

ISBN : 978-602-9030-49-5

PROSIDING

Bidang: Analisa Pangan dan Pangan Fungsional

SEMINAR NASIONAL PATPI 2013

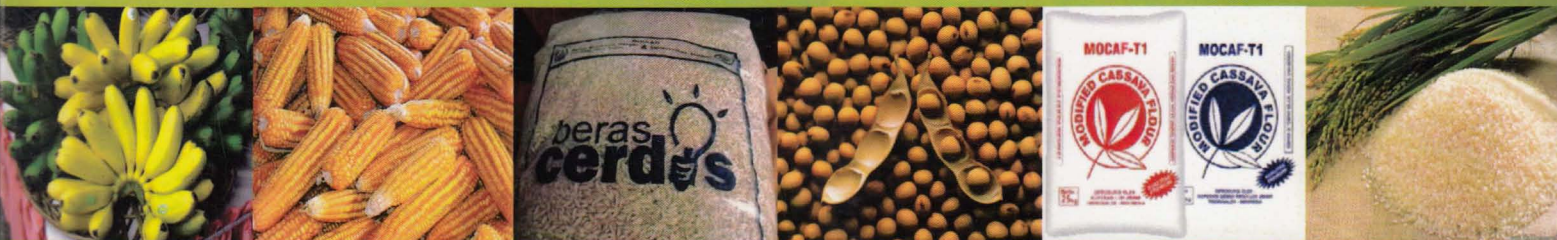
“Peran Teknologi Dan Industri Pangan Untuk Percepatan Tercapainya Kedaulatan Pangan Indonesia”

Disponsori Oleh:  | PT. TIGA PILAR SEJAHTERA FOOD Tbk.

HOTEL ASTON
Jember | 26-29 Agustus 2013



SEMINAR NASIONAL
PATPI 2013



Disponsori Oleh:





PT. TIGA PILAR SEJAHTERA FOOD Tbk.

www.tigapilar.com

Diselenggarakan Oleh:



IKATAN ILMUWAN
INDONESIA
INTERNASIONAL

INHIBISI ALFA-AMILASE DAN ALFA-GLUKOSIDASE TEH HIJAU DIPENGARUHI OLEH CARA PENYEDUHAN DAN PROSES PENCERNAAN

Endang Prangdimurti¹ dan Achmad Riffi Julian²

¹Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian IPB, PO.Box 220
Kampus IPB Darmaga Bogor, email : e_prangdimurti@yahoo.com, prangdimurti@ipb.ac.id

ABSTRAK

Enzim alfa-amilase dan alfa-glukosidase berperan utama dalam hidrolisis pati menjadi glukosa. Komponen fenolik umumnya memiliki kemampuan berikatan dengan protein, sehingga keberadaannya dalam ekstrak teh dapat menghambat kerja enzim-enzim tersebut, dan dapat dimanfaatkan untuk pencegahan obesitas dan diabetes mellitus. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh suhu awal penyeduhan (70 dan 100°C) dan lama penyeduhan (5, 10 dan 15 menit) teh hijau (*Camellia sinensis*) serta proses pencernaan *in vitro* terhadap aktivitas inhibisi enzim alfa-amilase dan alfa-glukosidase. Sebagai kontrol positif inhibitor enzim digunakan acarbose. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak awal, yaitu ekstrak teh yang diperoleh setelah penyeduhan, memiliki aktivitas inhibisi alfa-amilase berkisar antara 53-89%, dan inhibisi alfa-glukosidase 95-99%. Proses pencernaan menurunkan kemampuan inhibisi kedua enzim tersebut, yaitu masing-masing menjadi 15-56% dan 92-97%. Kadar total fenol pada ekstrak awal berkorelasi positif sebesar 0.852 dengan kemampuan inhibisi alfa-amilase, namun tidak berkorelasi dengan inhibisi alfa-glukosidase. Di antara berbagai kombinasi cara penyeduhan yang dicobakan, inhibisi alfa-amilase yang paling tinggi dihasilkan dari cara penyeduhan 100°C lalu didiamkan selama 5 menit, sedangkan inhibisi alfa-glukosidase paling tinggi diperoleh dari ekstrak hasil seduhan 70°C selama 30 menit.

