kurkuminoid dibuat dengan konsentrasi 0.5 ppm. Fase diam yang digunakan adalah senyawa C18, sedangkan fase geraknya adalah metanol. Panjang diameter kolom 25 x 4.6 mm, laju alir

1 mL/menit, panjang gelombang 254 nm, dan menggunakan detektor UV (Jayaprakasha *et al.* 2002).

Pembuatan Sediaan Nanokurkuminoid Temulawak Tersalut Asam Palmitat

Fase lemak yang terdiri atas 1.0 g asam palmitat dan 0.1 g kurkuminoid dipanaskan pada suhu 75 °C lalu diaduk dengan ultrasonikator di dalam *batch* pemanas. Fase berair yang terdiri atas 0.5 g poloksamer 188 yang berfungsi sebagai pengemulsi yang menstabilkan lapisan nanokurkuminoid tersalut asam palmitat dan 100 mL air *reverse osmosis* (RO) dipanaskan pada suhu 75 °C lalu diaduk menggunakan stirer magnetik. Fase lemak kemudian didispersikan ke dalam fase berair. Campuran fase lemak dan fase berair lalu diaduk di atas *hotplate* dengan stirer magnetik pada suhu 75 °C. Emulsi nanokurkuminoid yang dihasilkan kemudian dihomogenisasi dengan kecepatan 13500 rpm selama 5 menit. Emulsi nanokurkuminoid yang diperoleh lalu didinginkan pada suhu dingin, dengan cara ditempatkan pada wadah berisi air dan es batu. Sebanyak 20 mL emulsi nanokurkuminoid diambil dari stok awal, diletakkan ke dalam botol kaca kecil untuk diultrasonikasi dengan amplitudo 20 % selama 1 jam. Hal ini dilakukan hingga semua emulsi nanokurkuminoid tersonikasi. Emulsi yang dihasilkan kemudian diukur ukuran partikelnya menggunakan *particle size analyzer* (PSA) (Ambarsari *et al.* 2014).

Efisiensi Penjerapan

Nanokurkuminoid yang dihasilkan disentrifugasi dengan kecepatan 14000 rpm pada suhu 4 °C selama 40 menit dan supernatannya didekantasi. Residunya dicuci dengan pelarut

kurkuminoid metanol dan air (8:1), untuk mengekstraksi kurkuminoid yang terjerap dan disentrifugasi kembali. Absorbansi supernatan diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 425 nm. Efisiensi penjerapan dihitung dengan persamaan:

$$\text{Efisiensi penjerapan} = \frac{\text{Konsentrasi kurkuminoid terjerap}}{\text{Konsentrasi kurkuminoid yang ditambahkan}} \times 100 \%$$

Konsentrasi kurkuminoid terjerap diperoleh dengan memasukkan nilai absorbansi ke persamaan linear kurva standar kurkuminoid 94 % (Yadav *et al.* 2008).

Hewan Uji dan Rancangan Percobaan

Penelitian ini menggunakan 21 ekor tikus *Sprague Dawley* yang berusia sekitar 8-12 minggu. Sebelum percobaan dilakukan, berat badan tikus dan konsumsi pakan ditimbang, kemudian dilakukan pengambilan darah untuk *baseline*. Tikus dikandangkan pada jenis kandang plastik, tiap kelompok ditempatkan dalam satu kandang. Kondisi gelap terang kandang diatur dengan siklus 12 jam, kelembaban relatif 85 %, dan suhu ruangan kandang 23 °C (Rauter *et al.* 2009).

Rancangan Penelitian

Sebanyak 21 ekor tikus dibagi menjadi 7 kelompok, dan satu kelompok terdiri dari tiga ekor tikus. Kelompok normal (N) tanpa induksi streptozotosin (STZ). Kelompok kontrol negatif (KN) diinduksi STZ 50 mg/kg BB dan dicekok akuades. Kelompok kontrol positif (KP) diinduksi STZ 50 mg/kg BB dan dicekok obat komersil glibenklamid 5 mg/kg BB. Kelompok ekstrak (E) diinduksi STZ 50 mg/kg BB dan dicekok ekstrak kurkuminoid 100 mg/

kg BB. Kelompok NE 5, NE 10 dan NE 20 adalah kelompok tikus diabetes diinduksi STZ 50 mg/kg BB dan berturut-turut dicekok sediaan emulsi nanokurkuminoid 5 mg/kg BB, 10 mg/kg BB dan 20 mg/kg BB. Pencekokan dilakukan setiap hari selama 15 hari. Induksi streptozotisin dilakukan dengan cara menyuntikkan pada bagian intraperitoneal rongga bawah perut tikus. Pencekokan sediaan obat dilakukan setelah 48 jam disuntik streptozotisin (waktu ini diambil setelah melakukan *trial error* sebelum melakukan percobaan karena setelah 48 jam tikus banyak yang mati) dan berakhir pada hari ke-15.

