

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK AIR MENIRAN TERHADAP
PENURUNAN KADAR GLUKOSA DAN TRIGLISERIDA
PADA TIKUS *Sprague dawley* JANTAN OBES
Ai Sri Kosnayani¹

¹Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Siliwangi Tasikmalaya
aisrikosnayani@unsil.ac.id

ABSTRAK

Obesitas selalu berhubungan dengan hiperglikemia dan hipertrigliserida yang jika tidak diobati akan berkembang menjadi diabetes mellitus atau penyakit jantung koroner. Penggunaan obat untuk hiperglikemia dan hipertrigliserida hanya akan menurunkan sesaat tetapi akan kembali naik bila pola makan tidak diatur. Langkah yang dianggap paling baik adalah dengan memperbaiki status obesitas baik dengan cara non farmakologik atau farmakogik misal dengan metformin. Metformin dapat menurunkan berat badan, gula darah, tekanan darah dan memperbaiki profil lipid tetapi masih mempunyai kelemahan gangguan pencernaan dan penyerapan vitamin B12. Untuk itu diperlukan obat herbal sebagai alternatif. Meniran dikenal bersifat hipoglikemik, hipotensiv, anti oksidan dan dapat mengontrol berat badan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak air meniran dosis 400 mg/kg BB, untuk menurunkan kadar glukosa puasa dan trigliserida pada tikus *Sprague dawley* jantan obes. Metode penelitian adalah eksperimen murni, pemberian berulang ekstrak air meniran dosis 400 mg/kg BB pada tikus obesitas dan pemberian saline pada kelompok kontrol positif dan negatif (tikus normal). Indikator yang diukur berat badan, kadar glukosa puasa, trigliserida dan indeks Lee pada awal akhir penelitian. Hasil dianalisis dengan uji statistik parametrik ANOVA dan dilanjutkan Post Hoc dengan $p = 0,05$. Hasil menunjukkan ekstrak air meniran memberikan pengaruh mengontrol peningkatan berat badan yang berbeda dengan kontrol positif ($p > 0,05$), menurunkan kadar glukosa puasa dan menurunkan kadar trigliserida dengan efek berbeda ($p < 0,05$). Simpulan ekstrak air meniran cukup efektif digunakan untuk menurunkan kadar glukosa puasa dan trigliserida serta mengontrol kenaikan berat badan sehingga memperbaiki status obesitas.

Kata kunci : obesitas, meniran, glukosa, trgliserida

Abstract

Obesity is always associated with hyperglycemia and hypertriglyceridemia that if left untreated will develop into diabetes mellitus or coronary heart disease. Use of drugs for hyperglycemia and hypertriglyceride will only lose a moment but will go up if your diet is not regulated. Which is considered the most good step is to fix the obesity status either by way of non-pharmacologic or farmakogik example with metformin. Metformin can reduce weight, blood sugar, blood pressure and improve lipid profiles but still has a weakness indigestion and absorption of vitamin B12. It is necessary for herbal medicine as an alternative. Meniran known to be hypoglycemic, hipotensiv, anti-oxidants and can control your weight. This study aims to determine the effect of water extract meniran dose of 400 mg / kg, to reduce levels of fasting glucose and triglycerides in obese rats Sprague Dawley. Methods of this research is true experiment, repeated administration meniran water extract dose of 400 mg / kg body weight in obese mice and administration of saline on the positive and negative control group (normal mice). Indicators measured body weight, fasting glucose levels, trigliserida and Lee index at the beginning of the end of the study. Results were analyzed by parametric statistical tests ANOVA and Post Hoc proceed with $p = 0.05$. Results showed the extract water meniran give effect to control the weight gain which is different from the positive control ($p > 0.05$), lower fasting glucose levels and lowering

triglyceride levels with different effects ($p < 0.05$). Conclusion is the aqueous extract meniran quite effectively used to reduce levels of fasting glucose and triglycerides and to control weight gain, thus improving obesity status.