Kata kunci : teh hijau, penyeduhan, amilase, glukosidase, fenol

PENDAHULUAN

Obesitas perlu mendapat perhatian karena sering dikaitkan dengan peningkatan resiko terjadinya berbagai penyakit degeneratif, seperti diabetes tipe 2, hipertensi, stroke, dan penyakit jantung koroner. Ketidakseimbangan antara *energy intake* dan *energy expenditure* merupakan faktor utama penyebab terjadinya obesitas dan penurunan *energy intake* merupakan salah satu solusi untuk mengurangi berat. Salah satu cara yang dapat dilakukan untuk menurunkan *energy intake* adalah dengan menghambat aktivitas enzim alfa amilase yang merupakan enzim kunci dalam pencernaan karbohidrat kompleks. Senyawa bioaktif yang dapat menghambat aktivitas amilase, antara lain senyawa polifenol. Teh hijau adalah minuman yang berasal dari pucuk daun teh yang diproses tanpa fermentasi. Teh hijau memiliki komponen bioaktif seperti senyawa fenolik yang diduga mampu menghambat alfa amilase dan alfa glukosidase. Penghambatan kedua enzim tersebut oleh ekstrak teh diharapkan dapat mereduksi jumlah glukosa yang dihasilkan dari hidrolisis pati/dekstrin secara enzimatis sehingga dapat mengurangi asupan kalori bagi tubuh. Kestabilan katekin, senyawa fenolik yang banyak terdapat dalam teh, dipengaruhi oleh pH dan suhu. Oleh karena itu perbedaan cara penyeduhan diperkirakan berpengaruh terhadap komposisi senyawa-senyawa fenolik dalam ekstrak teh, yang selanjutnya berdampak pada kemampuan inhibisi enzim tersebut. Selain itu adanya perubahan pH yang dialami oleh senyawa fenolik ketika melewati saluran pencernaan juga berdampak pada kemampuan anti-amilase dan anti glukosidasenya.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh suhu dan lama penyeduhan teh hijau (*Camellia sinensis*) serta proses pencernaan secara *in vitro* terhadap aktivitas penghambatan enzim α -amilase dan α -glukosidase secara *in vitro* sebagai salah satu upaya untuk mengurangi asupan kaloriasal pati yang berlebih.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah teh hijau yang diperoleh dari PT. Perkebunan Nusantara Gunung Mas di Bogor. Bahan-bahan yang digunakan dalam analisis antara lain: pati murni (Merck), enzim alfa-amilase *pancreatic porcine* (Sigma A3176), enzim alfa-glukosidase dari *Saccharomyces cerevisiae* tipe (Sigma G5003), asam 3,5 - dinitrosalisilat (DNS), maltosa standar, larutan p-nitrofenil- α -D glukofuranosida (Sigma N1377), pereaksi *Folin Ciocalteu* 50%, dan larutan asam galat.

METODE PENELITIAN

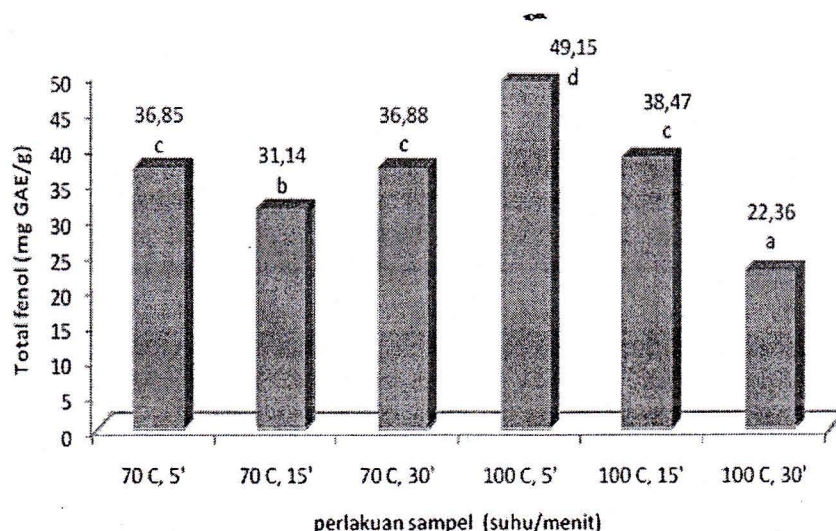
Mula-mula dilakukan ekstraksi teh hijau 0.04 g/ml (4 gram teh ditambahkan dengan 100 ml aquades) dengan menggunakan suhu awal dan lama penyeduhan yang berbeda (70 dan 100°C; selama 5, 15, dan 30 menit). Keenam ekstrak teh hijau yang didapat dari penyeduhan (disebut ekstrak awal) sebagian diberi perlakuan pengaturan simulasi pH pencernaan yaitu mula-mula diubah pH-nya menyerupai pH lambung (pH 2) dan setelah didiamkan selama 30 menit, pH dinaikkan menjadi pH 6.8 menyerupai pH pada usus halus. Ekstrak tersebut diuji daya inhibisinya terhadap enzim alfa amilase (Thalapaneni *et al.* 2008) dan alfa glukosidase (Mayur *et al.* 2010). Terhadap ekstrak awal dilakukan juga dianalisis total fenolnya. (Strycharz dan Shetty, 2002 dengan modifikasi).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kadar Total Fenol