Pengukuran Kadar Glukosa Darah

Pengukuran kadar glukosa darah dilakukan di hari ke-0, 4, 7, 11, dan 15. Tikus dipuasakan selama 12 jam dan dihangatkan dengan sinar matahari selama ± 15 menit sebelum diambil darahnya. Pengambilan darah dilakukan melalui ekor. Ekor tikus dibersihkan dengan alkohol 70 %, kemudian ujung ekor ditusuk pembuluh darahnya menggunakan jarum. Ekor tikus diurut hingga darah menetes. Tetesan darah yang diperoleh diteteskan di atas strip glukometer. Kadar glukosa darah dinyatakan dalam satuan mg/dL. Tikus diukur bobot badannya sebelum pengambilan darah dilakukan (Soemardji 2004).

$$\text{Penurunan glukosa Darah} = \frac{\text{Glukosa darah hiperglikemia} - \text{Glukosa darah akhir}}{\text{Glukosa darah hiperglikemia}} \times 100 \%$$

Analisis Statistik

Rancangan acak lengkap digunakan pada rancangan penelitian ini. Data yang diperoleh dianalisis dengan metode *One Way ANOVA (analysis of variance)* pada tingkat kepercayaan

95 % dan taraf $\alpha = 0.05$. Uji lanjut yang digunakan adalah Duncan pada selang kepercayaan 95 %, taraf $\alpha = 0.05$ (Mattjik & Sumertajaya 2000).

3. HASIL

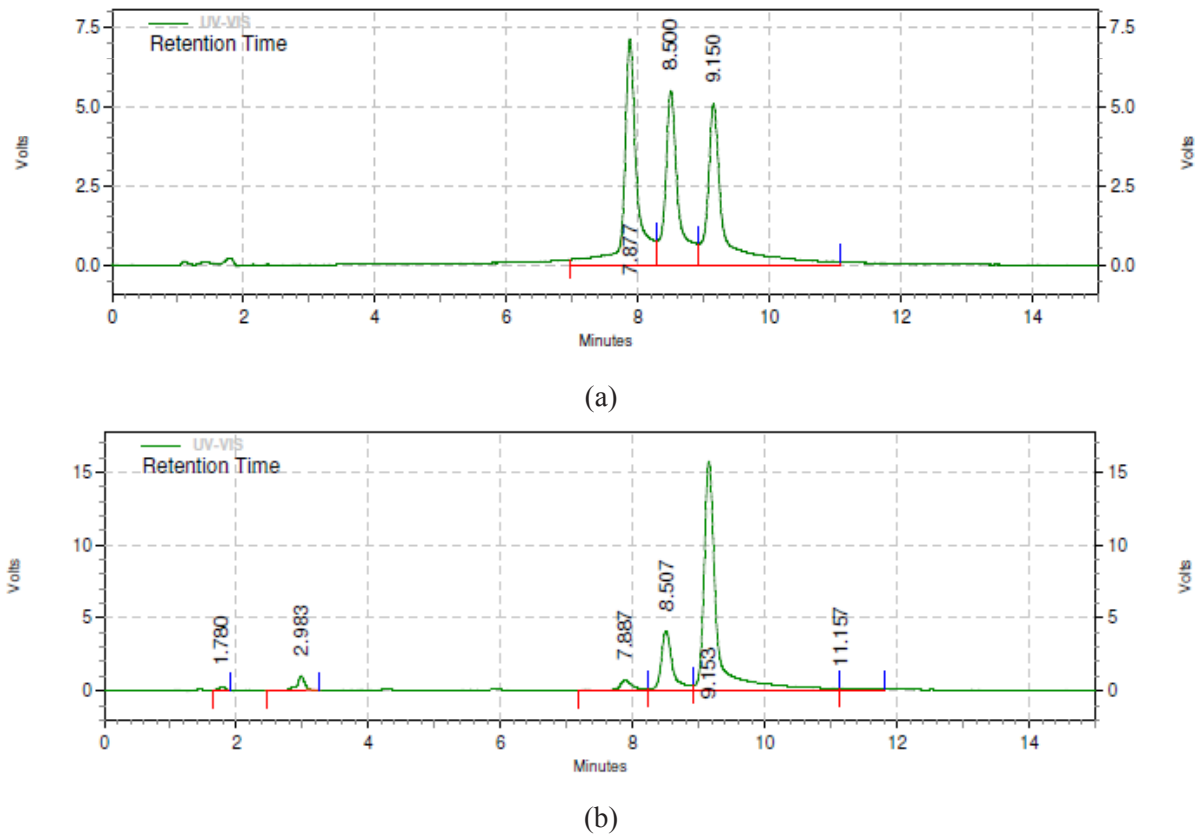
Rendemen Ekstrak dan Deteksi Kurkuminoid Rimpang Temulawak

Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan rimpang temulawak lokal Ciemas 100 g dengan pelarut etanol 96 % selama 24 jam. Hasil maserasi diekstraksi cair-cair dengan n heksana dan etanol, selanjutnya dipisahkan dengan *rotary evaporator* dan dihasilkan rendemen sebesar 8.32 % dalam bentuk ekstrak kental.

Hasil analisis kromatogram HPLC menunjukkan terdapat tiga puncak utama dengan waktu retensi masing-masing 7.887 menit, 8.507 menit dan 9.153 menit (Gambar 1b). Hal tersebut sesuai dengan analisis HPLC kurkuminoid standar yang diisolasi dari kunyit (*Curcuma longa*) yang menunjukkan waktu retensi masing-masing 7.877 menit, 8.500 menit, dan 9.150 menit (Gambar 1a). Ketiga puncak kromatogram tersebut diidentifikasi sebagai bisdemetoksikurkumin, demetoksikurkumin, dan kurkumin (Jayaprakasha *et al.* 2002).