Keywords: obesity, meniran, glucose, trgliserida

PENDAHULUAN

Obesitas didefinisikan sebagai gangguan gizi yang ditandai dengan akumulasi lemak yang berlebih atau abnormal yang dapat mempengaruhi kesehatan. Obesitas berhubungan dengan resistensi insulin (Abel, 2010) yang ditandai oleh hiperglikemia disertai dengan hipertensi, hipertiglisiderida dan rendahnya HDL, kondisi demikian disebut sindroma metabolik (Reaven, 1988). Obesitas dianggap sebagai pencetus awal sindroma metabolik. Beracuan pada cut off point $25 < \text{BMI} < 30$ ditetapkan overweight dan $\text{BMI} > 30$ ditetapkan obes, WHO (2015) melaporkan bahwa pada tahun 2014 lebih dari 1,9 milyar orang dewasa overweight dan 600 juta di dalamnya obes atau 39 % orang dewasa overweight dan 13 % obes. Obesitas bisa terjadi pada anak-anak, pada tahun 2013 42 juta anak balita overweight atau obes. Di Indonesia, prevalensi obesitas dan overweight juga mengalami peningkatan, dari data Riskesdas 2013 diketahui bahwa dari seluruh penduduk dewasa Indonesia 13,5 % *overweight* dan 15,4 % obes, sedangkan untuk anak-anak 18,8% *overweight* dan 8,8% obes. Angka kesakitan obesitas bisa juga ditetapkan dengan menggunakan parameter lingkaran pinggang, jika lingkaran pinggang perempuan > 80 dan laki-laki > 90 maka ditetapkan sebagai obesitas abdominal. Hasil Riskesdas 2013 memperlihatkan bahwa angka kesakitan obesitas abdominal di Indonesia mengalami peningkatan yang cukup tinggi yaitu 18,8 % pada tahun 2007 menjadi 26,6 % pada tahun 2013 (Kemenkes RI, 2013).

Hiperglikemia dan hipertriglisiderida jika tidak diobati dapat berkembang menjadi diabetes mellitus tipe 2 dan penyakit kardio vaskular. Penggunaan obat untuk menurunkan kadar glukosa puasa dan triglisiderida hanya akan menurunkan sesaat tapi akan kembali naik jika pola makan tidak diatur, yang paling baik adalah memperbaiki status obesitas. Manajemen obesitas dapat melalui dua cara yaitu non farmakologik dengan meningkatkan aktifitas fisik dan menurunkan asupan makanan, sehingga diharapkan berat badan menjadi ideal dan farmakologik dengan cara mengkonsumsi obat yang dapat menekan rasa lapar atau meningkatkan sensitivitas insulin (Dong Cheng, 2005). Salah satu obat yang dianjurkan WHO untuk mengobati resistensi insulin adalah metformin yang mempunyai fungsi menurunkan obesitas, menurunkan resistensi insulin, menurunkan hiperglikemia, menurunkan tekanan darah dan menurunkan inflamasi (Rojas and Gomes, 2013). Metformin mempunyai efek samping terjadinya gangguan pencernaan seperti sakit perut, perut kembung dan diare (Metformin, 1979). Penelitian lain menunjukkan penggunaan metformin lebih dari tiga tahun

dengan dosis tinggi (Wei Ting, *et. al.* 2006) menyebabkan 10 – 30% pasien yang diterapi metformin mengalami penurunan penyerapan vitamin B12 (Callgahan, *et. al.*, 1980), data lain menyebutkan terjadi penurunan penyerapan vitamin B12 sebanyak 19% dan asam folat 5% (Jager, *et.al.* 2010). Efek samping lainnya adalah sporadis seperti vaskulitis leukositoklatis dan alergi pneumonitis (Klapholz, *et.al.* 1986), ikterus kolestatik (Desilets, *et.al.* 2001), dan anemia hemolitik (Kashyap and Kashyap, 2000).

Adanya efek samping dari penggunaan metformin, memungkinkan untuk dicari obat herbal sebagai alternatif. Berbagai penelitian terhadap ekstrak air meniran menunjukkan bahwa ekstrak air *Phyllanthus niruri* Linn. air meniran bersifat hipoglikemik, menurunkan kolesterol dan trigliserida pada tikus yang diinduksi aloksan (Okoli, *et.al.* 2010) dan yang diinduksi streptozotocin (Nwanjo, 2006), hipotensif pada kelinci jantan (Amaechina and Omogbai, 2007), untuk pencegah dan atau penyembuhan penyakit infeksi dan degeneratif (Oweyo, *et.al* 2012), memperbaiki resistensi insulin pada tikus yang diinduksi 10% sukrosa (Adeneye, 2012), memberikan efek anti apoptosis dan menghambat inflamasi (Kandhare and Gosh, 2013), dan menurunkan berat badan mencit diabetes yang diinduksi aloksan (Adeneye and Amole, 2006; Sheti, *et al.* 2012).