Penentuan kadar total fenol dilakukan dengan menggunakan kurva larutan standar asam galat sehingga nilai total fenol dinyatakan dalam *Gallic Acid Equivalent* (GAE). Kadar total fenol ekstrak yang diperoleh berkisar antara 22.36-49.15 GAE/g (Gambar 1.) Analisis statistik menunjukkan bahwa faktor waktu dan faktor interaksi antara waktu dan suhu memberikan pengaruh terhadap konsentrasi total fenol ($p < 0.05$), sedangkan untuk faktor suhu tidak memberikan pengaruh terhadap konsentrasi total fenol ($p > 0.05$).

Suhu pelarut yang tinggi dapat meningkatkan efisiensi dari proses ekstraksi karena panas dapat meningkatkan permeabilitas dinding sel, meningkatkan kelarutan dan difusi dari senyawa yang diekstrak dan mengurangi viskositas pelarut, namun suhu tinggi juga dapat mendegradasi senyawa polifenol (Escribano dan Santos 2002). Namun pada percobaan ini faktor suhu tidak memengaruhi jumlah total fenol ($p > 0.05$). Untuk faktor waktu, waktu penyeduhan 5 menit memberikan nilai total fenol terbesar dan penyeduhan selama 30 menit memberikan nilai terkecil. Hal ini menunjukkan bahwa semakin lama waktu penyeduhan maka semakin besar pula peluang komponen fenol untuk teroksidasi.



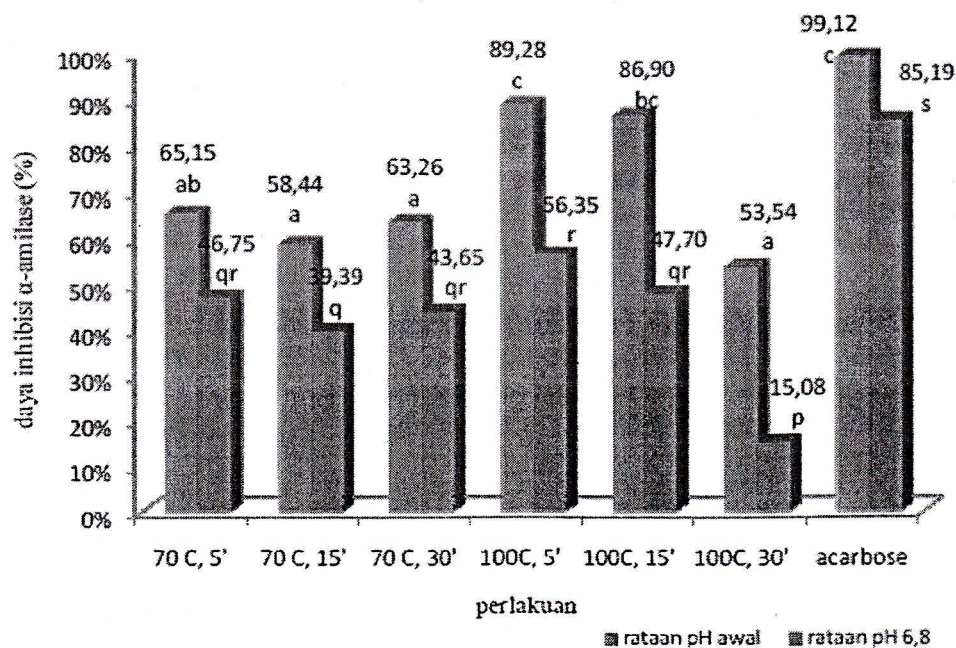
Keterangan : Huruf yang berbeda menunjukkan berbeda nyata ($p < 0,05$) dengan uji lanjut Duncan

Gambar 1. Kadar total fenol ekstrak teh hijau yang dihasilkan dari berbagai cara penyeduhan