Karakteristik Sediaan Emulsi Nanokurkuminoid Temulawak

Beberapa parameter yang diamati terhadap keberhasilan produksi nanokurkuminoid temulawak diantaranya adalah penampakan secara fisik, ukuran partikel, indeks polidispersitas (IP), dan efisiensi penjerapan. Penampakan secara fisik dari nanokurkuminoid diamati dari kestabilan emulsi yang tidak meng-agregat, se-



Gambar 1 Kromatogram HPLC (a) standar kurkuminoid dan (b) ekstrak etanol

hingga dihasilkan emulsi yang homogen dan tidak terpisah.

Analisis ukuran partikel dilakukan menggunakan alat *particle size analyzer* (PSA) yang menghasilkan ukuran partikel nanokurkuminoid sebesar 523.5 nm dengan distribusi ukuran yang cukup baik karena masih berada pada rentang ukuran submikron (50 – 1000 nm) yang dapat menjadi sistem pembawa koloid seperti nanopartikel. Keseragaman ukuran partikel dapat diketahui dengan menentukan nilai indeks polidispersitas (IP). Hasil penentuan IP dari nanokurkuminoid pada penelitian ini adalah 0.218. Efisiensi penjerapan kurkuminoid dalam nanokurkuminoid pada penelitian ini adalah sebesar 24.2 %.

Kondisi Bobot Badan Tikus Selama Percobaan

Persentase penurunan bobot badan tikus dihitung pada hari ke-7 dan ke-15. Tabel 1 menunjukkan, pada hari ke-7 perlakuan bobot badan tikus kelompok normal mengalami penurunan sebesar 3.82 %. Kelompok kontrol negatif turun sebesar 9.43 %. Penurunan bobot badan terbesar terjadi pada kelompok kontrol positif sebesar 13.61 %. Pada kelompok ekstrak bobot badan tikus turun 10.42 %. Penurunan bobot badan pada hari ke-7 sebesar 8.84 %, 4.70 % dan 9.56 % terjadi pada kelompok sediaan emulsi nanokurkuminoid dengan masing-masing dosis 5, 10, dan 20 mg/kg bobot badan.

Pada kelompok normal terjadi penurunan bobot badan sebesar 1.39 % pada hari ke-15, namun secara statistik nilai tersebut tidak berbeda nyata ($p > 0.05$) dari keadaan awal. Ber-

Tabel 1 Persentase penurunan bobot badan tikus selama perlakuan

Kelompok perlakuan	BB (gr) hari ke-0	BB (gr) hari ke-7	Penurunan BB (%)	BB (gr) hari ke-15	Penurunan BB (%)
N	287.67±21.06 ^a	276.67±18.35 ^a	3.82	283.67±17.46 ^a	1.39
KN	270.50±15.50 ^a	245.00±23.00 ^a	9.43	199.00±22.00 ^{ab}	26.43
KP	264.50±1.50 ^a	228.50±5.50 ^a	13.61	204.50±11.50 ^{ab}	22.68
E	273.50±0.50 ^a	245.00±2.00 ^a	10.42	198.50±1.50 ^{ab}	27.42
NE 5	286.67±12.03 ^a	261.33±6.96 ^a	8.84	216.33±8.35 ^{ab}	24.54
NE 10	269.33±1.20 ^a	256.67±10.40 ^a	4.70	227.67±36.36 ^{ab}	15.47
NE 20	258.00±4.51 ^a	233.33±7.80 ^a	9.56	196.67±14.44 ^{ab}	23.77

Keterangan: Angka yang diikuti indeks huruf yang sama dalam satu kolom menunjukkan antar perlakuan tidak berbeda nyata pada $p < 0,05$

beda dengan kelompok normal, kelompok tikus yang diinduksi STZ cenderung mengalami penurunan bobot badan yang signifikan dari keadaan awal. Penurunan bobot badan tertinggi terjadi pada kelompok kontrol negatif dan ekstrak masing-masing sebesar 26.43 % dan 27.42 %. Kelompok kontrol positif terjadi penurunan bobot badan sebesar 22.68 %. Untuk kelompok sediaan emulsi nanokurkuminoid masing-masing dosis 5 mg/kg BB, 10 mg/kg BB, dan 20 mg/kg BB penurunan bobot badan sebesar 24.53 %, 15.47 %, dan 23.77 %. Penurunan bobot badan terendah terjadi pada kelompok nanokurkuminoid dosis 10 mg/kg BB.

Aktivitas Antihiperqlikemia Sediaan Emulsi Nanokurkuminoid Temulawak

Aktivitas antihiperqlikemia sediaan emulsi nanokurkuminoid temulawak terlihat dari kadar glukosa darah tikus selama 15 hari (Tabel 2). Glukosa darah tikus untuk semua kelompok perlakuan sebelum induksi STZ tidak berbeda nyata ($p > 0.05$). Setelah 48 jam pemberian STZ dengan dosis 50 mg/kg BB, glukosa darah meningkat signifikan ($p < 0.05$) dari keadaan awal glukosa darah normal menjadi diabetes (> 200 mg/dL). Pada hari ke-4 tidak terjadi

