KADAR 1-DEOXYNOJIRIMYCIN DAN AKTIFITAS PENGHAMBATAN TERHADAP ENZIM A-GLUKOSIDASE DALAM EKSTRAK, TEPUNG EKSTRAK DAN TEPUNG INSTANT DAUN MURBAI (Morus alba L)

[1-Deoxynojirimycin Content and Inhibitory Activity on A-Glucosidase Enzyme of Extract, Extract Powder and Instant Powder of Mulberry (Morus alba L)]

Kesuma Sayuti^{1)*}, dan Norio Muto²⁾

- 1) Department of Agricultural Processing Technology, Faculty of Agricultural Technology, Andalas University, Kampus Unand Limau Manis, West Sumatra, Indonesia
 - ²⁾ Graduate School of Comprehensive Scientific Research, Program in Biological System Sciences, Prefectural University of Hiroshima, 562 Nanatsuka, Shobara 727-0023, Japan.

Diterima 31 Maret 2010 / Disetujui 17 Desember 2010

ABSTRACT

Many researcher had proved that the mulberry leaves had effective enzyme inhibitory activity. For easy serving, the leaves had been processed as extract powder and instant powder. In this study, The 1-deoxynojirimycin (DNJ) content, was analyzed by high-performance liquid chromatography. Additionally, the inhibitory activity of extract, extract powder and mulberry (Morus alba L) instant powder was studied by using rat intestinal homogenate enzyme, that was measured using maltose, and the absorbance was determined at 505 nm. Slightly higher than that in. The results showed that DNJ content in mulberry water fraction was 166.48 mg/g \pm 3.24, in the extract powder was (0.82mg/g \pm 0.01) which was the instant powder (0.75 mg/g \pm 0.01). The extract, extract powder and the mulberry instant powder had effective enzyme inhibitory activity. Inhibitory activity on the enzyme by extract powder was stronger than the instant powder.

Key word: Mulberry extracts powder, mulberry instant powder, inhibitory activity, 1-Deoxinojirimycin.

PENDAHULUAN

WHO memperkirakan ada sekitar 8,4 juta orang Indonesia menderita diabetes pada tahun 2000, jumlah ini akan terus meningkat menjadi 21,3 juta pada tahun 2030 (Anonim, 2009). Banyak penelitian tentang pengaruh ekstrak daun Murbai yang telah dilakukan menunjukkan bahwa ekstrak daun tersebut dapat menekan kadar glukosa serum, dimana para peneliti di Jepang telah menemukan bahwa daun Murbai mengandung senyawa yang mampu menghambat aktifitas enzim oglucosidase usus halus (Miyahara et al., 2004; Asano et al., 1994).

Ekstrak daun Murbai (*Morus alba* L) secara kuat mampu menekan hiperglikemia *postprandial* pada tikus setelah diberi karbohidrat berlebihan melalui penghambatan aktifitas enzim disakaridase dalam usus halus (Miyahara *et al.*, 2004). Sebuah studi pada manusia telah menunjukan bahwa pemberian secara oral sebanyak 0,8 dan 1,2 g 1-deoxynojirimycin (DNJ) secara nyata menekan peningkatan kadar glukosa darah *postprandial* dan sekresi insulin, hal ini dikaitkan dengan dampak fisiologi dari DNJ yang terkandung dalam daun Murbai (Kimura *et al.*, 2007). Ekstrak daun Murbai juga mampu mengurangi fluktuasi glukosa darah, yang mungkin dapat mengurangi komplikasi pada penderita diabetes (Mudra *et al.*, 2007). Efikasi ekstrak

daun Murbai dalam memperbaiki reaktifitas pembuluh darah dapat dikaitkan dengan penekanan stres oksidatif (Nawaboot *et al.*, 2009).