Interaksi antara suhu dan waktu penyeduhan memengaruhi nilai total fenol ($p < 0,05$). Ekstrak teh hijau hasil penyeduhan 100°C selama 5 menit menunjukkan nilai total fenol tertinggi, sedangkan ekstrak dengan nilai total fenol terkecil adalah ekstrak hasil penyeduhan 100°C selama 30 menit. Hal ini menunjukkan pada suhu 100°C selama 5 menit komponen anti amilase dapat terekstrak dengan baik dan semakin lamanya waktu penyeduhan nilai total fenol menurun karena teroksidasi oleh panas, sehingga pada penyeduhan 100°C selama 30 menit menunjukkan nilai total fenol terkecil. Waktu ekstraksi yang terlalu lama akan memicu pemaparan oksigen lebih banyak yang akan meningkatkan peluang terjadinya oksidasi senyawa fenolik (Shahidi dan Nacz 2004). Menurut Marostica *et al.* (2010) beberapa komponen fenol bersifat termosensitif dan semakin tinggi suhu ekstraksi maka harus ditangani dengan hati-hati. Pardo *et al.* (2010) mengemukakan bahwa procyanidin yang merupakan salah satu senyawa fenolik, terdegradasi pada pemanasan dengan suhu 98°C selama 90 menit dan suhu 120°C selama 20 menit. Fenol teroksidasi menghasilkan produk berupa p-benzokuinon, asam dikarboksilat, dan karbondioksida (Volgina *et al.* 2005).

Inhibisi Enzim Alfa-amilase

Hasil uji nilai inhibisi enzim alfa-amilase terhadap ekstrak awal teh hijau berkisar antara 58.44% - 89.28%, sedangkan untuk ekstrak yang telah melalui simulasi sistem pencernaan (ekstrak pH 6.8) berkisar antara 15.08 - 56.35% (Gambar 2.) Menurut Qiang *et al.* (2006), teh hijau memiliki daya inhibisi enzim alfa-amilase sebesar 61%. Perbedaan ini mungkin disebabkan karena perbedaan cara ekstraksi dan metode analisis yang dilakukan. Mereka melakukan reflus teh dengan air dan kemudian dipisahkan dengan rotary evaporator dan dilakukan penambahan kloroform untuk menghilangkan kafein, lipid, dan klorofil.



Keterangan : Huruf yang berbeda menunjukkan berbeda nyata ($p < 0,05$) dengan uji lanjut Duacan.

Gambar 2. Nilai inhibisi enzim alfa-amilase dari ekstrak pH awal dan ekstrak pH 6,8.

Inhibisi Enzim Alfa-Amilase dari Ekstrak Awal Teh Hijau

Berdasarkan uji statistika ekstrak teh hijau pada pH awal menunjukkan bahwa suhu dan waktu penyeduhan tidak berpengaruh terhadap nilai inhibisi enzim alfa-amilase ekstrak teh hijau pada ($p > 0,05$). Untuk faktor kombinasi interaksi antara suhu dan waktu memberikan hasil bahwa faktor tersebut berpengaruh terhadap nilai inhibisi enzim alfa-amilase pada ($p < 0,05$). Sebagai kontrol positif digunakan *acarbose* dengan nilai inhibisi amilase sebesar 99.12%. Terdapat dua sampel yang nilai inhibisinya tidak berbeda nyata dengan *acarbose* sebagai pada ($p < 0,05$) yaitu yang diseduh 100°C selama 5 menit dan yang diseduh 100°C selama 15 menit, masing-masing memiliki nilai inhibisi 89.28% dan 86.90%. Penyeduhan dengan suhu 70°C diperkirakan tidak cukup banyak mengekstrak komponen bioaktif yang mampu menghambat enzim alfa-amilase, sedangkan pada kondisi suhu penyeduhan 100°C selama 30 menit akan menyebabkan kerusakan pada komponen yang bersifat anti amilase.

Tadera *et al.* (2006) menemukan bahwa senyawa flavonoid yang memiliki potensi dalam menghambat enzim *porcine pancreatic amylase* adalah senyawa luteolin, myricetin dan quersetin. Teh hijau yang telah diseduh mengandung luteoin, myricetin dan quersetin masing-masing sebesar 0.17, 1.10, dan 2.69 mg/100 g (United States Department of Agriculture 2003).

Inhibisi Enzim Alfa-Amilase dari Ekstrak Teh Hijau setelah Melalui Simulasi Sistem Pencernaan

Uji statistik menunjukkan bahwa faktor suhu tidak berpengaruh terhadap nilai inhibisi alfa-amilase ($p > 0,05$) dari ekstrak teh hijau pH 6.8 (setelah melalui proses pencernaan secara *in vitro*). Namun, faktor waktu berpengaruh terhadap nilai inhibisi enzim alfa-amilase ($p < 0,05$) pada pH 6.8 ekstrak teh hijau.