penurunan kadar glukosa darah meskipun telah diberi berbagai perlakuan seperti obat komersil (glibenklamid), ekstrak kurkuminoid dan sediaan emulsi nanokurkuminoid temulawak dengan variasi dosis yang berbeda. Kenaikan glukosa darah cenderung meningkat pada hari ke-4 setelah pemberian STZ kecuali pada kelompok NE 10 (sediaan emulsi nanokurkuminoid 10 mg/kg BB) walaupun penurunannya tidak berbeda nyata ($p > 0.05$) dibandingkan dengan kelompok yang lain. Pada kelompok NE 10 mg/kg BB terjadi penurunan glukosa darah yang bertahap dari keadaan setelah tikus di induksi STZ. Pada hari ke-4 glukosa darah tikus mengalami penurunan sebesar 11.98 ± 22.2 %, hari ke-7 glukosa darah turun sebesar 18.34 ± 25.87 %, selanjutnya hari ke-11 penurunan glukosa darah tikus sebesar 19.32 ± 20.99 % dan penurunan paling besar terjadi pada hari ke-15 yaitu sebesar 30.93 ± 14.90 % (Tabel 3). Jika dibandingkan dengan kelompok kontrol positif terlihat perbedaan penurunan glukosa darah tikus walaupun nilainya tidak berbeda nyata.

Tabel 2 Kadar glukosa darah pada setiap perlakuan terhadap waktu setelah induksi STZ

Kelompok perlakuan	Kadar glukosa darah (mg/dl)					
	Sebelum STZ	Setelah STZ	Hari ke-4	Hari ke-7	Hari ke-11	Hari ke-15
N	119.00±3.79 ^{a,A}	98.33±3.71 ^{b,B}	91.33±3.38 ^{b,B}	89.67±4.41 ^{b,B}	94.33±3.84 ^{a,B}	95.33±6.33 ^{b,B}
KN	108.00±8.00 ^{a,D}	300.00±27.00 ^{a,AB}	313.00±12.00 ^{a,AB}	340.00±5.00 ^{a,A}	277.00±5.00 ^{a,BC}	243.50±9.50 ^{ab,C}
KP	108.50±1.50 ^{a,A}	212.50±64.50 ^{ab,A}	278.50±4.50 ^{a,A}	319.50±2.50 ^{a,A}	250.50±29.50 ^{a,A}	226.50±49.50 ^{a,A}
E	96.50±1.50 ^{a,B}	260.00±24.00 ^{a,A}	289.00±14.00 ^{a,A}	307.00±28.00 ^{a,A}	290.00±2.00 ^{a,A}	398.00±95.00 ^{a,A}
NE 5	99.33±2.40 ^{a,B}	251.33±26.69 ^{a,A}	332.67±8.76 ^{a,A}	218.00±13.58 ^{ab,AB}	241.67±53.59 ^{a,A}	253.00±72.51 ^{ab,A}
NE 10	108.67±8.69 ^{a,A}	272.67±7.27 ^{a,A}	240.00±63.06 ^{a,A}	222.67±71.99 ^{ab,A}	220.00±59.87 ^{a,A}	188.33±30.21 ^{ab,A}
NE 20	113.33±11.41 ^{a,C}	273.67±21.88 ^{ab,AB}	347.33±2.60 ^{a,A}	287.00±16.20 ^{ab,AB}	263.00±42.16 ^{a,B}	306.00±29.57 ^{ab,AB}

4. PEMBAHASAN

Karakteristik Sediaan Emulsi Nanokurkuminoid Temulawak

Sediaan emulsi nanokurkuminoid dibuat dengan menggunakan metode homogenisasi-ultrasonikasi karena merupakan metode yang sederhana. Formula yang digunakan pada penelitian ini mengacu pada Mujib (2011) dengan modifikasi waktu homogenisasi terbaik oleh Ekaputra (2013). Homogenisasi bertujuan untuk menyatukan kedua fase sehingga dihasilkan emulsi nanokurkuminoid dengan ukuran yang seragam. Proses pendinginan emulsi dalam pembuatan nanopartikel lemak padat dimaksudkan agar tetesan-tetesan lemak yang terdispersi pada fase cair dapat sesegera mungkin mengkristal dengan ukuran partikel kecil sebelum tetesan-tetesan tersebut menggumpal kembali menjadi tetesan-tetesan yang lebih besar (Anton *et al.* 2008).

Penggunaan surfaktan dalam pembuatan nanopartikel lemak padat bertujuan untuk mengendalikan proses kristalisasi. Selain itu, pengemulsi atau surfaktan berperan dalam memperbaiki stabilitas kinetik struktur kristal yang dihasilkan (Weiss *et al.* 2008). Poloksamer 188 yang digunakan pada penelitian ini berfungsi sebagai pengemulsi yang menstabilkan lapisan nanokurkuminoid tersalut asam palmitat. Emulsi nanokurkuminoid hasil homogenisasi diultrasonikasi dengan amplitudo 20 % selama 60 menit. Kondisi ultrasonikasi ini didasarkan pada penelitian yang dilakukan oleh Mujib (2011), hasil yang diperoleh dari penelitian tersebut menunjukkan bahwa semakin tinggi energi ultrasonikasi maka akan menghasilkan rata-rata ukuran partikel yang semakin kecil dengan distribusi yang semakin sempit, akan tetapi hal

tersebut dapat merusak kestabilan emulsi. Untuk mencapai energi ultrasonikasi yang tinggi dengan tidak merusak kestabilan emulsi dapat dilakukan dengan pengaplikasian intensitas (amplitudo) yang rendah dengan waktu yang relatif lama (Mujib 2011). Ultrasonikasi dilakukan dengan tujuan untuk penyeragaman ukuran partikel yang lebih kecil.

