UJI AKTIVITAS FRAKSI DAUN ASAM JAWA TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI PANKREAS TIKUS PUTIH JANTAN

Nurhayati[1], Sri Mulyani[2], **Nelly T Efendy[1]**
[1] Program Studi S1 Farmasi, STIFA Pelita Mas Palu
[2]Jurusan Kimia Fakultas MIPA Universitas Tadulako,
Email : stifapelitamaspalu@yahoo.co.id

ABSTRACT

This study aims to determine the content of secondary metabolite compounds in the fraction of Tamarind leaf fraction, streptozotocin-induced. The extract was prepared by ethanol 96% macerating then fractionated with n-hexane and ethyl acetate solvents. Hypercholesterol-diabetic animals are feed with high-cholesterol induction and streptozotocin 30 mg / kg BW. The test animals were divided into 6 groups, each group consisting of 5 heads. Group I as normal control given standard feed and Na CMC, Group II was given 0.5 CMC Na 0.5 as negative control, group III was given metformin positive control , group IV was given fraction of n-hexane, group V given fraction of ethyl acetate and group VI given ethanol-water dose fraction respectively 200 mg / kg B. The data obtained were analyzed using Kruskall Wallis test and continued with Mann Whitney test to croprehend know the difference between treatment groups. The results of the analysis showed that the fraction of n-hexane, ethyl acetate fraction and ethanol-water fraction had an effect on histopathologic picture of pancreas and ethanol-water fraction and had better effect on histopathology of pancreas

Keywords: *histopathology pancreas, MaleRats, Tamarind, Solvent variation.*

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder pada fraksi daun asam jawa, yang telah diinduksi streptozotocin. Ekstrak dibuat secara maserasi dengan etanol 96% selanjutnya difraksinasi dengan pelarut *n*-heksan dan etil asetat. Hewan hiperkolesterol-diabetes dibuat dengan induksi pakan tinggi kolesterol dan streptozotocin 30 mg/kg BB. Hewan uji terbagi 6 kelompok, setiap kelompok terdiri dari 5 ekor .Kelompok I sebagai kontrol normal yang diberikan pakan standar dan Na CMC, kelompok II diberikan Na CMC 0,5% sebagai kontrol negatif, kelompok III diberikan metformin sebagai kontrol positif, kelompok IV diberikan fraksi *n*-heksan, kelompok V diberikan fraksi etil asetat dan kelompok VI diberikan fraksi etanol-air dosis masing-masing 200 mg/kg BB. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan uji Kruskall Wallis dan dilanjutkan dengan uji Mann Whitney untuk mengetahui perbedaan diantara perlakuan. Hasil analisis menunjukkan bahwa fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi etanol-air memiliki efek terhadap gambaran histopatologi pankreas dan fraksi etanol-air mempunyai efek lebih baik terhadap gambaran histopatologi pankreas.

Kata kunci: Histopatologi Pankreas, Tikus Putih Jantan, Asam Jawa, Variasi Pelarut

PENDAHULUAN

Obat herbal telah diterimasecara luas oleh hampir seluruh negara di dunia. Menurut *World Health Organization* (*WHO*) negara di Afrika, Asia, dan Amerika Latin menggunakan obat herbal sebagai pelengkap pengobatan primer yang diterima. Faktor pendorong terjadinya peningkatan penggunaan obat herbal di negara maju adalah usia harapan hidup yang lebih panjang pada saat prevalensi penyakit kronik meningkat, adanya kegagalan penggunaan obat modern untuk penyakit tertentu, serta semakin luas akses informasi mengenai obat herbal diseluruh dunia. *WHO* merekomendasikan penggunaan obat tradisional dalam pemeliharaan kesehatan masyarakat, pencegahan dan pengobatan penyakit terutama untuk penyakit kronis, penyakit degeneratif, dan kanker (Junaedi, 2013).

