

Dosis Efektif Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lamk.) untuk Menurunkan Kadar Kolesterol Total Tikus Wistar Jantan yang Diinduksi Streptozotocin

Effective Dose of Moringa Leaf Extract (*Moringa oleifera* Lamk.) to Decrease Total Cholesterol Levels in Streptozotocin-Induced Male Wistar Rats

Pipiet Wulandari^{1,2}, Suryono², Ali Santoso², Athiyah Fi Ramadani³

¹Department of Physiology, Faculty of Medicine, University of Jember, Jember, Indonesia

²Department of Internal Medicine, Faculty of Medicine, University of Jember/dr. Soebandi General Hospital Jember, Jember, Indonesia

³Department of Medical Sciences, Faculty of Medicine University of Jember, Jember, Indonesia

Article Info

Article History:

Received: October 10, 2021

Accepted: April 26, 2022

Published: June 26, 2022

*) Corresponding author:

E-mail: pipiet_wulandari@unej.ac.id

How to cite this article:

Wulandari P., Suryono., Santoso A., Ramadani A.F. (2022). Effective Dose of Moringa Leaf Extract (*Moringa oleifera* Lamk.) to Decrease Total Cholesterol Levels in Streptozotocin-Induced Male Wistar Rats. *Journal of Agromedicine and Medical Sciences*, 8(2), 102-107
<https://doi.org/10.19184/ams.v8i2.2740>
2

Abstrak

Hiperlipidemia merupakan disfungsi dari metabolisme lipid yang ditandai oleh meningkatnya seluruh profil lipid. Prevalensi hiperlipidemia secara global pada tahun 2019 mencapai 64,2%. Hiperlipidemia banyak terjadi pada pasien dengan *diabetes mellitus*. Terjadinya diabetes melitus disebabkan oleh defek produksi insulin dan ditandai dengan hiperglikemia. Hiperglikemia dalam penelitian ini diakibatkan injeksi streptozotocin dosis 45 mg/kgBB secara intraperitoneal. Hiperglikemia dalam waktu lama berakibat hiperlipidemia, disebabkan peningkatan sintesis lipid sehingga memproduksi HMG-CoA dan ROS secara berlebihan. Daun kelor mengandung zat aktif antioksidan seperti flavonoid dan vitamin C. Tujuan penelitian ini yaitu mengetahui dosis efektif ekstrak daun kelor yang dapat menurunkan kadar kolesterol total tikus wistar jantan yang menjadi kondisi diabetes dengan diinduksi streptozotocin. Pemberian dosis ekstrak daun kelor dibagi menjadi 5 kelompok yaitu 62,5 mg/kgBB, 125 mg/kgBB, 250 mg/kgBB, 500 mg/kgBB, dan 1000 mg/kgBB. Hasil uji korelasi Pearson menunjukkan $p < 0,05$, membuktikan bahwa pemberian ekstrak daun kelor memiliki hubungan dengan menurunnya kadar kolesterol tikus wistar jantan. Dosis efektif ekstrak daun kelor dihitung menggunakan uji regresi linier. Persamaan yang didapat dari uji regresi yaitu $y = 0,0739x + 153,59$ dengan nilai Y 114.4mg/dl, sehingga dosis ekstrak daun kelor yang efektif menurunkan kadar kolesterol total tikus wistar jantan adalah 528,96 mg/kgBB.