Karakterisasi nanokurkuminoid dapat diamati melalui beberapa parameter diantaranya penampakan fisik, ukuran partikel, indeks polidispersitas (IP) dan efisiensi penyerapan. Emulsi nanokurkuminoid yang dihasilkan dalam penelitian ini memiliki warna kuning cerah yang tidak mengagregat sehingga dihasilkan emulsi yang homogen. Ukuran partikel nanopartikel lipid dipengaruhi oleh berbagai faktor, diantaranya adalah komposisi formulasi seperti surfaktan, sifat lemak dan obat yang dimasukkan. Berdasarkan penelitian Ambarsari *et al* (2014) komposisi surfaktan dapat meningkatkan stabilitas nanopartikel lemak padat. Nanokurkuminoid temulawak yang dihasilkan dalam penelitian ini memiliki ukuran partikel 523.5 nm. Hasil ini berada pada rentang ukuran sub mikron (50-1000 nm) yang dapat menjadi sistem pembawa koloid seperti nanopartikel. Semakin kecil ukuran partikel penyerapan kurkumin semakin besar melalui pemberian oral (Ravichandran 2013).

Keseragaman ukuran partikel dapat diketahui dengan menentukan nilai indeks polidispersitas (IP). Hasil penentuan IP dari nanokurkuminoid pada penelitian ini adalah 0.218. Menurut Yadav *et al* (2008) nilai IP kurang dari 0.3 menunjukkan ukuran partikel memiliki distribusi yang sempit. Hal ini mengindikasikan bahwa pembuatan nanopartikel kurkuminoid temulawak pada penelitian ini telah cukup baik.

Faktor yang menentukan besarnya efisiensi penyerapan diantaranya adalah jumlah zat aktif yang ditambahkan pada pembuatan nanopartikel lemak padat (Yadav *et al.* 2008). Selain itu, Parhi dan Suresh (2010) mengungkapkan bahwa efisiensi penyerapan juga dipengaruhi oleh kelarutan zat aktif di dalam lemak cair. Jika zat aktif tidak larut sempurna dalam lemak cair, maka sebagian zat aktif akan terlepas dari matriks lemak, dan terlarut dalam media pendispersi yang distabilkan oleh pengemulsi. Efisiensi penyerapan menunjukkan banyaknya kurkuminoid yang terjerap di dalam matriks lemak. Efisiensi penyerapan pada penelitian ini adalah sebesar 24.2 %. Hasil efisiensi penyerapan yang rendah tetap digunakan pada penelitian ini karena yang digunakan adalah seluruh sediaan kurkuminoid, bukan hanya yang terjerap saja. Nilai efisiensi penyerapan menunjukkan karakteristik nanokurkuminoid yang dihasilkan.

Bobot Badan Tikus Selama Percobaan

Induksi streptozotisin dosis 50 mg/kg BB menunjukkan bahwa, STZ mampu menurunkan bobot badan tikus secara signifikan. Hal tersebut dikarenakan efek STZ yang merusak sel beta pankreas dan mengarah pada gangguan produksi insulin, akan berpengaruh buruk pada mobilisasi zat gizi antara lain tidak mampu menghasilkan energi dari glukosa yang berasal dari makanan (Retnaningsih 2013). STZ menyebabkan produksi ATP (adenosine triphosphat) mitokondria terbatas dan menimbulkan deplesi nukleotida pada sel (Szkudelski 2001).

Pada kelompok normal penurunan bobot badan sebesar 1.4 ± 1.10 %. Angka ini sangat kecil jika dibandingkan dengan kelompok perlakuan lainnya. Penurunan bobot badan pada tikus kelompok normal disebabkan karena tikus

mengalami stres selama masa percobaan karena satu kelompok tikus dikandangkan ke dalam kandang yang sama. Kelompok tikus yang diinduksi STZ cenderung mengalami penurunan bobot badan yang signifikan dari keadaan awal. Hal tersebut menunjukkan bahwa induksi 50 mg/kg BB streptozotosin pada tikus selama 15 hari mampu menghambat peningkatan bobot badan tikus. Penurunan tertinggi terjadi pada kelompok kontrol negatif pada tikus diabetes yang hanya dicekok akuades dan kelompok ekstrak masing-masing sebesar 26.4 ± 3.93 % dan 27.4 ± 0.68 %.

Pemberian ekstrak kurkuminoid yang dicekok menggunakan akuades pada tikus diabetes belum mampu menekan penurunan bobot badan disebabkan karena sifat kurkuminoid yang tidak larut dalam air dan bioavailabilitas kurkuminoid yang rendah didalam tubuh. Pada kelompok kontrol positif penurunan bobot badan sebesar 22.7 ± 4.79 %. Penurunan bobot badan terhadap kelompok sediaan emulsi nanokurkuminoid temulawak masing-masing dosis 5 mg/kg BB, 10 mg/kg BB, dan 20 mg/kg BB berturut-turut adalah sebesar 24.5 ± 1.95 %, 15.5 ± 13.92 %, dan 23.8 ± 4.51 %. Penurunan bobot badan terhadap kelompok ini lebih rendah dibandingkan dengan kelompok ekstrak kurkuminoid. Hal ini disebabkan karena kurkuminoid telah diformulasi kedalam nanopartikel lemak padat sehingga dapat meningkatkan bioavailabilitasnya didalam tubuh tikus seperti yang dilakukan oleh Kakkar *et al.* (2011). Berdasarkan hal tersebut diketahui bahwa pemberian sediaan emulsi nanokurkuminoid mampu menekan penurunan bobot badan sebesar 2-11 % jika dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif, dan hasil terbaik ditunjukkan oleh sediaan emulsi nanokurkuminoid dosis 10 mg/kg BB.