Daun Murbai mengandung. DNJ yang diketahui mampu menghambat aktifitas enzim α-glucosidase usus halus secara kuat (Asano et al., 1994), dan senyawa polifenol (Arslan et al., 2004; Arabhahi dan Urooj, 2007; Kue, 2009), seperti flavonol glikosida (Katsube et al., 2006; Chooi et al., 2001). Kadar DNJ dipengaruhi oleh musim panen (Yatsunami et al., 2008; Kimura et al., 2007), dimana kadar DNJ dalam ekstrak daun Murbai yang dipanen pada bulan Mei lebih rendah dari kadar DNJ dalam ekstrak daun Murbai yang dipanen pada bulan Agustus, tetapi aktifitas penghambatan dari ekstrak daun Murbai yang dipanen pada bulan Mei lebih tinggi dari pada aktifitas penghambatan ekstrak daun Murbai yang dipanen pada bulan Agustus (Yatsunami et al., 2008). Tumbuhan Murbai (Morus alba L) cukup banyak tumbuh di Sumatera Barat dan biasanya tumbuh disekitar rumah dan selama ini belum dimanfaatkan secara optimal, selain hanya sebagai tumbuhan yang digunakan sebagai pelindung. Kimura et al. (2007) menyatakan bahwa ekstrak daun Murbai mampu menekan kadar gula darah setelah konsumsi karbohidrat secara berlebihan, sehingga dapat digunakan sebagai minuman bagi penderita diabetes. Beberapa bentuk olahan daun Murbai telah dipasarkan seperti daun kering dan ekstrak daun yang dijadikan bubuk kering yang dijual dalam bentuk kapsul. Pembuatan ekstrak kering ini membutuhkan peralatan yang cukup mahal yang sulit untuk dilakukan industri

*Korespondensi penulis:

E-mail: kesuma_sayuti@yahoo.com

rumahtangga. Pengolahan ekstrak daun menjadi produk minuman instant yang dapat disajikan dengan mudah belum dilakukan. Pengolahan daun Murbai menjadi tepung instant tidak membutuhkan alat mahal yang dapat dilakukan pada tingkat industri rumahtangga. Daun Murbai telah diolah menjadi produk olahan yaitu tepung ekstrak dan dari tepung ekstrak diolah menjadi tepung instant.

Tepung Instant adalah produk makanan seperti tepung. teksturnya remah, mudah larut dalam air dingin maupun air panas dan tidak mengendap dan mudah dalam penyaijan. Prinsip dari minuman instant adalah dalam pengeringan yang membutuhkan bahan pengisi untuk menghambat kerusakan zat gizi selama pengeringan. Untuk membuat tepung instant ditambahkan dekstrin, tween 80, asam sitrat dan aspartam. Dekstrin berwarna putih sampai kekuningan dengan viskositas yang rendah. Mudah larut dalam air, mudah menyebar dan lebih stabil dari pati. Tween 80 sebagai pengemulsi membentuk busa. Asam sitrat lebih mudah larut dalam air dingin dari pada dalam air panas, membentuk rasa asam dan berfungi sebagai pengawet (Kumalasari, 2004). Produk olahan daun Murbai dibuat dari daun yang mengandung mineral seperti N, K, Ca, Mg, Fe, Zn, and Mn (Ercisli dan Orhan, 2007), salah satu hal yang penting dalam minuman instant. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengukur kadar DNJ dan melihat aktifitas penghambatan enzim α-glukosidase usus halus dalam ekstrak, tepung ekstrak dan instant daun Murbai. Hipotesis pada penelitian ini adalah ada perbedaan kadar DNJ dan efektifitas penghambatan enzim α-qlukosidase usus halus dalam ekstrak. tepung ekstrak dan instant daun Murbai.

METODOLOGI

Bahan

Daun Murbai dipanen pada Oktober 2009 dari tanaman yang tumbuh disekitar rumah-rumah di Padang panjang Sumatera barat, Indonesia.

Ekstrak daun Murbai

Daun Murbai diekstrak dengan air panas pada suhu 80°C sebanyak 10 kali jumlah daun, selama 1 jam dengan menggunakan magnetik stirer. Setelah itu larutan disaring dengan menggunakan kertas saring untuk mendapatkan ekstrak. Ekstrak ini kemudian diencerkan sebanyak 10 kali.

Senyawa aktif pada ekstrak daun Murbai

Diaion HP-20 column *chromatography* digunakan untuk memisahkan senyawa aktif dalam ekstrak daun Murbai. Diaion HP-20 adalah resin sintetik yang mempunyai kemampuan untuk menyerap senyawa hidrophobic (adsorb hydrophobic compounds) secara efisien, sehingga dapat digunakan untuk memisahkan fraksi larut air dan fraksi larut metanol dalam ekstrak daun Murbai.