Salah satu penyakit kronis yang menjadi ancaman pada masyarakat yaitu diabetes melitus (DM). DM merupakan gangguan metabolisme dengan karakteristik hiperglikemik. Ada dua tipe DM yaitu DM tipe 1 dan DM tipe 2. DM tipe 1 di sebabkan terjadinya gangguan sekresi insulin akibat kerusakan sel beta (β) pankreas. Mekanisme kerusakan sel β pankreas melibatkan radikal superoksid dan radikal nitrogen oksida (NOx). DM tipe 2 disebabkan gangguan sekresi insulin oleh sel beta pankreas dan gangguan kerja insulin akibat ketidak pekaan jaringan sasaran terhadap insulin. DM juga dapat disebakan oleh penggunaan obat atau zat kimia tertentu. Salah satu obat yang dapat menyebabkan DM karena bersifat toksik terhadap pankreas yaitu streptozotocin dengan mekanisme kerja merusak sel β pankreas karena adanya proses alkilasi atau dekstruksi DNA sel β pankreas lalu *poly ADP ribose polymerase* (*PARP*) akan aktif sehingga menyebabkan deplesi NAD^+ seluler dan ATP lalu terjadi deplesi simpanan energi sel hingga sel β mengalami nekrosis (Sulistyorini, 2015).

Kerusakan sel β merupakan bagian penting dalam patofisiologi terjadinya DM. Ada beberapa teori yang menerangkan bagaimana terjadinya kerusakan sel β ini, diantaranya adalah teori glukotoksisitas, lipotoksisitas dan penumpukan amiloid. Meskipun asam lemak bebas (*Free Fatty Acid*/ *FFA*) merupakan suatu senyawa yang dapat merangsang sekresi insulin namun demikian kelebihan beban asam lemak bebas yang kronik juga dapat menyebabkan kerusakan sel β pankreas. Salah satu bukti bahwa

lipotoksisitas berperan dalam patofisiologi kerusakan sel β adalah ditemukannya penumpukan lemak dari pemeriksaan postmortem pada sel β pankreas pasien DM (Tushuizen, 2007).

Pankreas merupakan organ kelenjar penting dalam tubuh yang terdiri dari jaringan eksokrin dan endokrin. Fungsi pankreas yaitu menghasilkan getah pankres yang mengandung enzim-enzim tripsinogen, amilase dan lipase. Enzim tersebut bercampur dengan bahan makanan di duodenum dan menjalankan fungsi pencernaan di dalam usus, bagian eksokrin terdiri atas sel asinar yang mensekresikan enzim melalui saluran ke duodenum. Sementara, bagian endokrin terdiri dari pulau-pulau Langerhans yang fungsinya menghasilkan hormon insulin yang kemudian diserap masuk ke dalam darah. Insulin di butuhkan untuk metabolisme karbohidrat, lemak dan protein. Adanya senyawa kimia yang masuk ke dalam tubuh dengan dosis tinggi dapat menghancurkan sel-sel pulau Langerhans. Kerusakan ini akan menyebabkan produksi insulin menurun mengakibatkan hiperglikemia (Mycek, 2001).

Tanaman daun asam jawa *(Tamarindus Indica* L*).* mempunyai Khasiat melancarkan peredaran darah, pencahar, penambah nafsu makan, penyejuk, mengobati batuk, demam campak, demam panas, disentri dan diabetes (Hidayat, Samsul. 2015). Daun asam jawa mengandung alkaloid flavonoid, tanin, saponin dan polifenol. (Mun, 2009).

Penelitian sebelumnya menyatakan bahwa ekstrak daun asam jawa (*Tamarindus indica* L) pada dosis 0,0134 g/200 g BB memiliki pengaruh terhadap penurunan kadar kolesterol darah pada tikus putih jantan (Assagaf, Khalilah. 2015). Penelitian tahun 2009 menyatakan bahwa ekstrak daun asam jawa mengandung kadar fenol total yang tinggi yaitu sebesar 0,35-8,24% yang dapat digunakan sebagai antidiabetes. (Mun,2009) Penelitian terdahulu menyatakan bahwa pada dosis 200 mg/kg BB dapat berefek sebagai antidiabetes. (Permatasari,2016)

Penelitian terdahulu tentang histopatologi pankreas ekstrak daun gondola merah (*Basella alba* L.) pada dosis 400mg/kg BB menghasilkan nilai rerata 1,6 (Tandi J, 2017) kemudian pada penelitian ekstrak etanol daun sukun pada dosis 100 mg/kg BB menghasilkan nilai rerata 2 (Tandi J, dkk 2017). Penelitian lain juga menyatakan pada ekstrak daun kenikir pada dosis 200 mg/kg BB menghasilkan nilai rerata 0,33 (Tandi J,

2017).