Kata Kunci: hiperlipidemia, *diabetes mellitus*, kolesterol, *Moringa oleifera* Lamk., streptozotocin

Abstract

Lipid metabolic disorder in hyperlipidemia characterized by an increase in the entire lipid profile in the blood. In 2019, the global prevalence of hyperlipidemia was 64.2%. Many patients with *diabetes mellitus* developed to hyperlipidemia. *Diabetes mellitus* characterized by hyperglycemia that caused by insulin production defects or decreased insulin resistance. Hyperglycemia in this study resulted from the injection of a streptozotocin dose of 45mg/kgBB intraperitoneally. Hyperglycemia could induced hyperlipidemia. It is due to increased lipid synthesis resulting in overproduction of HMG-CoA and ROS. Moringa leaves contain active substances such as flavonoids and vitamin C that act as antioxidants. This study was conducted to find out the effective dose of moringa leaf extract to lower the total cholesterol levels of male Wistar rats induced by



streptozotocin. The dose of moringa leaf extract was divided into 5 groups, namely 62.5 mg/kgBW, 125 mg/kgBW, 250 mg/kgBW, 500 mg/kgBW, and 1000 mg/kgBW. The analysis of the data in this study was a Pearson correlation test that showed $p < 0.05$. It demonstrated that administration of moringa leaf extract correlated with decreased cholesterol levels in male Wistar rats. The effective dose of moringa leaf extract was calculated using a linear regression test. The equation obtained from the regression test was $y = 0.0739x + 153.59$, so the dose of moringa leaf extract that effectively lowers the total cholesterol levels of male Wistar rats was 528.96 mg/kgBW.

Keywords: hyperlipidemia, diabetes mellitus, cholesterol, moringa, *Moringa oleifera* Lamk., streptozotocin

Pendahuluan

Peningkatan kadar kolesterol pada pasien dengan *diabetes mellitus* merupakan kondisi yang umum terjadi. Peningkatan tersebut lebih lanjut akan meningkatkan faktor risiko terhadap kelainan kardiovaskuler (Petrie et al., 2018). Kondisi *diabetic dyslipidemia* mendukung adanya hubungan antara terjadinya resistensi insulin dan peningkatan kadar lipid (Kholidha et al., 2018). Penelitian yang dilakukan pada pasien dengan diabetes dengan mengukur kadar gula darah, hemoglobin A1c dan profil lipid menunjukkan hubungan yang positif antara peningkatan kadar gula darah dan semua komponen profil lipid (Snipelisky & Ziajka, 2012).

Diabetes mellitus dan hiperlipidemia merupakan dua faktor risiko mayor terjadinya kejadian kardiovaskuler (Budiman et al., 2015). Terapi terhadap kedua kondisi ini merupakan komponen penting dalam pencegahan kejadian kardiovaskuler. Regimen terapi farmakologis yang direkomendasikan telah banyak dilakukan dalam praktik klinis, namun penelitian yang bertujuan mengendalikan kadar kolesterol masih terus dilakukan seperti penghambatan terhadap *Proprotein Convertase Subtilisin-Kexin 9* (PCSK9) (Ezeh et al., 2021). Efek berbagai bahan herbal terhadap perubahan profil lipid termasuk *Moringa oleifera* juga dilakukan. Beberapa penelitian menunjukkan potensi penurunan profil lipid dengan ekstrak *c* (Aborhyem et al., 2016). Efek hipolipidemik juga ditunjukkan pada hewan coba yang hiperlipidemia karena diinduksi oleh diet tinggi lemak (Jain et al., 2010). Penurunan profil lipid juga terjadi pada tahap awal kondisi *diabetes mellitus* (Tollo et al., 2016).

Kelor (*Moringa oleifera* Lamk.) adalah salah satu jenis tanaman di Indonesia dengan kandungan senyawa aktif seperti flavonoid yang berupa quercetin dan vitamin C (Lin et al., 2018). Antioksidan dalam daun kelor dapat menurunkan kadar kolesterol melalui peningkatan aktivasi enzim *cholesterol 7 α -hydroxylase* (CYP7A1), menghambat produksi *3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A* (HMG-CoA), dan menurunkan kadar (*Reactive Oxygen Species*) ROS (Krisnadi, 2015). Efek *antihyperglycemic* dan *antidyslipidemic* serta studi mengenai keamanan dan efikasi *Moringa oleifera* telah dilakukan (Stohs & Hartman, 2015). Penelitian ini menggunakan streptozotocin (STZ) yang secara luas telah digunakan sebagai agen yang menginduksi kondisi diabetes pada model hewan coba tikus oleh karena efek sitotoksik pada sel β -pankreas (Goud & Swamy, 2015). Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan mengetahui dosis

efektif ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) untuk menurunkan kadar kolesterol total tikus wistar jantan yang telah diinduksi STZ.

Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan *true experimental design* dengan rancangan *pre and posttest only control group design* yang dilakukan pada bulan November 2019 sampai Januari 2020 dan telah mendapatkan persetujuan dari komite Etik, Fakultas Kedokteran Universitas Jember (No. 1.419/H25.1.11/KE/2020). Sebanyak 28 ekor tikus wistar (*Rattus norvegicus*) jantan dengan usia 2-3 bulan dan berat 200-350 gram, dikelompokkan menjadi 7 kelompok menggunakan metode *simple random sampling*. Kelompok tersebut yaitu kelompok normal yang tidak diinduksi dengan STZ dan diberikan *normal saline* (N), kontrol negatif yang diinjeksi STZ dan diberikan *normal saline* (KN-), perlakuan 1 yang diinjeksi STZ dan diberikan ekstrak daun kelor 62,5 mg/kgBB (K1), perlakuan 2 yang diinjeksi STZ dan diberikan ekstrak daun kelor 125 mg/kgBB (K2), perlakuan 3 yang diinjeksi STZ dan diberikan ekstrak daun kelor 250 mg/kgBB (K3), perlakuan 4 yang diinjeksi STZ dan diberikan ekstrak daun kelor 500 mg/kgBB (K4), dan perlakuan 5 yang diinjeksi STZ dan diberikan ekstrak daun kelor 1000 mg/kgBB (K5). Induksi tikus menggunakan STZ, yaitu untuk setiap 200 gram tikus diberikan STZ dengan dosis sebesar 45 mg/kgBB secara intraperitoneal. Ekstrak daun kelor didapatkan dengan metode maserasi dan dilarutkan dalam etanol 96%.

Normalitas distribusi data pada penelitian ini diuji dengan Saphiro-wilk dan homogenitas menggunakan uji Levene. Uji korelasi data menggunakan Pearson karena data terdistribusi normal. Dilakukan uji regresi kuadratik untuk menentukan dosis efektif ekstrak daun kelor dalam menurunkan kadar kolesterol total.

Hasil Penelitian

Rerata kadar glukosa pada tikus ditunjukkan pada Tabel 1. Rerata kadar glukosa *pre-test* menunjukkan hasil kadar glukosa tikus pada semua kelompok perlakuan dalam batas normal (50-135 mg/dL) (Wolfensohn, 2013). Hasil pemeriksaan glukosa pada kelompok yang tidak diinduksi oleh STZ/ kelompok N menunjukkan nilai glukosa tetap normal sedangkan kelompok yang diinjeksi dengan STZ

Tabel 1. Kadar glukosa pre dan posttest

Kelompok	Pre-Test (mg/dL)	Post Test (mg/dL)
N	84,25±12,74 ¹⁾	86,5±6,14
KN- (STZ)	99±10,10	543,5±63
K1 (STZ+EDK 62,5 mg/kgBB)	78±7,07	511,75±140,94
K2 (STZ+EDK 125 mg/kgBB)	100±10,86	552,25±63,07
K3 (STZ+EDK 250 mg/kgBB)	92,75±9,22	510,25±124,05
K4 (STZ+EDK 500 mg/kgBB)	88,25±15,65	521,75±71,03
K5 (STZ+EDK 1000mg/kgBB)	100,5±9,40	536,75±126,50