Penelitian efek air meniran untuk pengobatan diabetes mellitus melalui penurunan kadar glukosa darah puasa dan trigliserida yang telah banyak dilakukan adalah pada binatang coba yang diinduksi oleh streptozocin atau aloksan. Hal ini tidak sesuai dengan terjadinya terjadinya hiperglikemis dan hipertrigliserida pada manusia yang dipicu oleh obesitas. Oleh karena ini dalam penelitian ini dilakukan pada tikus *Sprague dawley* jantan obes. Tikus obes dibuat dengan memberikan pakan tambahan fruktosa dan lemak sapi pada pakan standar AIN93G. Penentuan obesitas pada tikus menggunakan indeks Lee (Barnadis and Patterson, 1968). Dosis ekstrak air meniran yang diberikan 400 mg/kg BB tikus setiap pagi selama 28 hari (Okoli, 2010; Giribabu, 2014) .

METODE PENELITIAN

- A. Desain penelitian ini adalah Experimental Laboratorik dengan menggunakan jenis *Randomized control group pre post test design*. Tikus dibagi ke dalam tiga kelompok yaitu K1 = tikus normal tanpa diberi perlakuan (kontrol negatif), K2 = tikus obes tanpa diberi perlakuan (kontrol positif), K3 = tikus obes diberi ekstrak air meniran dengan dosis 400 mg/Kg BB setiap hari.
- B. Binatang Coba
Delapan belas ekor ekor tikus *Sprague dawley* jantan umur 6 minggu dengan rata-rata berat badan $159,92 \pm 3,99$ gram. Tikus dipelihara dalam kandang baja dengan temperatur kamar di Laboratorium Gizi PAU UGM. Tikus diberi pakan AIN 93 G dan minu dengan cara ad libitum. Dengan cara random dipilih 6 ekor tikus untuk kelompok normal/tidak obes (K1) dan sisanya diinduksi obesitas.

C. Pembuatan Ekstrak

Benih tanaman meniran diperoleh Balai Tanaman Obat Tawangmangu, yang ditanam di Tasikmalaya. Semua bagian tanaman dikeringkan lalu dihaluskan. Ekstrak tanaman diperoleh dengan cara maserasi menggunakan air.

Induksi Obesitas Binatang Coba

- D. Induksi obesitas tikus dilakukan pada 12 ekor tikus dengan cara diberi pakan tambahan fruktosa dan lemak sapi cair setiap pagi. Penentuan obesitas menggunakan indeks obesitas Lee (Barnadis and Patterson, 1968) dengan persamaan :

$$\text{Indeks Lee} = \frac{VBB}{PB} \times 1000$$

Tikus dinyatakan obesitas jika indeks Lee > 300 dengan lama induksi 5 minggu.

E. Perubahan Berat Badan

Tikus ditimbang berat badan sebanyak 3 kali pada awal penelitian sebelum pengelompokan, setelah induksi obesitas berhasil atau sebelum perlakuan dan setelah 28hari perlakuan pemberian ekstrak air meniran.

F. Uji Kadar Glukosa Puasa, HDL dan Trigliserida

Pengujian kadar glukosa puasa dan trigliserida dilakukan 2 kali sebelum dan sesudah perlakuan. Pengujian kadar glukosa h puasa dengan metode enzimatik dengan satuan mg/dl dan kadar trigliserida dengan menggunakan metode Calorimetric Enzymatic test – Glycerol 3 Phosphate – oxidase (GPO) dengan satuan mg/dl.

G. Analisis Statistik

Data ditampilkan dalam Mean ± SE dari tiga kelompok perlakuan. Analisis kemudian dilanjutkan dengan One-way ANOVA dan Post Hoc - Tukey untuk data yang terdistribusi normal dan dengan Kruskal Wallis dan Mann Whitney untuk data tidak terdistribusi normal dan tidak homogen.

HASIL PENELITIAN

1. Pengaruh pemberian ekstrak air meniran pada berat badan tikus dan status obeitas

Tabel 1. Perbedaan Berata Badan dan Indeks Lee Menurut Kelompok Penelitian

Variabel		Rerata ± SD			p
		Kelompok I	Kelompok II	Kelompok III	
Berat Akhir	Badan	212,5±4,18	246,83±7,08	227,83±3,87	0,000 ^{a)}
Delta Badan	Berat	-27,18±1,33	-46,83±1,72	-29,23±1,72	0,000 ^{a)}
Indeks Lee Awal		289,34±1,85	315,14 ±8,85	322,50 ± 3,18	0,002 ^{b)}
Indeks Lee Akhir		282,61±1,31	314,21±8,21	313,57±2,89	0,003 ^{b)}
Delta Indeks Lee		6,73±0,71	0,98±1,04	9,02±0,89	0,001 ^{b)}