Berdasarkan latar belakang tersebut maka peneliti tertarik untuk melakukan penelitian lebih lanjut menggunakan fraksi daun asam jawa (*Tamarindus Indica*L*)* terhadap hewan uji dengan dosis yaitu 200 mg / kg BB untuk melihat gambaran histopatologi pankreas tikus putih jantan (*Rattus norvegicus)* diabetes–hiperkolestrolemia. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen laboratorium yang dilakukan dengan melihat gangguan pankreas dari tikus yang diinduksi fraksi daun asam jawa (*Tamarindus Indica* L).

Pembuatan Suspensi Metformin

Dosis metformin pada manusia dewasa adalah 500 mg per hari, jika dikonversi pada tikus dengan berat 200 gram adalah 0,018 maka dosis metformin untuk tikus adalah 9 mg/kg BB. Ditimbang serbuk tablet metformin sebanyak 388 mg kemudian disuspensi dalam Na CMC 0,5% hingga 100 ml. (Tandi J. 2017).

Pembuatan Fraksi Daun Asam Jawa

Ekstrak kental etanol 96% difraksinasi dengan *n*-heksan dan air (1:3) didalam corong pisah dan dikocok secukupnya. Setelah itu dibiarkan sampai terbentuk 2 lapisan yaitur lapisan *n*-heksan dan lapisan air. Perlakuan dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan sehingga di peroleh fraksi *n*-heksan. Lapisan air kemudian di fraksinasi dengan etil asetat (1:3) sebanyak 3 kali pengulangan seperti perlakuan di atas sehingga di peroleh fraksi air dan fraksi etil asetat. Semua fraksi air, etil asetat dan *n*-heksan diuapkan secara in vacuo.(Tandi J. 2017).

Pembuatan Sediaan Histologi Pankreas

Setelah pankreas dikeluarkan dari tubuh mencit, dilakukan pembuatan preparat pankreas dengan langkah sebagai berikut: sampel pankreas yang telah diambil lalu di fiksasi dengan larutan formalin 10% selama3-4 jam. Setelah itu dilakukan dehidrasi dengan aseton sebanyak 3 kali, masing-masing selama 2 jam, dilakukan *cleaning*(pembersihan) menggunakan toluen sebanyak 3 kali, masing- masing selama 1-2 jam, selanjutnya dilakukan proses *embedding* yaitu perendaman sampel di paraffin cair dengan suhu 60^0C sebanyak 3 kali, masing-masing selama 2 jam, lalu dilakukan proses pencetakan blok paraffin. Blok parafin yang terbentuk diiris menggunakan alat mikrotom sehingga menghasilkan lembaran yang ketebalannya 2 µm, lalu lembaran tersebut diletakkan di penangas air dengan suhu 30^0C, lembaran yang telah direndam dalam penangas dilengketkan pada objek

glas, lalu sampel tersebut dipanaskan di oven selama 2-3 menit. (Tandi J, 2017).

Analisis Data

Data hasil pengamatan yang diperoleh berupa kadar glukosa darah yang diukur menggunakan glucometer *accu chek* lalu dianalisis menggunakan non parametik uji *Kruskall Wallis* dan dilanjutkan dengan uji *Mann Whitney* untuk mengetahui perbedaan diantara perlakuan. Data analisis menggunakan SPSS 23. Kemudian data scoring kerusakan pulau Langerhans pancreas diamati menggunakan mikroskop Olympus CX21, sebagai rujukan untuk analisis secara deskriptif keadaan fisik dari kerusakan pankreas (Tandi J. 2017)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tabel 1.Hasil Uji Penapisan Fitokimia Ekstrak Fraksi daun asam jawa