¹⁾ nilai rata-rata dari 4 replikasi

Tabel 2. Kadar kolesterol total pre dan post test

Kelompok	Pre Test (mg/dL)	Post Test (mg/dL)
N	127,5±11,62 ¹⁾	114,5±13,48
KN- (STZ)	212±10,33	189,75±11,38
K1 (STZ+EDK 62,5 mg/kgBB)	173±23,62	159,5±10,60
K2 (STZ+EDK 125 mg/kgBB)	200,25±30,35	142,75±17,65
K3 (STZ+EDK 250 mg/kgBB)	177,5±34,6	122,25±16,01
K4 (STZ+EDK 500 mg/kgBB)	190,5±22,72	119±13,11
K5 (STZ+EDK 1000mg/kgBB)	208,25±27,55	81,25±14,24

¹⁾ nilai rata-rata dari 4 replikasi

menjadi hiperglikemi. Setelah tikus mengalami hiperglikemia akibat induksi streptozotisin, tikus diberikan sonde ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera* Lamk.) selama 28 hari. Pemberian ekstrak daun kelor bertujuan untuk menurunkan kadar kolesterol total tikus wistar. Hasil pengukuran kadar kolesterol ditunjukkan pada Tabel 2.

Data tersebut menunjukkan rerata kadar kolesterol total tikus wistar sebelum dan sesudah diberi ekstrak daun kelor, yaitu nilai terendah penurunan kadar kolesterol total didapatkan pada kelompok KN-, sedangkan nilai tertinggi dari penurunan kadar kolesterol didapatkan pada kelompok K5.

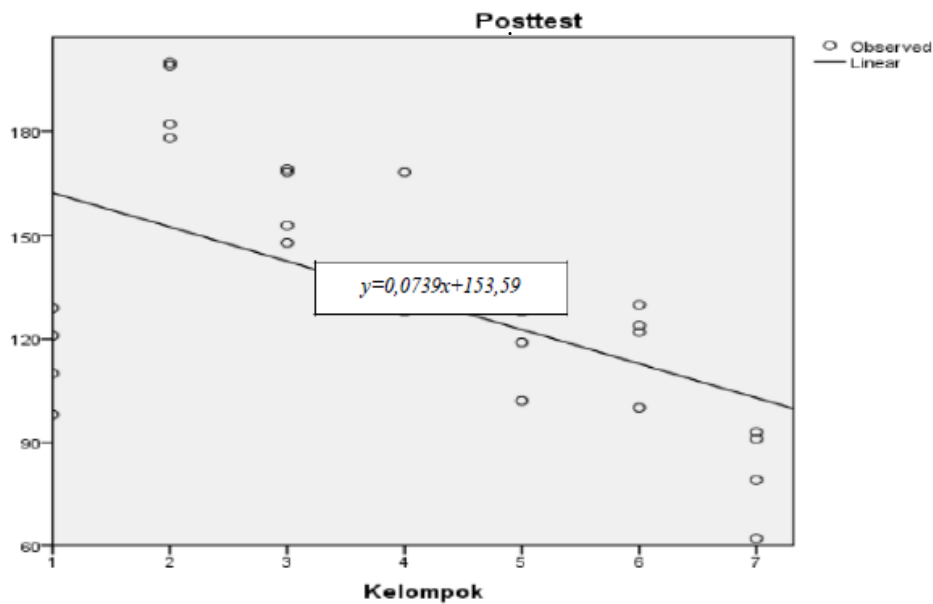
Berdasarkan uji normalitas dan homogenitas didapatkan p value >0,05 sehingga data terdistribusi normal dan varian data homogen. Hasil p value pada uji korelasi Pearson adalah 0,000 ($p < 0,05$), hal ini menunjukkan pemberian ekstrak daun kelor memiliki hubungan yang bermakna dengan penurunan kadar kolesterol total tikus wistar.