Aktivitas Antihiperqlikemia Sediaan Emulsi Nanokurkuminoid Temulawak

Tingginya kadar glukosa darah atau hiperglikemia dianggap menjadi salah satu penyebab utama terjadinya komplikasi diabetes. Streptozotosin yang diinduksikan pada tikus dengan dosis 50 mg/kg BB mampu meningkatkan kadar glukosa darah secara signifikan. Hal ini terjadi karena pemberian STZ dapat mengganggu respon tikus terhadap glukosa dan sensitivitas sel β pada 8-10 minggu (Szkudelski 2001). Streptozotosin merupakan analog glukosa dan N-asetil glukosamin yang bersifat sitotoksik, memiliki rumus molekul $C_8H_{15}N_3O_7$, berat molekul 265 g/mol dan strukturnya terdiri atas sebagian nitrosourea dengan gugus metil yang melekat pada salah satu ujungnya dan molekul glukosa pada ujung yang lain (Eleazu *et al.* 2013). Streptozotosin (2-deoksi-2- (3-metil-3-nitrosourea) -1-D glukopiranos) merupakan senyawa alami yang diproduksi oleh bakteri tanah *Streptomyces achromogenes* yang digunakan sebagai bahan induktor hiperglikemia pada hewan coba dengan cara merusak DNA sel- β pankreas sehingga terjadi penghambatan sekresi dan sintesis insulin (Szkudelski 2001).

Pengamatan terhadap glukosa darah pada tikus hiperglikemia dilakukan untuk melihat pengaruh pemberian ekstrak kurkuminoid, obat komersil glibenklamid serta sediaan emulsi nanokurkuminoid dengan berbagai dosis jika dibandingkan dengan tikus normal dan tikus hiperglikemia tanpa pemberian obat. Glukosa darah pada kelompok tikus normal yang tidak diinduksi STZ selama masa perlakuan sebesar 89.67 ± 4.41 - 98.33 ± 3.71 mg/dL. Khon & Clifford (2002) menyebutkan bahwa nilai glukosa darah normal pada tikus adalah 85-135 mg/dL. Hasil ini menunjukkan bahwa pada kelompok

tersebut glukosa darah tikus berada pada kondisi normal.

Persentase penurunan glukosa darah tikus pada Tabel 2 menunjukkan bahwa terjadi fluktuasi kadar glukosa darah setelah induksi STZ sampai pada perlakuan hari ke-15. Pada perlakuan kontrol negatif, tikus hiperglikemia yang hanya dicekok akuades kadar glukosa darahnya hingga akhir perlakuan masih berada di atas normal. Pengaruh STZ terhadap kelompok ini masih menyebabkan tikus berada pada kondisi hiperglikemia hingga akhir perlakuan. Streptozotosin yang memiliki molekul glukosa pada struktur kimianya dapat masuk ke dalam sel beta pankreas melalui *glucose 2 transporter* dengan afinitas yang rendah di dalam membran plasma. Hal ini terjadi karena sel-sel beta pankreas lebih aktif dalam penyerapan glukosa dan juga lebih sensitif terhadap STZ dibandingkan dengan sel-sel yang lain (Elsner *et al.* 2007). Sel-sel beta pankreas yang mati melalui fragmentasi DNA menyebabkan tingginya kadar glukosa di dalam darah, yang kemudian mengakibatkan terjadinya kondisi hiperglikemia. Tiga jalur utama yang berkaitan dengan kematian sel yang disebabkan oleh STZ adalah sebagai berikut : (i) metilasi DNA melalui pembentukan ion karbonium (CH_3^+) yang mengakibatkan pengaktifan enzim poli ADP-ribosa sintase sebagai bagian dari mekanisme perbaikan sel yang mengakibatkan terjadinya depleksi NAD^+ ; (ii) produksi Oksida nitrat; (iii) turunan radikal bebas hidrogen peroksida (Szkudelski 2001).

Perlakuan terhadap kelompok kontrol positif yang diberi glibenklamid menunjukkan peningkatan kadar glukosa darah pada hari ke-4 dan ke-7, kemudian mengalami penurunan pada hari ke-11 dan ke-15. Penurunan kadar glukosa darah ini terjadi disebabkan pemberian gliben-

klamid sebagai salah satu agen hipoglikemia golongan sulfonilurea yang bekerja dengan menstimulasi pelepasan insulin dari sel-sel beta pankreas (Bastaki 2005).