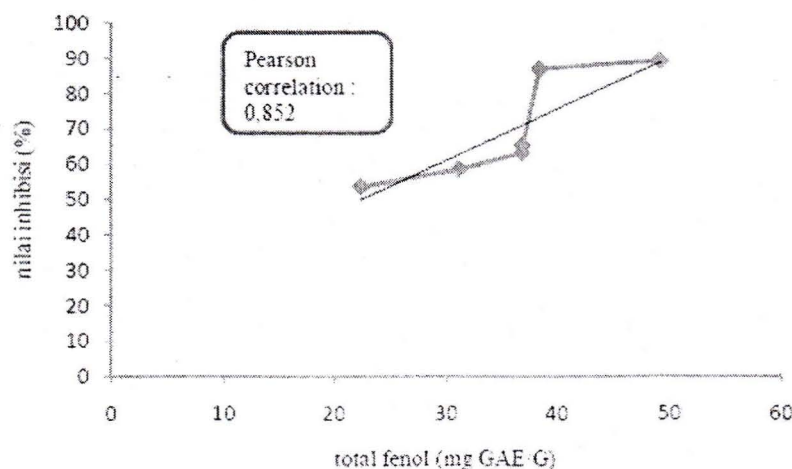
Pada uji T-test berpasangan menunjukkan bahwa ekstrak sampel pada pH awal dan ekstrak sampel pada pH 6.8 memberikan hasil yang berbeda nyata ($p < 0.05$). Dari data tersebut maka dapat disimpulkan bahwa, daya hambat enzim alfa-amilase mengalami penurunan setelah melalui proses pencernaan. Diperkirakan senyawa bioaktif yang diduga dapat menghambat kerja dari enzim alfa-amilase mengalami perubahan sehingga berpengaruh pada kemampuan anti amilasena.

Untuk memilih perlakuan terbaik dari hasil kombinasi antara suhu dan lamanya waktu penyeduhan teh hijau, maka faktor yang diperhatikan adalah nilai inhibisi dari kedua nilai pH, yakni pada pH awal yang menggambarkan nilai inhibisi dari enzim saliva amilase yang ada didalam mulut dan nilai inhibisi dari pH 6,8 yang menggambarkan nilai inhibisi dari enzim amilase yang ada di dalam usus manusia. Bayer *et al.* (1995) menambahkan bahwa struktur dan fungsi amilase saliva dan amilase pankreas tidak jauh berbeda. Berdasarkan hal tersebut, terdapat dua sampel dengan nilai inhibisi yang setara dengan *acarbose* sebagai kontrol positif. Kedua sampel tersebut adalah ekstrak dengan suhu penyeduhan 100°C selama 5 menit dan sampel dengan suhu penyeduhan 100°C selama 15 menit.

Diduga komponen bioaktif yang dapat menghambat kerja dari enzim alfa-amilase adalah komponen fenolik yang tahan terhadap panas (100°C) dan tahan terhadap perubahan pH simulasi pencernaan manusia. Hal tersebut dikarenakan komponen tersebut masih dapat terekstrak pada suhu penyeduhan 100°C dan masih dapat memberikan nilai inhibisi yang setara dengan *acarbose* sebagai kontrol positif.

Korelasi antara Daya Inhibisi Enzim Alfa-Amilase dan Total Fenol

Hubungan antara nilai total fenol dan nilai inhibisi enzim alfa-amilase menunjukkan terdapat korelasi yang signifikan pada taraf ($p < 0.05$) dan memiliki nilai *Pearson* korelasi sebesar 0.852. Hal ini menunjukkan bahwa kandungan total fenol yang ada dalam teh hijau memiliki nilai korelasi yang tinggi dengan daya inhibisi enzim alfa-amilase. Senyawa fenolik merupakan salah satu komponen bioaktif yang dominan yang dapat menghambat kerja dari enzim alfa-amilase. Pembentukan kompleks protein-fenol disebabkan salah satunya oleh adanya ikatan hidrogen antara gugus hidroksil fenolik dengan gugus NH- dan CO- pada protein, selain itu dilaporkan juga adanya ikatan kovalen dan hidrofobik pada reaksi tersebut. Gambar 3 memperlihatkan grafik hubungan total fenol dengan nilai inhibisi alfa-amilase.