Dosis efektif ekstrak daun kelor yang menghasilkan respon menurunkan kadar kolesterol total tikus dihitung menggunakan uji regresi yang menunjukkan koefisien determinan $R^2 = 0,917$, artinya pemberian ekstrak daun kelor berpengaruh terhadap penurunan kadar kolesterol

sebesar 91,7%, sedangkan 8,3% lainnya dipengaruhi oleh variabel lain yang tidak diteliti. Kurva uji regresi ditampilkan pada gambar 1. Berdasarkan kurva uji regresi tersebut didapatkan persamaan $y = 0,0739x + 153,59$ yang kemudian dihitung dengan memasukkan nilai $y = 114,5$ mg/dL sebagai target dari kadar kolesterol total tikus yang diambil dari rerata kadar kolesterol total kelompok normal. Dosis efektif ekstrak daun kelor yang didapat dari persamaan tersebut adalah 528,96 mg/kgBB.

Pembahasan

Induksi tikus wistar dengan injeksi STZ pada penelitian ini dapat menggambarkan kondisi *diabetic dyslipidemia*, yaitu ditunjukkan dengan peningkatan kadar glukosa dan peningkatan kadar kolesterol total pasca induksi. Streptozotisin memasuki sel- β pankreas melalui *glucose transporter-2* (GLUT 2). Sel- β pankreas yang rusak menyebabkan resistensi insulin dan pada akhirnya menjadi *diabetes mellitus*. Pada penelitian oleh Kusunoki *et al.* (2000), aktifitas *acyl-coenzyme A transferase* (ACAT) 2-3 kali lebih tinggi pada tikus yang diinduksi menjadi diabetes dibandingkan tikus normal pada 7-21 hari setelah injeksi STZ walaupun tanpa diberikan pakan tinggi lemak sehingga kolesterol total



Gambar 1. Kurva uji regresi linier antara kelompok N (kelompok 1), KN (kelompok 2), K1-K5 (kelompok 2-7) dan kadar kolesterol

lebih tinggi dibandingkan tikus normal.

Penelitian ini juga menunjukkan potensi penurunan kadar kolesterol seiring dengan peningkatan dosis ekstrak daun kelor. Penurunan kadar kolesterol total pasca pemberian ekstrak daun kelor ditunjukkan mulai dari dosis 62,5 mg/kgBB hingga dosis 1000 mg/kgBB. Namun, dosis 62,5 mg/kgBB (K1) dan dosis 125 mg/kgBB (K2) tidak menurunkan kolesterol hingga batas normal. Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan dosis *Moringa oleifera* yang mulai memberi efek menurunkan kadar kolesterol total tikus yaitu dosis 250 mg/kgBB, dan penelitian Nada *et al.* (2015) yaitu dosis 300 mg/kgBB.

Pada dosis 250 mg/kgBB (K3), 500 mg/kgBB (K4), dan 1000 mg/kgBB (K5) penurunan yang terjadi dapat mencapai rentang kadar normal dari kolesterol total (40-130 mg/dL). Penelitian Tanuwijaya (2020) juga membuktikan dosis ekstrak daun kelor yang dapat menurunkan kadar *serum glutamic oxaloacetic transaminase* (SGOT) dan *serum glutamic pyruvic transaminase* (SGPT) tikus wistar jantan yaitu dosis 500 mg/kgBB dan 1000 mg/kgBB. Kedua dosis tersebut menurunkan kadar SGOT dan SGPT lebih optimal dibanding dosis 62,5 mg/kgBB, 125 mg/kgBB, dan 250 mg/kgBB.