Kelompok perlakuan	Tikus	Skoring perlakuan					Rata-rata±SD kerusakan
		0	1	2	3	4	
Kelompok Normal	1	0	-	-	-	-	0±0
	2	0	-	-	-	-	
	3	0	-			-	
	4	0	-	-	-	-	
	5	0	-	-	-	-	
Kontrol sakit(Na.CMC 0,5%)	1	-	-	2		-	2,8±0,836
	2	-	-	-	3		
	3	-	-	2	-		
	4	-	-	-	3		
	5					4	
Kontrol positif (Metformin)	1	-	1	-	-	-	0,6±0,547
	2	0	-	-	-	-	
	3	0	-	-	-	-	
	4	-	1	-	-	-	
	5	-	1	-	-	-	
Kelompok *n*-heksan	1	-	-	-	3	-	2,6±0,547
	2	-	-	-	3	-	
	3	-	-	-	3	-	
	4	-	-	2	-	-	
	5	-	-	2	-	-	
Kelompok etil asetat	1	-	1	-	-	-	2±0,707
	2	-	-	2	-	-	
	3	-	-	2	-	-	
	4	-	-	2	-	-	
	5	-	-	-	3	-	
Kelompok etanol air	1	-	1	-	-	-	0,8±0,447
	2	-	0	-	-	-	
	3	-	1	-	-	-	
	4	-	1	-	-	-	
	5	-	1	-	-	-	

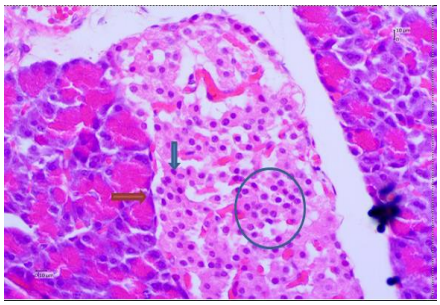
Tabel 2.Skoring Tingkat Kerusakan Pankreas

No	Kandungan kimia	Pereaksi	Fraksi Asam Jawa		
			Fraksi *n*-heksan	Fraksi Etil Asetat	Fraksi Etanol air
1.	Alkaloid	Dragendrof	+	+	+
2.	Flavonoid	HCl pekat dan logam Hg	-	+	+
3.	Saponin	Dikocok + HCl 2 N	-	+	+
4.	Tanin	$FeCl_3$	-	-	+
5.	Polifenol	$FeCl_{3\ 5\%}$	-	+	+

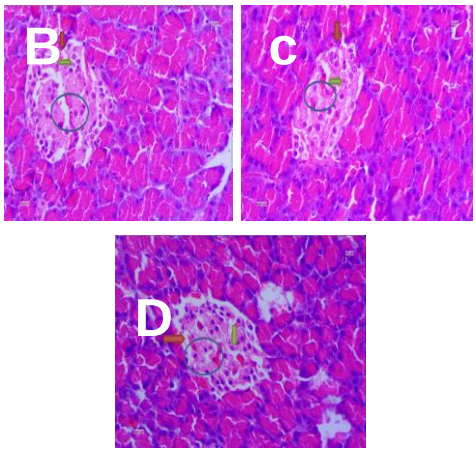
Keterangan : (+) : mengandung golongan senyawa yang diuji
(-) : tidak mengandung senyawa yang diuji

Hasil Pengamatan Histologi Sel Pankreas Tikus Putih Jantan Dengan Pewarnaan Hemaktosilin-Eosin Berdasarkan Skoring

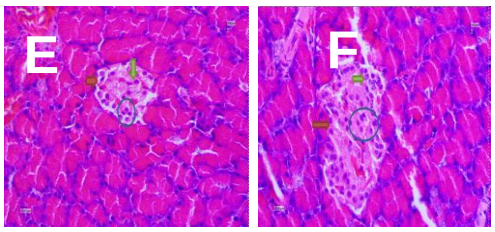
Gambaran hasil pengamatan terhadap organ pancreas tikus secara mikroskopis yang memperlihatkan adanya perbedaan gambaran histopatologi pancreas berdasarkan scoring tingkat kerusakan dengan pewarnaan HE.