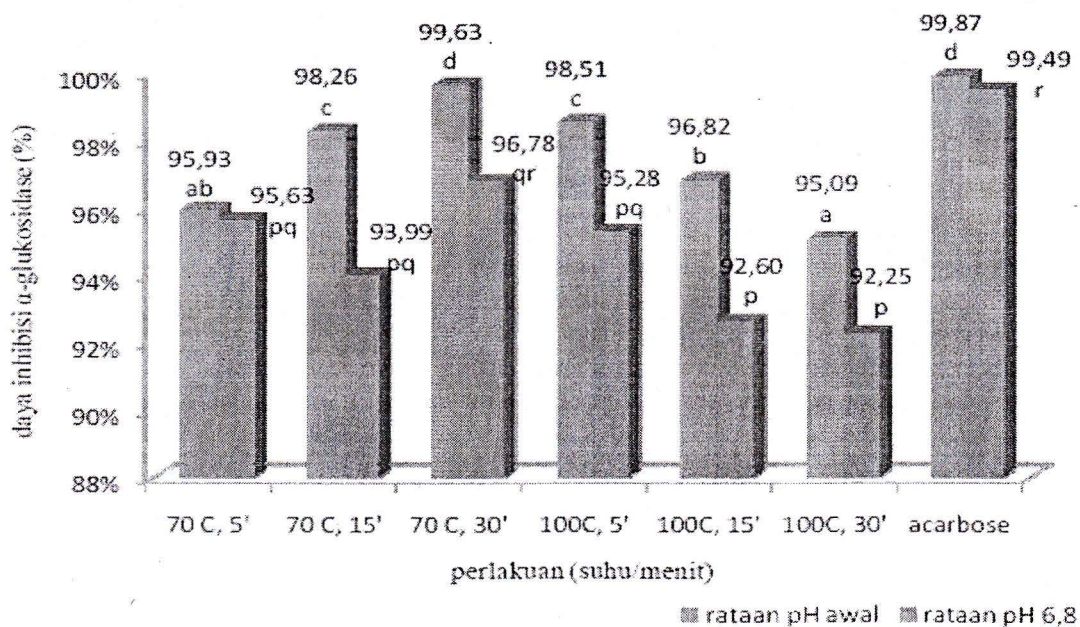
Gambar 3. Grafik korelasi total fenol dengan nilai inhibisi enzim alfa-amilase dari ekstrak awal teh hijau

Inhibisi Enzim Alfa-glukosidase

Enzim α -glukosidase adalah enzim yang mengkatalisasi pemecahan ikatan 1.4 α -glikosida dan ikatan 1.6 α -glikosida. Enzim ini berfungsi untuk melanjutkan kerja α -amilase, yaitu menghidrolisis lanjut α -limit dextrin menjadi glukosa (Berdanier *et al.* 2006). Enzim alfa-glukosidase pada pencernaan mamalia beradapada permukaan membran *brush border* sel usus halus dan merupakan enzim yang mengkatalisis proses akhir pencernaan karbohidrat pada proses pencernaan (Leboviz 1997).

Berbeda dengan enzim alfa-amilase, pada inhibisi enzim alfa-glukosidase faktor yang perlu diperhatikan dalam menentukan kombinasi antara suhu dan waktu terbaik hanya dilihat berdasarkan nilai inhibisi pada pH 6,8. Hal ini dikarenakan bahwa pada sistem pencernaan tubuh manusia enzim alfa-glukosidase tidak terdapat pada saliva dan enzim ini hanya terdapat pada usus manusia dengan kondisi pH 6,8.

Nilai inhibisi enzim alfa-glukosidase pada penelitian ini berkisar 92.25% - 99.63%. Adapun nilai dari inhibisi enzim alfa-glukosidase pada pH awal dan pada pH setelah proses pencernaan (pH 6.8) dapat dilihat pada Gambar 4. Menurut Wei *et al.* (2010) daun teh kering yang diekstraksi dengan air mendidih memiliki daya hambat enzim alfa-glukosidase sebesar 86.67%. Perbedaan ini disebabkan karena perbedaan cara ekstraksi.



Keterangan : Huruf yang berbeda menunjukkan berbeda nyata ($p < 0.05$) dengan uji lanjut Duncan.

Gambar 4. Nilai inhibisi enzim alfa-glukosidase dari ekstrak pH awal dan ekstrak pH 6,8

Inhibisi Enzim Alfa-Glukosidase dari Ekstrak Awal Teh Hijau

Berdasarkan analisis statistik, didapatkan bahwa pada pengujian nilai inhibisi enzim alfa-glukosidase pada pH awal ekstrak teh hijau menunjukkan bahwa faktor suhu berpengaruh terhadap nilai inhibisi enzim alfa-glukosidase ($p < 0.05$). Sedangkan untuk faktor waktu tidak memberikan pengaruh terhadap nilai inhibisi enzim alfa-glukosidase ($p > 0.05$) pada pH awal ekstrak teh hijau. Interaksi antara suhu dan lamanya penyeduhan ekstrak teh hijau pada pH awal memberikan pengaruh terhadap nilai inhibisi enzim alfa-glukosidase ($p < 0.05$).