Penurunan kadar kolesterol total pada tikus tersebut disebabkan oleh kandungan antioksidan yaitu flavonoid yang berupa kuersetin dan vitamin C. Berdasarkan Buku Kandungan Nutrisi Tanaman Kelor Fakultas Farmasi Universitas Surabaya tahun 2019, vitamin yang terkandung paling banyak pada daun kelor adalah vitamin C yaitu sebesar 271 mg/100 gram (Rani *et al.*, 2019). Sedangkan penelitian Susanty *et al.*,

2019 membuktikan kandungan flavonoid berupa kuersetin ekstrak daun kelor yaitu 245,771 mg/L melalui metode sokletasi. Patomekanisme kedua zat tersebut dalam menurunkan kadar kolesterol dengan cara dua jalur yaitu jalur eksogen dan endogen. Flavonoid dan vitamin C pada jalur eksogen menghambat katabolisme Triglicerida dan β -Hydroxy β -methylglutaryl-CoA (HMG-CoA), dengan cara meningkatkan kinerja enzim CYP7A1 sehingga *low-density lipoprotein* (LDL) dipecah menjadi asam empedu, sedangkan pada jalur endogen flavonoid dan vitamin C menghambat regulasi *phosphodiesterase* (PDE) di dalam hati. PDE yang terhambat meningkatkan kadar *cyclic adenosine monophosphate* (cAMP) yang menyebabkan pengaktifan protein kinase A (PKA) dan *CCAAT-enhancer-binding proteins α* (C/EBP α). PKA merangsang TGH yang terlibat dalam hidrolisis lipid dan C/EBP α merupakan faktor transkripsi yang mengatur serangkaian gen yang terlibat dalam metabolisme lipid (Janda *et al.*, 2016).

Penelitian ini menunjukkan potensi penurunan kadar kolesterol yang dihasilkan dengan peningkatan dosis ekstrak daun kelor. Dosis efektif didapat dari persamaan uji regresi yaitu sebesar 528,96 mg/kgBB. Penghitungan dosis efektif ekstrak daun kelor sebagai suplemen untuk penderita *diabetes mellitus* yang disertai peningkatan kadar kolesterol total memerlukan penelitian lebih lanjut.

Kesimpulan

Penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun kelor dapat menurunkan kadar kolesterol total

tikus wistar jantan model *diabetes mellitus* yang diinduksi STZ 45 mg/kgBB dengan dosis efektif sebesar 528,96 mg/kgBB.

Ucapan Terima Kasih

Peneliti mengucapkan terimakasih kepada laboratorium Biokimia dan Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Konflik Kepentingan

Tidak ada konflik kepentingan dalam artikel ini.

Kontribusi Penulis

PW, S dan AS menyusun konsep penelitian, analisis data, interpretasi data, dan revisi akhir naskah. AFR melakukan pengambilan data di lapangan, dan analisis data. PW dan AFR menyiapkan naskah.

Daftar Pustaka

Aborhyem, S. et al. (2016) 'Effect of Moringa Oleifera on Lipid Profile in Rats', *Journal of High Institute of Public Health*, 46(1), pp. 8–14. <http://doi.org/10.21608/jhiph.2016.20201>.

Budiman, B., Sihombing, R. and Pradina, P. (2015) 'Hubungan Dislipidemia, Hipertensi Dan Diabetes Melitus Dengan Kejadian Infark Miokard Akut', *Jurnal Kesehatan Masyarakat Andalas*, 10(1), p. 32. <http://doi.org/10.24893/jkma.v10i1.160>.

Ezeh, K. J. and Ezeudemba, O. (2021) 'Hyperlipidemia: A Review of the Novel Methods for the Management of Lipids', *Cureus*, 13(7). <http://doi.org/10.7759/cureus.16412>.

Goud, B. J. and Swamy, Bk. (2015) 'Streptozotocin -A Diabetogenic Agent in Animal Models www.ijppr.humanjournals.com', *Human Journals Review Article April*, 3(31), pp. 253–269.

Jain, P. G. et al. (2010) 'Hypolipidemic activity of Moringa oleifera Lam., Moringaceae, on high fat diet induced hyperlipidemia in albino rats', *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 20(6), pp. 969–973. <https://doi.org/10.1590/s0102-695x2010005000038>.