^{a)} Uji ANOVA

^{b)} Uji Kuskall Wallis

Kelompok I : Tikus normal + 1 ml/Kg BB saline

Kelompok II : Tikus Obes + 1 ml/Kg BB saline

Kelompok III : Tikus Obes + 400 mg/Kg BB ekstrak air meniran dilarutan dalam saline

Pada awal perlakuan tikus yang diinduksi fruktosa dan lemak sapi selama 5 minggu ditetapkan obes dengan beracuan pada indeks Lee > 300. Dari data dapat dilihat bahwa kelompok I sebagai kelompok Kontrol Negatif pada awal dan akhir penelitian tidak mengalami obesitas. Kelompok II dan III pada awal dan akhir penelitian masih berstatus obesitas, tetapi pada kelompok III yang diberi ekstrak air meniran menunjukkan peubahan indeks Lee yang cukup besar. Ada perbedaan bermakna indeks Lee pada semua kelompok penelitian ($p<0,05$). Rata-rata berat badan tikus pada semua kelompok mengalami peningkatan tetapi peningkatan yang terbesar terjadi pada kelompok tikus obesitas yang tidak diberi ekstrak meniran.Terdapat perbedaan bermakna antara kelompok penelitian ($p<0, 05$).

Tabel 2. Hasil Uji Beda Rerata Tiga Kelompok untuk Berat Badan dan Indeks Lee

Kelompok	p	
	Delta Berat Badan	Delta Indeks Lee
Kelompok I – II	0,000 ^{a)}	0,004 ^{b)}
Kelompok I – III	0,029 ^{a)}	0,004 ^{b)}
Kelompok II – III	0,000 ^{a)}	0,004 ^{b)}

^{a)} Uji Post Hoc - Tukey

^{b)} Uji Mann Whitney

Kelompok I : Tikus normal + 1 ml/Kg BB saline

Kelompok II : Tikus Obes + 1 ml/Kg BB saline

Kelompok III : Tikus Obes + 400 mg/Kg BB ekstrak air meniran dilarutan dalam saline

Perubahan berat badan dan indeks Lee untuk kelompok I (tikus normal) berbeda bermakna dengan kelompok tikus obes yang tidak diobati (kelompok II) dan kelompok yang diberi ekstrak air meniran (kelompok III) ($p < 0,05$).

2. Pengaruh pemberian ekstrak air meniran pada kadar glukosa puasa dan trigliserida tikus obes dan normal

Tabel 2. Perbedaan Rerata Kadar Glukosa Puasa dan Trigliserida menurut Kelompok Penelitian

Variabel	Rerata ± SD			p
	Kelompok I	Kelompok 2	Kelompok 3	
Kadar Glukosa Puasa Awal	74,33± 1,19	171,04±5,93	164,48±1,79	0,001 ^{b)}
Kadar Glukosa Puasa Akhir	76,73±1,29	174,49±5,91	110,61±3,15	0,002 ^{b)}
Delta Kadar Glukosa Puasa	-2,14±0,56	-3,45±1,08	51,85±1,67	0,002 ^{b)}
Kadar Trigliserida Awal	81,14±1,69	132,49±1,37	136,62±1,69	0,000 ^{a)}
Kadar Trigliserida Akhir	84,11±1,77	138,19±1,77	102,85±1,73	0,000 ^{a)}
Delta Kadar Trigliserida	-2,96±1,51	-5,71±1,91	37,33±1,92	0,000 ^{a)}

^{a)} Uji ANOVA

^{b)} Uji Kuskall Wallis

Kelompok I : Tikus normal + 1 ml/ekos saline

Kelompok II : Tikus Obes + 1 ml/ekor saline

Kelompok III : Tikus Obes + 400 mg/Kg BB ekstrak air meniran dilarutan dalam saline

Rata-rata kadar glukosa puasa tikus yang obes sebelum perlakuan > 164,48 ± 1,79 hal ini menunjukkan bahwa semua tikus obesitas mengalami hiperglikemia yang disebabkan oleh resistensi insulin. Ada perbedaan bermakna kadar glukosa puasa tikus normal (kelompok I) dengan tikus obesitas (Kelompok II dan III) (p<0,05). Terdapat perbedaan penurunan kadar glukosa puasa yang berbeda secara bermakna untuk tiap kelompok penelitian (p<0,05). Pada kelompok tikus yang diberi ekstrak meniran terjadi penurunan yang bermakna (p<0,05), sedangkan pada kelompok tikus normal dan obes yang tidak diberi perlakuan ada peningkatan kadar gula darah puasa tetapi tidak bermakna (p>0.05).