Nilai inhibisi enzim alfa-glukosidase paling tinggi dihasilkan dari ekstrak teh hijau hasil penyeduhan 70°C selama 30 menit yaitu sebesar 99.63% dan tidak berbeda nyata dengan nilai inhibisi dari *acarbose* sebagai kontrol positif. Tadera *et al.* (2006) melaporkan bahwa enzim alfa glukosidase dapat dihambat secara efektif oleh naringenin, kaemferol, luteolin, apigenin, katekin dan epikatekin, diadzein dan epigalokatekin galat. Kandungan kaemferol, luteolin, katekin, epikatekin, dan epigalokatekin galat yang terdapat dalam teh hijau yang telah diseduh adalah sebesar 1.42, 0.17, 2.73, 8.47, dan 82.89mg/100 g (United States Departement of Agriculture 2003).

Inhibisi Enzim Alfa-Glukosidase dari Ekstrak Teh Hijau setelah Melalui Simulasi Sistem Pencernaan

Analisis statistik menunjukkan bahwa faktor suhu dan faktor waktu tidak berpengaruh terhadap nilai inhibisi enzim alfa-glukosidase ($p > 0.05$) pada pH 6,8 (setelah melewati proses pencernaan) ekstrak teh hijau. Untuk interaksi antara suhu dan lamanya waktu penyeduhan teh hijau, kedua faktor ini berpengaruh terhadap nilai inhibisi enzim alfa-glukosidase ($p < 0.05$) pada pH 6,8 (setelah melewati proses pencernaan) ekstrak teh hijau.

Hanya ekstrak teh hijau hasil penyeduhan 70°C selama 30 menit yang memiliki nilai yang tidak berbeda dengan *acarbose*. Hal ini menimbulkan dugaan bahwa komponen bioaktif yang menghambat enzim alfa-glukosidase mempunyai sifat yang tahan terhadap perubahan pH di dalam sistem pencernaan tubuh manusia dan tidak tahan terhadap suhu tinggi. Friedman dan Jurgen (2000) menyatakan bahwa katekin, epigalokatekin dan asam ferulat adalah komponen yang tahan terhadap degradasi karena perubahan pH.

Hasil uji T-test berpasangan menunjukkan bahwa nilai inhibisi enzim alfa-glukosidase ekstrak pada pH awal dan ekstrak pada pH 6.8 memberikan hasil yang berbeda nyata pada ($p < 0.05$). Untuk memilih kondisi perlakuan dengan kombinasi terbaik pada nilai inhibisi enzim alfa-glukosidase, hal yang perlu diperhatikan adalah nilai inhibisi enzim alfa-glukosidase tersebut pada pH 6,8 (setelah melalui proses pencernaan secara *in vitro*). Hal ini dikarenakan pada manusia enzim alfa-glukosidase terdapat pada usus dan enzim tersebut tidak terdapat pada saliva manusia. Dengan kata lain pada pengujian nilai inhibisi enzim alfa-glukosidase perlakuan dengan kombinasi terbaik adalah sampel teh hijau dengan suhu penyeduhan 70°C selama 30 menit.

Korelasi antara Daya Inhibisi Enzim Alfa-Glukosidase dan Total Fenol

Hubungan antara nilai total fenol dan nilai inhibisi enzim alfa-glukosidase menunjukkan bahwa tidak terdapat korelasi yang signifikan pada taraf ($p > 0.05$) diantara keduanya. Hal tersebut menunjukkan bahwa kandungan total fenol yang terdapat dalam ekstrak teh hijau bukan faktor yang dominan yang menghambat enzim glukosidase. Komponen bioaktif lain yang telah dilaporkan memiliki daya hambat terhadap enzim alfa glukosidase adalah golongan alkaloid (Molynuex *et al.* 1986) dan triterpenoid saponin (Luo *etal.* 2008).

KESIMPULAN

Perbedaan suhu dan waktu penyeduhan teh hijau berpengaruh pada besarnya nilai inhibisi enzim alfa-amilase dan alfa-glukosidase. Selain itu, proses pencernaan secara *in vitro* mengakibatkan penurunan daya inhibisi ekstrak teh hijau terhadap kedua enzim tersebut.

Di antara kombinasi faktor suhu awal penyeduhan (70 dan 100°C) dan lama penyeduhan (5, 15 dan 30 menit), maka daya inhibisi terhadap alfa-amilase yang paling besar adalah ekstrak teh hijau dengan suhu penyeduhan 100°C selama 5 menit dan 100°C selama 15 menit. Daya inhibisi keduanya tidak berbeda nyata dengan acarbose sebagai kontrol positif. Ekstrak yang memiliki daya inhibisi paling besar terhadap enzim alfa-glukosidase adalah ekstrak hasil penyeduhan 70°C selama 30 menit. Daya inhibisi enzim alfa-amilase mempunyai nilai korelasi yang tinggi dengan nilai total fenol, sehingga diduga komponen yang dominan dalam menghambat kerja dari enzim alfa-amilase adalah komponen fenol. Tidak adanya korelasi antara nilai inhibisi enzim alfa-glukosidase dengan nilai total fenol menunjukkan bahwa komponen fenol bukan merupakan komponen yang dominan dalam menghambat kerja dari enzim alfa-glukosidase.