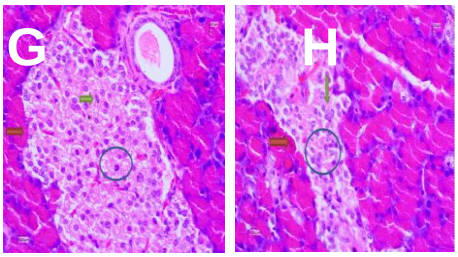
Gambar 1.Histopatologi pankreas skor 0 pada kelompok normal dengan pewarnaan H&E Skala 100µm



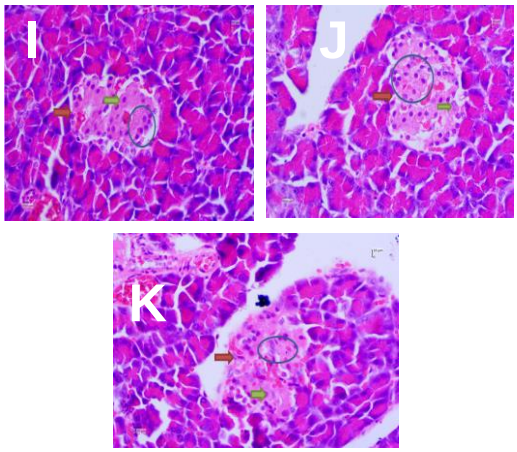
Gambar 2. Histopatologi pankreas skor 2 (B), skor 3 (C), dan skor 4 (D) pada kelompok sakit dengan pewarnaan H&E Skala 100µm



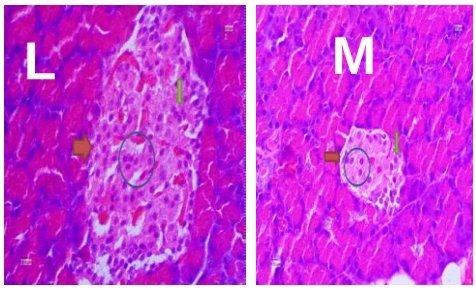
Gambar 3. Histopatologi pankreas skor 0 (E) dan skor 1 (F) pada kelompok positif dengan pewarnaan H&E Skala 100µm



Gambar 4. Histopatologi pankreas skor 2 (G), dan 3 (H), *n*-heksan dengan pewarnaan H&E Skala 100µm



Gambar 5. Histopatologi pankreas skor 1 (I), 2 (J) dan 3 (k) pada kelompot etil asetat dengan pewarnaan H&E Skala 100µm



Gambar 6 Histopatologi pankreas skor 0 (L) dan 1 (M), pada kelompok etanol air dengan pewarnaan H&E Skala 100µm.

Pembahasan

Bahan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun asam jawa (*Tamarindus indica* L*)* yang diperoleh di Kelurahan Birobuli Kecamatan Palu Selatan Provinsi Sulawesi Tengah, tujuan dilakukan determinasi adalah untuk memastikan jenis daun asam jawa yang digunakan. Determinasi dilakukan di UPT. Sumber Daya Hayati Sulawesi, Universitas Tadulako. Hasil determinasi menunjukkan bahwa benar daun asam jawa yang digunakan adalah daun asam jawa (*Tamarindus indica* L*).*

Pengamatan preparat histologi pankreas tikus putih (*Rattus novergicus)* yang diinduksi streptozotocin dan pemberian fraksi daun asam jawa (*Tamarindus indica* L).Dengan dosis 200 mg/kg BB dilakukan menggunakan miskroskop cahaya dengan perbesaran 400x. Dari data skoring tingkat kerusakan pankreas pada tabel 1, diperoleh rata-rata tingkat kerusakan pankreas yaitu kontrol normal (0), kontrol negatif (2,8), kontrol positif (0,6), kontrol N-Heksan (2,6), kontrol Etil Asetat (2), kontrol Etanol Air (0,8). Pada tabel tersebut terlihat bahwa kontrol negatif mengalami tingkat kerusakan yang paling tinggi di antar semua perlakuan.