Pemberian sediaan emulsi nanokurkuminoid dosis 5 mg/kg BB menurunkan kadar glukosa darah tikus hiperglikemia hingga hari ke-7 perlakuan meskipun nilainya tidak berbeda nyata ($p>0.05$), namun pada hari ke-11 dan 15 glukosa darah kembali mengalami peningkatan. Glukosa darah yang meningkat pada kelompok ini jauh lebih rendah dari keadaan awal setelah induksi STZ. Pada dosis 10 mg/kg BB sediaan emulsi nanokurkuminoid berdasarkan Tabel 2 menunjukkan hasil terbaik dengan menurunkan glukosa darah secara bertahap dari keadaan setelah tikus di induksi STZ. Pada hari ke-4 persentase glukosa darah tikus mengalami penurunan sebesar $11.98\pm 22.20\%$, hari ke-7 glukosa darah turun sebesar $18.34\pm 25.87\%$, selanjutnya hari ke-11 penurunan glukosa darah tikus sebesar $19.32\pm 20.99\%$ dan penurunan paling besar terjadi pada hari ke-15 yaitu sebesar $30.93\pm 14.90\%$. Kelompok tikus hiperglikemia yang diberi perlakuan sediaan emulsi nanokurkuminoid dosis 20 mg/kg BB mampu menurunkan glukosa darah hingga hari ke-11, dan kembali mengalami peningkatan pada hari ke-15. Meningkatnya glukosa darah pada hari ke-15 lebih rendah dibandingkan dengan keadaan awal setelah tikus di induksi STZ. Berdasarkan hal tersebut, secara keseluruhan pemberian sediaan emulsi nanokurkuminoid mampu menurunkan kadar glukosa darah tikus hiperglikemia selama masa perlakuan meskipun secara statistik nilai tersebut tidak berbeda nyata ($p>0.05$).

Pemberian perlakuan terhadap kelompok ekstrak dengan dosis 100 mg/kg bb diketahui mengandung bahan aktif dengan konsentrasi

sebesar 54800 ppm, sedangkan perlakuan dengan emulsi nanokurkuminoid dosis 10 mg/kg bb mengandung bahan aktif dengan konsentrasi sebesar 5.4 ppm. Hal tersebut menunjukkan bahwa konsentrasi senyawa bioaktif pada ekstrak kurkuminoid 10148 kali lebih besar dibandingkan dengan sediaan emulsi nanokurkuminoid dosis 10 mg/kg bb, akan tetapi memiliki aktifitas antihiperlikemia yang jauh lebih kecil.

Faktor yang menyebabkan rendahnya aktivitas antihiperlikemia dari ekstrak kurkuminoid ini salah satunya adalah bioavailabilitas kurkuminoid yang rendah. Rendahnya bioavailabilitas ini mengakibatkan penyerapan kurkuminoid di dalam tubuh kecil sehingga cepat di metabolisme di dalam usus dan hati (Kocher *et al.* 2015). Penggunaan nanopartikel lemak padat pada penelitian ini memberikan keuntungan yang jauh lebih baik dibandingkan ekstrak kurkuminoid. Ghalandarlaki *et al.* (2014) menyebutkan bahwa nanopartikel lemak padat diketahui memiliki keuntungan dalam meningkatkan pengisian obat, meningkatkan kontrol pelepasan obat, meningkatkan bioavailabilitas senyawa-senyawa bioaktif yang terjerap, dan stabil digunakan dalam jangka waktu yang lama. Formulasi kurkumin ke dalam nanopartikel lemak padat yang dilakukan Kakkar *et al.* (2011) menunjukkan peningkatan bioavailabilitas yang signifikan sehingga mampu memberikan efek terapi yang lebih baik. Hal tersebut sesuai dengan penelitian ini yang menunjukkan bahwa pemberian sediaan ekstrak kurkuminoid yang diformulasi ke dalam nanopartikel lemak padat memiliki aktivitas antihiperlikemia terbaik dibandingkan dengan perlakuan menggunakan ekstrak dan kontrol positif. Kurkuminoid yang diformulasi ke dalam nanopartikel lemak padat

mampu menekan penurunan bobot badan dan menurunkan kadar glukosa darah tikus.

5. UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih penulis ucapkan kepada Pusat Studi Biofarmaka LPPM-IPB dan program beasiswa BPPDN DIKTI yang telah memfasilitasi penelitian ini sehingga dapat terlaksana dengan baik. Penelitian ini di danai melalui Hibah Penelitian Batch I Program Penelitian Riset Andal Perguruan Tinggi dan Industri (RAPID) tahun anggaran 2015 nomor : 083/SP2H/PL/Dit. Litabmas/II/2015 yang diketuai oleh Prof Dr Ir Latifah K Darusman, MS.

6. DAFTAR PUSTAKA

- Ambarsari L, Nurcholis W, Darusman LK, Mujib MA, Heryanto R. 2014. The curcuminoids extract of *Curcuma xanthorrhiza* Roxb loaded solid lipid nanoparticles. *IJSR*. 3:852-858.
- Anand P, Kunnumakkara AB, Newman RA, Aggarwal BB. 2007. Bioavailability of curcumin: Problems and Promises. *Molecular Pharmacology* 4:807-818.
- Anton N, Benoit JP, Saulnier P. 2008. Design and production of nanoparticles formulated from nano-emulsion templates – A Review. *J Control Release*. 128: 185–199.
- Basnet P, Natasa SB. 2011. Curcumin: An anti-inflammatory molecule from a curry spice on the path to cancer treatment. *Molecules*. 16: 4567-4598.
- Bastaki. 2005. Review diabetes mellitus and its treatment. *Int J Diabetes & Metabolism*. 13:111-134.
- Dutta KA, Ikiki E. 2013. Novel drug delivery systems to improve bioavailability of curcumin. *J Bioequiv Availa* 6:1.
- Ekaputra, HR. 2013. Optimisasi dan karakterisasi nanokurkuminoid tersalut asam palmitat [Skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.