Tepung ekstrak daun Murbai (Mulberry extract powder)

Daun Murbai diekstrak dengan menggunakan air mendidih (x10 daun Murbai) selama 5 menit. Setelah itu disaring dengan

menggunakan saringan, sehingga didapatkan ekstrak. Ekstrak tersebut dicampur dengan tween 80 dan dekstrin dengan menggunakan *mixer* sampai terbentuk busa, dan dituangkan kedalam loyang dengan ukuran 30 x 30 cm dan dikeringkan selama 6 jam pada suhu 60 °C dengan menggunakan oven vacum. Lapisan kering yang terbetuk ditumbuk dan diayak dengan menggunakan ayakan dengan ukuran 60 mesh. Sebanyak 100 mg tepung dilarutkan dalam 1 ml air dan digunakan sebagai larutan sampel.

Tepung instant daun Murbai (Mulberry instant powder)

Tepung ekstrak daun Murbai ditambah kan dengan asam sitrat (10%) dan aspartame (1%), dan kemudian diaduk dengan menggunakan blender, dan kemudian diayak dengan ayakan ukuran 60 mesh. Sebanyak 100 mg tepung instant tersebut dilarutkan dalam 1 ml air dan digunakan sebagai larutan sampel.

Penentuan kadar 1- deoxynojirimycin (DNJ) dengan HPLC.

DNJ standar ditimbang secara tepat dan dilarutkan dalam air (5 mg/ml H₂O), kemudian disuntikan kedalam kolom chromatografi (5 μ l/injeksi). Sebanyak 0,1 g tepung ekstrak dan tepung instant daun Murbai dimasukan dalam tabung mikro yang berbeda dan kemudian kedalam masing-masing tabung ditambahkan sebanyak 1 ml H₂O. Larutan tersebut diputar pada 10.000 rpm selama 5 menit. Kemudian diambil sebanyak 5 μ l supernatant yang berasal ekstrak, tepung ekstrak dan tepung instant daun Murbai dan 5 μ l pelarut disuntikan ke dalam kolom HPLC. Konsentrasi DNJ dihitung dengan menggunakan kurva kalibrasi.

Sistem HPLC terdiri dari sebuah pompa Shimadzu LC-10AT (Tokyo, Japan), dan sebuah injektor Reodyne kapasitas 100 μL sample loop. Column Shodex NH2P-50 (4.6 \times 250 mm; Asahipak, Japan). Pemisahan menggunakan campuran acetonitrile dan air distilasi (65:35, v/v). Kecepatan aliran diatur sampai 0.7 mL/min, tekanan 100 kg/cm². Eluent yang keluar dikirim kesebuah SPD-10A, detektor UV-Vis W.L. 210 nm (Shimadzu, Japan). Puncak area dicatat dengan menggunakan sebuah Chromatopac Shimadzu C-R6A.

Penentuan aktifitas penghambatan enzim α -Glucosidase dari ekstrak, tepung ekstrak dan instant daun Murbai

Diambil 5, 10 dan 20 μ l sampel (ekstrak, tepung ekstrak dan tepung instant daun Murbai) dengan 10 x pengenceran, dan 10 μ l dari sampel dengan pengenceran 10x, 20x, 40x, 80x. Masing-masing diletakan dalam sebuah tabung mikro (*micro tube*); ditambahkan dengan buffer sebanyak 120 atau 130 μ l, dan 10 μ l enzim usus tikus (rat intestinal homogenate enzyme), serta maltosa 4% sebanyak 50 μ l. Kemudian dibuat blanko dengan cara yang sama, tetapi tanpa penambahan enzim dan diganti dengan air destilasi (*destillated water*). Kemudian diletakan diatas pemutar, sehingga larutan tercampur dengan baik dan letakan dalam incubator pada suhu 37°C, selama 20 menit. Kemudian letakan tabung dalam air mendidih selama 5

menit. Diputar pada 6000 rpm, selama 5 menit. Diambil sebanyak 20 μ l supernatant, diletakan dalam sebuah tabung mikro dan ditambah dengan reagent pewarna, diaduk dengan meletakan diatas *mixer* untuk menghomogenkan larutan dan letakan dalam incubator selama 5 menit pada suhu 37°C, dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 505 nm.

Analisis statistik.

Telah digunakan rata-rata dan standar deviasi dengan menggunakan Excel.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kandungan 1- deoxynojirimycin (DNJ)

Untuk menentukan kadar DNJ dengan menggunakan HPLC, pertama ditentukan kolom kromatografi yang paling cocok untuk pemisahan DNJ, yaitu senyawa dengan polaritas yang tinggi. Pada penelitian ini tepung ekstrak dan tepung instant daun Murbai diekstrak dengan menggunakan air pada tabung yang berbeda dan dilakukan sentrifugasi. Supernatannya disuntikan secara langsung pada kolom HPLC. Elusi DNJ dalam tepung fraksi larut air, tepung ekstrak dan instant dilihat puncaknya pada waktu retensi 6,08 menit.