Untuk menurunkan asupan glukosa dari pangan berpati tinggi yang dikonsumsi, maka disarankan untuk mengonsumsi teh yang dihasilkan dari penyeduhan 100°C dan didiamkan selama 5 menit sebelum diminum.

DAFTAR PUSTAKA

- Bayer GD, Yaoguang L, Withers SG. 1995. The structure of human pancreatic α -amylase at 1.8 Å resolution and comparisons with related enzymes. *Protein Sci* 4: 1730-1742.
- Berdanier CD, Dwyer J, Feldman EB. 2006. *Handbook of Nutrition and Food Second Edition*. USA: CRC Press.
- Escribano MT, Santos C. 2002. Polyphenol extraction from foods. *Di dalam*: Escribano MT, Santos S (eds.). *Methods in Polyphenol Analysis*. USA: CRC Press.
- Friedman M, Jurgens HS. 2000. Effect of pH on the stability of plant phenolic compounds. *J. Agri Food Chem* 48(6):2101-10.
- Lebovits. 1997. Alpha-glucosidase inhibitor. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America* 26: 539-551.
- Luo JG, Ma L, Kong LY. 2008. New triterpanoid saponins with strong α -glucosidase inhibitory activity from the roots of *Gypsophila oldhamiana*. *Bioorganic & Med Chem* 16 (6): 2912-2920.
- Marostica, Mario RJ. *et al.*, 2010. Supercritical Fluid Extraction and Stabilization of Phenolic Compounds From Natural Sources – Review (Supercritical Extraction and Stabilization of Phenolic Compounds). *The Open Chemical Engineering Journal* 4: 51-60.
- Mayur B, Sandez S, Shruti S, Sung-Yum S. 2010. Antioxidant and alpha-Glucosidase inhibitory properties of *Carpesium abrotanoides* L. *Journal of Medical Plant Research* 4 (15): 1547-1553.
- Molyneux RJ, Roitman JN, Dunnheim G, Szumilo T, Elbein AD. 1986. 6-Epicastanospermine, a novel indolizidine alkaloid that inhibits alpha glucosidase. *Arch Biochem Biophys* 251 (2): 450-457.
- Pardo GD, Inigo A, Maria R, dan Marin A. 2010. Stability of Polyphenolic Extracts From Grape Seeds After Thermal Treatments. *Eur Food Res Technol* (2011) 232 : 211–220.

Qiang H, Yuanping L, dan Kai Y. 2006. Effects of Tea Polyphenols on the Activities of α -Amylase, Pepsin, Trypsin and Lipase. *Journal Food Chemistry* 101 (2006): 1178–1182.

Shahidi F, Naczki MG. 2004. *Phenolic in Foods and Nutraceuticals*. USA. CRC Press LLC

Strycharz S, Shetty K. 2002. Effect of *Agrobacterium rhizogenes* on phenolic content of *Mentha pulegium* elite clonal line phytoremediation applications. *Process Biochemistry* (38): 287-293.

Tadera K, Minami Y, Takamatsu K, Matsuoka T. 2006. Inhibition of α -glucosidase and α -amylase by flavonoids. *J Nutrition Sci and Vitamin* 52 (2): 149:153.

Thalapeneni NR, Chidambaram KA, Ellapan T, Sabapathi ML, Mandal SC. 2008. Inhibition of carbohydrate digestive enzymes by *Talinum portulacifolium* (Forssk) leaf extract. *Journal of Complementary Integrative Medicine* 5 (1): 1-10.

United States Department of Agriculture. 2003. USDA Database for the Flavonoid Content of Selected Foods [database]. Beltsville, Maryland: Agricultural Research Service, Beltsville Human Nutrition Research Center, Nutrient Data Laboratory.

Volgina TN, Kukurina OS, Novikov VT . 2005. Study of Phenol Destruction by Means of oxidation. *Chemistry of sustain develop* 13: 41-44.

Wei X, Zhiwei Y, Yanhong G, Jianbo X, dan Yuanfeng W. 2010. Composition and Biological Activity of Tea Polysaccharides Obtained by Water Extraction and Enzymatic Extraction. *Latin American Journal of Pharmacy* 29 (1): 117-21.