Hasil gambaran histopatologi jaringan pankreas tikus putih jantan yaitu pada kelompok normal tidak mengalami perubahan dari batas pulau langerhans, jumlah selnya masih normal, tidak terjadi nekrotik dan bentuk selnya masih normal. Hal ini terjadi karena pada kelompok normal,hewan uji tidak diberikan perlakuan. Pada kelompok kontrol negatif batas organ pulau langerhans sangat tidak jelas, jumlah sel banyak berkurang serta hampir keseluruhan sel terjadi nekrotik. Hal ini terjadi karena hewan uji diinduksi menggunakan streptozotocin, dimana streptozotocin mampu memproduksi radikal bebas pada tubuh yang secara spesifik merusak rantai DNA pada sel beta pankreas yang mengakibatkan gangguan fungsi dan kehancuran sel beta pankreas dalam pulau langerhans melalui nekrosis (Akpan, J.O,1987).Pada kontrol positif batas sel masih jelas, jumlah sel sedikit berkurang terjadi degenerasi namun bentuk selnya masih normal. Hal ini

menunjukaan adanya perbaikan tingkat kerusakan jaringan pankreas dibandingkan dengan kontrol negatif. Pada kelompok fraksi *n*-heksan dosis 200 mg/kg BB batas sel tidak jelas, jumlah sel berkurang, nekrotik sel mulai terlihat dengan bentuk sel tidak normal. Hasil ini menunjukkan adanya penurunan kerusakan dibandingkan dengan kontrol negatif tetapi penurunan kerusakannya kecil. kelompok fraksi eti asetat dosis 200 mg/kg BB batas mulai tidak jelas, jumlah sel berkurang, degenerasi sel tetapi bentuk normal, nekrosis sel mulai terlihat dengan bentuk sel tidak normal. menunjukkan adanya penurunan tingkat kerusakan dibandingkan dengan kontrol negatif. Pada kelompok fraksi etanol air dosis 200 mg/kg BB normal tidak ada perubahan dari batas organ pulau langerhans, jumlah sel normal, nekrotik sel tidak ada dan bentuk sel normal, batas jelas, degenerasi sel tetapi bentuk normal. Hal ini disebabkan karena fraksi etanol-air memiliki kandungan senyawa flavonoid yang lebih banyak dan berada dalam konsentrasi terbaik untuk berikatan dengan reseptor sehingga reseptor dapat berikatan lebih lama dengan obat sehingga memberikan efek terhadap gambaran histopatologi pankreas tikus dan dapat meregenerasi kembali sel yang mengalami kerusakan. Hal ini sesuai dengan literatur yang menyatakan bahwa flavonoid merupakan seyawa yang lebih banyak larut dalam fraksi etanol-air. (Isa Ishak. 2010).

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian maka dapatdisimpulkan bahwa:

Senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam fraksi daun asam jawa (*Tamarindus Indica* L) adalah alkaloid, flavonoid, saponin, tanin dan polifenol.

Fraksi daun asam jawa (*Tamarindus Indica* L)memiliki efek terhadap gambaran histopatologi pankreas yang dilihat dari tingkat kerusakan sel beta pangkreas tikus putih jantan (Rattus novergicus) hiperkolesterolemia diabetes

Pemberian fraksi etanol air daun asam jawa dosis 200 mg/kg BB terhadap tikus putih jantan (Rattus novergicus) hiperkolesterolemia diabetes mempunyai efek lebih baik terhadap gambaran histopatologi pankreas yang dilihat dari kerusakan sel beta pankreas.

Saran

Fraksi daun asam jawa dapat dijadikan sebagai modalitas terapi pada penderita diabetes melitus tipe 2, namun masih memerlukan penelitian dengan rancangan penelitian yang

lebih baik dan waktu penelitian lebih lama.