Tabel 1. Kadar 1-deoxinojirimycin (DNJ) dalam tepung fraksi larut air,

tepung ekstrak dan tepung mstant dadir wurbai.	
Sampel	DNJ (mg/g)
Tepung fraksi larut air	166,48±3,24
Tepung ekstrak	0,82±0,01
Instant	0,75±0,01

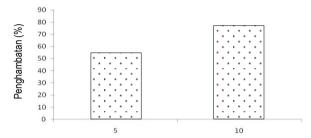
Seperti ditunjukan dalam Tabel 1. Kadar DNJ dalam tepung ekstrak adalah sebesar 0.82 ± 0.01 mg/g, dan kadarnya dalam tepung instant adalah sebesar 0.75 ± 0.01 mg/g. Kadar DNJ tepung instant adalah lebih rendah dari pada dalam tepung ekstraknya yakni sebesar 6.9%. Kadar DNJ dalam tepung fraksi larut air adalah sebesar 166.48 ± 3.24 mg/g. Dari 50 g daun Murbai didapatkan tepung fraksi larut air sebesar 2.0378 g. Jadi kadar DNJ dalam daun Murbai segar adalah 6.78 mg/g $(166.48 \times 2.0378)/50$ g).

Terdapat hubungan antara aktifitas penghambatan terhadap enzim α -glukosidase dengan konsentrasi DNJ, dimana semakin tinggi konsentrasi DNJ, semakin kuat aktifitas penghambatan terhadap enzim α -glucosidase (Yatsunami *et al.*, 2008). Seperti ditunjukkan dalam Tabel 1, kadar DNJ dalam tepung ekstrak (0,82 mg/g atau 0,082%) sedikit lebih tinggi dari instantnya (0,75 mg/g atau 0,075%). Temuan pada penelitian ini sejalan dengan penelitian lain yang dilaporkan, yakni semakin tinggi DNJ, semakin kuat aktifitas penghambatan.

Konsentrasi DNJ dalam tepung ekstrak sedikit lebih rendah dari konsentrasi DNJ dalam tepung instantnya. Ini disebabkan karena tepung instant dibuat dari tepung ekstrak yang ditambahkandengan asam sitrat (10%) dan aspartame (1%). Tetapi konsentrasi DNJ dalam tepung ekstrak jauh lebih rendah dari ekstrak daun Murbai. Miyahara et al. (2004) telah melaporkan bahwa ekstrak Murbai mengandung DNJ sebesar 1.1%

Aktifitas penghambatan enzim α-glucosidase dari ekstrak daun Murbai

Gambar 1 menunjukan bahwa ekstrak daun Murbai yang telah diencerkan mempunyai kemampuan penghambatan yang kuat terhadap aktifitas α -glucosidase. Aktifitas penghambatan terhadap enzim α -glukosidase adalah sebesar 54 ± 0.06 % dan 77 ± 0.02 % untuk 5,0 µl, dan 10,0 µl sampel/campuran reaksi berturut-turut, dimana semakin meningkat konsentrasi ekstrak daun Murbai, semakin kuat penghambatan aktifias enzim. Hasil penelitian ini menguatkan penelitian yang telah dilakukan oleh peneliti lain sebelumnya bahwa ekstrak daun Murbai mempunyai kemampuan menghambat aktifitas enzim α -glukosidase.

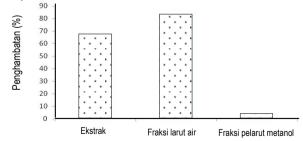


Ekstrak daun Murbai dengan pengeceran 10 x (µl/campuran reaksi)

Gambar 1. Aktifitas penghambatan terhadap enzim α -glukosidase oleh ekstrak daun Murbai dengan pengenceran 10x ,

Chromatography kolom Diaion HP-20, telah digunakan untuk memisahkan fraksi larut air dengan fraksi larut metanol. Setelah dilakukan pemisahan tersebut, Aktifitas penghambatan enzim pada fraksi larut air dan fraksi larut metanol ditunjukan dalam Gambar 2.