Janda, E. et al. (2016) 'Molecular mechanisms of lipid- and glucose-lowering activities of bergamot flavonoids', *PharmaNutrition*, 4, pp. S8–S18. <http://doi.org/10.1016/j.phanu.2016.05.001>.

Kholidha, A. N. et al. (2018) 'Hubungan Kadar Kolesterol

Total dan Trigliserida dengan Kejadian Diabetes Mellitus Tipe 2 di Daerah Pesisir Kota Kendari', *Medula*, 5(2), pp. 448–453. <https://doi.org/10.36679/kedokteran.v4i2.100>.

Krisnadi, A. D. (2015) *Kelor Super Nutrisi, Pusat Informasi Dan Pengembangan Tanaman Kelor Indonesia*. Available at: [Kelorina.com](http://kelorina.com).

Lin, M., Zhang, J. and Chen, X. (2018) 'Bioactive flavonoids in Moringa oleifera and their health-promoting properties', *Journal of Functional Foods*, 47(August), pp. 469–479. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.06.011>

Nada, S. et al. (2015) 'Evaluation of Moringa Oleifera Leaves Extract Effects on Streptozotocin-Induced Diabetic Rats', *Advances in Food Sciences*, 37(3), pp. 86–95. Available at: <https://www.researchgate.net/publication/280444400>.

Petrie, J. R., Guzik, T. J. and Touyz, R. M. (2018) 'Diabetes, Hypertension, and Cardiovascular Disease: Clinical Insights and Vascular Mechanisms', *Canadian Journal of Cardiology*, 34(5), pp. 575–584. <https://doi.org/10.1016/j.cjca.2017.12.005>.

Rani, K. C. et al. (2019) *Modul Pelatihan Kandungan Nutrisi Tanaman Kelor, Fakultas Farmasi Universitas Surabaya*. Available at: <http://repository.ubaya.ac.id/38511/>.

Snipelisky, D. and Ziajka, P. (2012) 'Diabetes and hyperlipidemia: A direct quantitative analysis—A direct analysis of the effects of insulin resistance on lipid levels in relation to atherosclerotic coronary artery disease', *World Journal of Cardiovascular Diseases*, 02(01), pp. 20–25. <https://doi.org/10.4236/wjcd.2012.21004>.

Stohs, S. J. and Hartman, M. J. (2015) 'Review of the safety and efficacy of Moringa oleifera', *Phytotherapy Research*, 29(6), pp. 796–804. <https://doi.org/10.1002/ptr.5325>.

Susanty, Yudistirani, S. A. and Islam, M. B. (2019) 'Metode Ekstraksi Untuk Perolehan Kandungan Flavonoid Tertinggi Dari Ekstrak Daun Kelor (Moringa oleifera Lam)', *Jurnal Konversi*, 8(2), pp. 31–36. <https://doi.org/10.24853/konversi.8.2.6>.

Tanuwijaya, D. C. D. (2020) 'Efek Pemberian Ekstrak Daun Kelor (Moringa oleifera) Terhadap Kadar SGOT dan SGPT Tikus Model Diabetes Yang Diinduksi Streptozotocin', *Digital Repository Universitas Jember*.

Tollo, B., Chougourou, D. C. and Todohoue, C. M. (2016) 'Anti-Hyperglycaemic and Lipid Profile Regulatory Properties of Moringa Oleifera in Subjects At Early Stages of Type 2 Diabetes Mellitus', *Emj European Medical Journal*, (October), pp. 99–105. Available at: <https://www.emjreviews.com/diabetes/articl>

[e/anti-hyperglycaemic-and-lipid-profile-regulatory-properties-of-moringa-oleifera-in-subjects-at-early-stages-of-type-2-diabetes-mellitus/](https://www.emjreviews.com/diabetes/artic/e/anti-hyperglycaemic-and-lipid-profile-regulatory-properties-of-moringa-oleifera-in-subjects-at-early-stages-of-type-2-diabetes-mellitus/).