Perlu penelitian lebih lanjut untuk melihat ada tidaknya potensi toksisitas pada fraksi daun asam jawa

Daftar pustaka

Akpan, J.O., Wright, P.H., Dulin, W.E. 1987. A comparison of the effects of streptozotocin, N-methylnitrosourea and alloxan on isolated islets of Langerhans, Diabetes & Metabolism, 13(2). Hal 122-128.

Assagaf, Khalilah. 2015. Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Daun Asam Jawa *(Tamarindus indica Linn)* Terhadap Penurunan Kadar Kolestrol Darah Tikus Putih Jantan Galur Wistar *(Rattus novergicus).*Jurnal ilmiah farmasi.Vol 4 (3). Hal 62

Isa Ishak. 2010. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid dari Buah Jamblang (*Syzygium cumin*)

Junaedi E, Yulianti U, Gustia Mira R. 2013. Hipertensi Kandas Berkat Obat Herbal. Jakarta Selatan: FMedia (Imprint AgroMedia Pustaka). Hal 24-25

Mun, A. Dan Hanani, E. (2009) "Karakterisasi Ekstrak Etanolik Daun Asam Jawa (Tamarindus Indica L .)," Vi(1), Hal. 38–44.

Mycek, Marry J. 2001. Farmakologi Ulasan Bergambar Edisi Kedua. Jakarta : Widya medika. Vol 2. Hal 259-260

Permatasari, Diah. *Efek Antidiabetes ekstrak etanol daun asam jawa (tamarindus indica Linn.) terhadap tikus putih jantan (Rattus novergicus) yang diinduksi streptozotocin*.Jurnal ilmiah. Hal 10

Sulistyorini R, Sarjadi, Johan A, Djamiatun K. 2015. Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera*) pada Ekspresi Insulin dan Insulitis Tikus Diabetes Melitus. MKB Volume 47 No. 2. Hal: 70

Tandi J, Hanifah, M., Yuliet., Yusriadi. 2017. *Efektivitas Ekstrak Daun Gedi Merah Terhadap Glukosa Darah, Malondialdehid, 8-Hidroksi-Deoksiguanosin, Insulin Tikus Diabetes*. J.Trop. Pharm. Chem.$_{P}$-ISSN : 2087-7099, $_{e}$-ISSN :2407-6090 Volume 3 No. 4 hal 265-266.

Tandi J, As'ad S, Natzir R, Bukhari A. 2016. Test of Ethanolextract Red Gedi Leaves (Albelmoschus Manihot. (L.) Medik) in White Rat (Rattus Norvegicus) Type 2 Diabetes Mellitus. ISSN 2307-4531 Volume 30.Hal 84-94

Tandi J. Effect Of Ethanol Extract Gondola Leaf (*Basella alba* L) On Decreasing Blood Glucose Condition and Histopatology Pancreas White Rats (*Rattus norvegicus*) Indicated Streptozotocin. JIMR. Journal of Islamic Medicine Research.2017. E-ISSN : 2580 927X. Hal: 15-25.

Tandi Joni,Rizki M.,Mariani R., Alan F.2017. *Uji Efek Ekstrak Etanol Daun sukun Articarpusaltilis* (Parkinson Ex F.A.Zorm) *Terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah, Kolesterol Total Dan Gambaran HistoPatologi Pankreas Tikus Putih Jantan Hiperkolesterolemia-Diabetes.*Jurnal Sains Dan Kesehatan$_{P}$-ISSN: 2303-0267, $_{e}$-ISSN: 2407-6082. V0l 1. No 8.

Tandi j, Wulandari A, Asrifa 2017. Efek Ekstrak Etanol Daun Gendola Merah (*Basella alba* L.) terhadap Kadar Kreatinin, Ureum dan Deskripsi Histologis Tubulus Ginjal Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus)* Diabetes yang diinduksi Streptozotocin. $_{P}$ISSN: 1907:7378, $_{e}$ISSN 2599:1558.Vol xlv. No.2.Hal: 93-102.

Tushuizen M, Mari A, Bunck M. *Pancreatic Fat Content and B-Cell Function in Men With and*

Without Type 2 Diabetes. Pathophysology/Complications. Original Article. Diabetes Care Volume 30 Number 11.