Gambar 2, menujukkan bahwa fraksi larut air punya potensi menghambat aktifitas enzim α -glukosidase ($82\pm0.01~\%$) , dan aktifitas penghambatan terhadap enzim tersebut oleh ekstrak (yang terdiri dari fraksi larut air bercampur dengan fraksi larut metanol) lebih rendah yakni sebesar $67\pm0.03~\%$, sedangkan fraksi larut metanol tidak menunjukkan aktifitasnya terhadap penghambatan terhadap enzim α -glukosidase ($4\pm0.05~\%$). Ini menunjukan bahwa substansi penghambat α -glucosidase dalam ekstrak daun Murbai adalah substansi yang larut air. Aktifitas penghambatan enzim oleh fraksi larut metanol bisa dikatakan hampir tidak ada vaitu hanva sekitar $4\pm0.05~\%$.

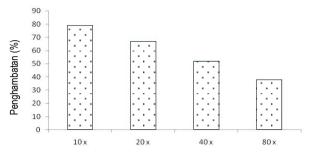


Pengeceran 10 x (10 µl/campuran reaksi)

Gambar 2. Aktifitas penghambatan enzim oleh ekstrak,fraksi larut air dan larut metanol dengan pengenceran 10 x.

Gambar 3 menunjukan hubungan antara tingkat pengenceran fraksi larut air dalam ekstrak daun Murbai dengan

aktifitas penghambatan terhadap enzim. α -glucosidase. Semakin tinggi tingkat pengenceran semakin rendah aktifitas penghambatan terhadap enzim tersebut. Tingkat penghambatan enzim α -glucosidase pada berbagai tingkat pengenceran adalah $79\pm0,002$ % (10x); $67\pm0,01$ % (20x); $52\pm0,01$ % (40x); $38\pm0,01$ % (80x).

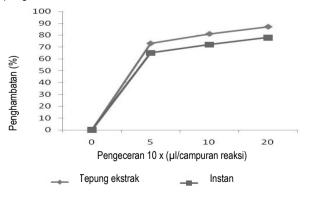


Fraksi air pada beberapa pengeceran (10 µl/campuran reaksi)

Gambar 3. Aktifitas penghambatan fraksi larut air dalam ekstrak daun Murbai dengan berbagai tingkat pengenceran (x10, x20, x40, x80)

Aktifitas penghambatan enzim α-glucosidase oleh tepung ekstrak dan tepung instant daun Murbai

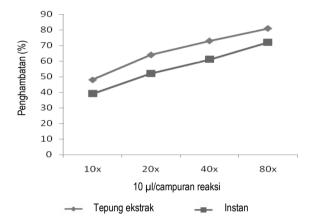
Pada penelitian ini telah dilakukan pembuatan tepung ekstrak dan tepung instant dari ekstrak daun Murbai. Gambar 4. menunjukkan bahwa ada pengaruh yang berbeda terhadap penghambatan aktifitas enzim α-glucosidase oleh tepung ekstrak dan tepung instant daun Murbai. Tepung ekstrak daun Murbai dengan pengenceran 10 x, menunjukan aktifitas penghambatan terhadap enzim α-glukosidase sedikit lebih tinggi dari pada aktifitas penghambatan terhadap enzim α-qlukosidase oleh tepung instant daun Murbai. Aktifitas penghambatan terhadap enzim oleh tepung ekstrak daun Murbai adalah 73 ± 0.02 %; 81 ± 0.02 ; 87 ± 0.04 % untuk 5 µl, 10 µl, dan 20 µl sampel/campuran reaksi berturut-turut. Semakin banyak tepung ekstrak daun Murbai yang ditambahkan semakin kuat penghambatan terhadap aktifitas enzim α-glukosidase. Aktifitas penghambatan oleh tepung instant daun Murbai dengan pengenceran 10 x terhadap aktifitas enzim α-glucosidase adalah 65±0,01 %; 72±0,01; 78±0,02% (untuk 5 µl, 10 µl, dan 20 µl sampel/campuran reaksi berturut-turut). Semakin tinggi konsentrasi instant daun Murbai semakin tinggi aktifitas penghambatan.



Gambar 4. Aktifitas penghambatan tepung ekstrak dan tepung instant dengan pengenceran 10x

Rata-rata ada perbedaan penghambatan terhadap aktifitas enzim α -glukosidase oleh tepung ekstrak dibandingkan dengan tepung instantnya, yakni sebesar sekitar 9 %, dimana aktifitas penghambatan oleh tepung instant lebih rendah. Ini dihubungkan dengan konsentrasi DNJ.