Rata-rata kadar trigliserida tikus yang obes sebelum perlakuan > 132,49±1,37 hal ini menunjukkan bahwa semua tikus obesitas mengalami hipertrigliserida yang dipicu oleh obesitas. Ada perbedaan bermakna kadar trigliserida tikus normal (kelompok I) dengan tikus obesitas (Kelompok II dan III) (p<0,05). Terdapat perbedaan penurunan kadar trigliserida yang berbeda secara bermakna untuk tiap kelompok penelitian (p<0,05). Pada kelompok tikus yang diberi ekstrak meniran terjadi penurunan yang bermakna (p<0,05), sedangkan pada kelompok tikus normal dan obes yang tidak diberi perlakuan ada peningkatan kadar gula darah puasa tetapi tidak bermakna (p>0.05).

Tabel 4. Hasil Uji Beda Rerata Tiga Kelompok untuk, Kadar Glukosa Puasa dan Trigliserida

Kelompok	p	
	Delta Kadar Glukosa Puasa	Delta Kadar Trigliserida
Kelompok I – II	0,078 ^{b)}	0,044 ^{a)}
Kelompok I – III	0,004 ^{b)}	0,000 ^{a)}
Kelompok II – III	0,004 ^{b)}	0,000 ^{a)}

^{a)} Uji Post Hoc = Tukey

^{b)} Uji Mann Whitney

Kelompok I : Tikus normal + 1 ml/ekos saline

Kelompok II : Tikus Obes + 1 ml/ekor saline

Kelompok III : Tikus Obes + 400 mg/Kg BB ekstrak air meniran dilarutan dalam saline

Tidak ada perbedaan perubahan kadar glukosa puasa antara kelompok I dan II tetapi ada perbedaan bermakna perubahan kadar glukosa pada kelompok I dan II serta kelompok II dan III ($p>0.05$). Masing-masing perlakuan berbeda secara bermakna untuk perubahan kadar trigliserida ($p>0.05$).

PEMBAHASAN

Kelebihan asam lemak bebas pada obesitas dapat menyebabkan tingginya peroksidasi lipid yang memicu terjadinya inflamasi yang diawali dengan meningkatnya kadar NFKB sehingga kadar TNF- α dan interleukin – 6 ikut naik. Peningkatan kadar TNF- α dan interleukin – 6 akan menurunkan kadar adiponektin yang ada akhirnya menurunkan kadar GLUT-4 sehingga kadar glukosa dalam darah meningkat. Meningkatnya jumlah asam lemak bebas juga akan meningkatkan kadar trigliserida dalam darah, sehingga kadar gliserol dalam trigliserida juga akan akan meningkat yang melalui proses glukoneogenesis dapat diubah menjadi glukosa darah. Meniran dengan nama latin *Phyllanthus niruri* Linn. merupakan tanaman herba tahunan yang dapat hidup di lapangan rumput beriklim tropis telah digunakan sebagai obat di Asia, Afrika dan Amerika Selatan (Mellinger, Carbonero *et al.*, 2005). Analisis fitokimia pada ekstrak meniran memberikan reaksi positif untuk kelompok karbohidrat, alkaloid, flavonoid, glikosida, saponin, steroid dan *tannin* (Okoli, Ibiem *et al.*, 2010) yang memberikan sifat aktivitas antioksidan (Thiangthum, Dejaegher *et al.*, 2012). Berbagai penelitian terhadap ekstrak meniran menunjukkan bahwa ekstrak meniran bersifat hipoglikemik, menurunkan kolesterol dan trigliserida pada tikus yang diinduksi aloksan (Okoli, Obidike *et al.*, 2011) dan yang diinduksi streptozotocin (Nwanjo, 2006), hipotensif pada kelinci jantan (Amaechina and Omogbai, 2007), untuk pencegah dan atau penyembuhan penyakit infeksi dan degeneratif (Oweyo *et al.*, 2012), memperbaiki resistensi insulin pada tikus yang diinduksi 10% sukrosa (Adeneye, 2012), memberikan efek anti apoptosis dan menghambat inflamasi (Kandhare and Gosh, 2013), dan menurunkan berat badan mencit diabetes yang diinduksi aloksan (Adeneye and Amole, 2006; Sheti, *et al.* 2012).