- Eleazu CO, Eleazu KC, Chukwuma S, Essien UN. 2013. Review of the mechanism of cell death resulting from streptozotocin challenge in experimental animals, its practical use and potential risk to humans. *J Diabetes Metab Disord.* 12:60.
- Elsner M, Guldbakke B, Tiedge M, Munday R, Lenzen S. 2007. Relative importance of transport and alkylation for pancreatic beta-cell toxicity of streptozotocin. *Diabetologia.* 43:1528–1533.
- Ghalandarlaki N, Alizadeh AM, Ashkani-Esfahani S. 2014. Nanotechnology-applied curcumin for different diseases therapy. *BioMed Research International.* 1-23.
- Howard M. 2011. Evaluation of The Physicochemical Properties and Stability of Solid Lipid Nanoparticles Designed for The Delivery of Dexamethasone to Tumors [disertasi]. Lexington (US): The Graduate School University of Kentucky.
- Hussain. 2002. Hypoglycemic, hypolipidemic and antioxidant properties of combination of curcumin from *curcuma longa*, linn, and partially purified product from *abroma augusta*, linn. in streptozotocin induced diabetes. *Indian J Clin Biochem.* 17(2):33-43.
- [IDF] International Diabetes Federation. 2013. Diabetes Atlas Sixth Edition [internet]. [diunduh 2014 Ags 12]. Tersedia pada: www.idf.org/diabetesatlas.
- Jayaprakasha GK, Rao LJ, Sakariah KK. 2002. Improved HPLC method for determination of curcumin, demethoxycurcumin, and bisdemethoxycurcumin. *Food Chemistry.* 50:3668-3672.
- Kakkar V, Singh S, Singla D, Kaur IP. 2011. Exploring solid lipid nanoparticles to enhance the oral bioavailability of curcumin. *Mol. Nutr. Food Res.* 55:495–503.
- Kim M, Kim C, Song Y, Hwang J. 2014. Antihyperglycemic and anti-inflammatory effects of standardized *curcuma xanthorrhiza* roxb. Extract and its active compound xanthorrhizol in high-fat diet-induced obese mice. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine.* 2014:1-10.
- Kocher A, Schiborr C, Behnam D, Frank J. 2015. The oral bioavailability of curcuminoids in healthy humans is markedly enhanced by micellar solubilisation but not further improved by simultaneous ingestion of sesamin, ferulic acid, naringenin and xanthohumol. *Journal of Functional Foods.* 14:183-191.
- Kohn DF, Clifford CB, 2002 - Biology and diseases of rats. In: J.G Fox, L.C. Anderson, F.M. Lowe, et al., eds. *Laboratory Animal Medicine*, 2nd ed. New York: Academic Press, 121-167.
- Levich BR. 2011. Diabetes management : optimizing roles for nurses in insulin initiation. *J Multidiscip Healthc.* 4:15-24.
- Malkawi. 2012. Review Article: The effectiveness of physical activity in preventing type 2 diabetes in high risk individuals using well-structured interventions: a systemic review. *Journal of Diabetology.* 2:1.
- Mangunwardoyo W, Deasywaty, Tepy U. 2012. Antimicrobial and identification of active compound curcuma xanthorrhiza roxb. *IJBAS-IJENS.* 12:01.
- Mattjik AA, Sumertajaya IM. 2000. *Perancangan Percobaan Jilid 1 Edisi ke-2 dengan Aplikasi SAS dan MINITAB*. Bogor (ID): IPB Pr.
- Mujib MA. 2011. *Pencirian Nanopartikel Kurkuminoid Tersalut Lemak Padat* [tesis]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Parhi R, Suresh P. 2010. Production of solid lipid nanoparticles-drug loading and release mechanism. *J Chem Pharm Res.* 2:211–227.
- Rauter et al. 2009. Bioactivity studies and chemical profile of the antidiabetic plant *Genista tenera*. *Journal of Ethnopharmacology.* 122:384–393.
- Ravichandran R. 2013. Pharmacokinetic study of nanoparticulate curcumin: oral formulation for enhanced bioavailability. *JBNB.* 4: 291-299.
- Shi F, Ji-Hui Z, Ying L, Yong Tai Z, Nian-Ping F. 2012. Preparation and characterization of solid lipid nanoparticles loaded with frankincense and myrrh oil. *Int J Nanomedicine.* 7:2033-2043.

- Singh S. 2011. The genetics of type 2 diabetes mellitus : A Review. *J Sci Res.* 55:35-48.
- Soemardji, AA. 2004. Penentuan kadar gula darah menciit secara cepat: untuk diterapkan dalam penapisan aktivitas antidiabetes *in vivo*. *Acta Pharmaceutical Indon.* 29:115 - 116.
- Sutrisno, Sukarianingsih D, Saiful M, Putrika A, Kusumaningtyas DI. 2008. Curcuminoids from *Curcuma xanthorrhiza* Roxb: Isolation, characterization, identification, and analysis of antioxidant activity. *Proceedings of The First International Symposium on Temulawak*, Bogor, 27–29 Mei 2008.
- Szkudelski T. 2001. The mechanism of alloxan and streptozotocin action in β cells of the rat pancreas. *Physiology Research.* 50: 536- 540.
- Weiss J, Decker EA, McClements DJ, Kristbergsson K, Helgason T, Awad T. 2008. Solid Lipid Nanoparticles as Delivery Systems for Bi-active Food Components. *Food Biophysics* 3:146–154.
- Yadav V, Vinay P, Sarasija S, Yadav S. 2008. Curcumin loaded palmitic acid microparticles. *InPharm Communiqué* 1:15-18.
- Zhang D, Fu M, Gao S, Liu J. 2013. Curcumin and Diabetes: A systematic review. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine.* 2013:1-16.