SIMPULAN

Ekstrak air meniran cukup efektif digunakan untuk menurunkan kadar glukosa puasa dan trigliserida serta mengontrol kenaikan berat badan sehingga memperbaiki status obesitas.

DAFTAR PUSTAKA

- Abel, E. Dale. Free fatty acid oxidation in insulin resistance and obesity. *Heart Metab.* 2010; 48:5–10
- Adeneye A.A., Amole, O.O. *et al.* Hypoglycemic and hypocholesterolemi cactivities of the aqueous leaf and seed of *Phyllanthus amarus* in mice. *Fitoterapia.* 2006. 77: 511–514.
- Adeneye, A.A. The Leaf and Seed Aqueous Extract of *Phyllanthus amarus* improves insulin resistance Diabetes in Experimental Animal Sudies. *Journal of Ethnopharmacology.* 2012.144:705-711.
- Amaechina, F.C. and Omogbai, E.K. Hypotensive Effect of Aqueous Extract of The Leaves of *Phyllanthus amarus* Schum and Thonn(Euphorbiaceae). *Acta Poloniae Pharmaceutica ñ Drug Research*, 2007, 64 (6) : 547-552,
- Asare, G.A., Addo, P. *et al.* Acute Toxicity Studies of Aqueous Leaf Extract of *Phyllanthus niruri*. *Interdiscip. Toxicol.* 2011. 4(4):206-210.
- Bernardis LL and Patterson BD. 1968. Correlation between 'Lee index' and carcass fat content in weanling and adult female rats with hypothalamic lesions. *J Endocrinol*, 40: 527- 528.
- Callaghan TS, Hadden DR, Tomkin GH: Megaloblastic anemia due to vitamin B12 malabsorption associated with long-term metformin treatment. *Br Med J* 1980, 280:1214–1215.
- Desilets DJ, Shorr AF, Moran KA, Holtzmuller KC: Cholestatic jaundice associated with the use of metformin. *Am J Gastroenterol* 2001, 96:2257–2258.
- Giribabu, Nelli *et al.* Aqueous extract of *Phyllanthus niruri* leaves displays in vitro antioxidant activity and prevent the elevation of oxidative stress in the kidney of streptozotocin -induced diabetic male rats. *Hindawi Publishing corporation* 2014;3
- Jager J, Kooy A, Lehert P, Wulffelé M, et al: Long term treatment with metformin in patients with type 2 diabetes and risk of vitamin B-12 deficiency: randomized placebo controlled trial. *BMJ* 2010, 340:c2181.
- Kashyap AS, Kashyap S: Haemolytic anaemia due to metformin. *Postgrad Med J* 2000, 76:125–126.
- Klapholz L, Leitersdorf E, Weinrauch L: Leucocytoclastic vasculitis and pneumonitis induced by metformin. *BMJ* 1986, 293:483.
- Metformin LS: Metformin: a review of its pharmacological properties andtherapeutic use. *Diabetes Metab* 1979, 5:233–245.
- Nwanjo, H.U. Studies on The Effect of Aqueous Ectract of *Phyllanthus niruri* leaf on Plasma glucose Level and some Hepatospecific Markers in Diabetic Wistar Rats. *The Internet Journal of Laboratory Medicine.* 2006;2(2);
- Okoli, CO. Ibiam, A.F. *et al.* 2010. Evaluation of Antidiabetic Potentials of *Phyllanthus niruri* in Alloxan Diabetic Rats. *African Journal of Biotechnology.* 9(2):248-259.
- Oweyo, *et.al.* Immunomodulation Capabilities of Aqueous Leaf Extract of *Phyllanthus amarus* in male Wistar Rats. *Report and Opinion*, 2012;4:(1) <http://www.sciencepub.net/report>

- Rojas and Gomes. Metformin: an old but still the best treatment for type 2 diabetes. *Diabetology & Metabolic Syndrome* 2013, 5:6; 1 – 15
- Sheti, *et.al*. Antidiabetic effect of ethanolic leaf extract of *Phyllanthus amarus* in alloxan induced diabetic mice. *Asian Journal of Plant Science and Research*, 2012, 2 (1): 11-15
- Wei Ting RZ, Szeto CC, Chan M, Ma K, et al: Risk Factors of Vitamin B12 Deficiency in Patients Receiving Metformin. *Arch Intern Med* 2006,166:1975–1979.