Gambar 5 menunjukkan hubungan tingkat pengenceran dari tepung ekstrak dan tepung instant daun Murbai dengan aktifitas penghambatan terhadap enzim α -glucosidase. Semakin tinggi tingkat pengenceran artinya semakin rendah konsentrasi mengakibatkan semakin rendah aktifitas penghambatan terhadap enzim tersebut. Tingkat penghambatan enzim α -glucosidase oleh tepung ekstrak dengan konsentrasi yang berbeda adalah $81\pm0.01~\%~(10x)$; $73\pm0.01\%~(20x)$; $64\pm0.01\%~(40x)$; $48\pm0.03\%~(80x)$. Sedangkan tingkat penghambatan enzim α -glucosidase oleh tepung instantnya adalah $72\pm0.01\%~(10x)$; $61\pm0.02\%~(20x)$; $52\pm0.01\%~(40x)$; $39\pm0.03\%~(80x)$.



Gambar 5. Aktifitas penghambatan tepung ekstrak dan tepung instant dengan beberapa tingkat pengenceran (x10, x20, x40, x80)

Aktifitas penghambatan terhadap enzim α -glukosidase oleh tepung ekstrak berbeda dengan tepung instantnya. Aktifitas penghambatan terhadap enzim α -glukosidase oleh tepung ekstrak lebih tinggi.

Senyawa aktif dalam daun Murbai yang menunjukan pengaruh terhadap aktifitas enzim α-glukosidase adalah gula yang mengandung nitrogen yang disebut 1-Deoxinojirimycin (DNJ). Senyawa tersebut adalah sebuah analogi dari D-glukosa dengan sebuah gugus NH yang menggantikan posisi atom oksigen pada cincin piranosa (Asano *et al.*,1994). Oleh karena struktur yang mirip dengan glukosa, ini mengakibatkan ada kompetisi dalam hidrolisis pati oleh enzim saluran pencernaan (intestinal), dengan demikian adanya DNJ dalam makanan akan mengurangi penyerapan glukosa dari makanan tersebut.

Penghambatan terhadap aktifitas enzim α -glukosidase oleh ekstrak Murbai dihubungkan dengan konsentrasi DNJ, dimana semakin tinggi konsentrasi DNJ, semakin kuat penghambatan terhadap enzim (R²=0,9419; y = 527,76 + 6,53x) (Yatsunami *et al.*, 2008). Dilihat dari koefisien determinasi yang ditunjukan oleh Yatsunami *et al.*, menggambarkan bahwa hubungan antara konsentrasi dengan tingkat penghambatan terhadap aktifitas enzim α -glukosidase adalah sangat kuat yakni 94,19%. Ini artinya bahwa 94,19% penghambatan dipengaruhi oleh

konsentrasi DNJ, sedangkan hanya sekitar (100-94,19)%, tingkat penghambatan dipengaruhi oleh variabel lain.

Penelitian ini membuktikan bahwa tepung ekstrak dan tepung instant daun Murbai mempunyai potensi sebagai penghambat aktifitas enzim α-glukosidase. Ini menunjukan bahwa tepung ekstrak dan tepung instant yang diolah dari ektrak daun Murbai mempunyai harapan sebagai makanan fungsional (functional food).

KESIMPULAN

Ekstrak daun Murbai menunjukkan potensi yang kuat dalam menghambat aktifitas enzim α-glucosidase. Substansi penghambatan yang utama dalam ekstrak adalah fraksi larut air. Dengan menggunakan ekstrak ini, dua sampel telah dihasilkan; yaitu tepung ekstrak dengan komposisi dekstrin dan tween-80, dan tepung instant yang dibuat dari tepung ekstrak ditambah dengan asam sitrat dan aspartame. Kedua produk ini memperlihatkan aktifitas penghambatan terhadap enzim α-glucosidase, dimana tepung ekstrak menunjukan aktifitas sedikit lebih tinggi dari tepung instantnya. Aktifitas penghambatan ini dikaitkan dengan kandungan DNJ, dimana kandungan DNJ dalam tepung ekstrak sedikit lebih tinggi dari tepung instantnya. Hasil penelitian ini menunjukan bahwa tepung ekstrak dan instantnya mempunyai potensi sebagai makanan fungsional functional food.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didukung dengan Program Academic Recharging-C (PAR-C), DIKTI, Departement Pendidikan Nasional Indonesia dan Graduate School of Comprehensive Scientific Research, Program in Biological System Sciences, Prefectural University of Hiroshima, 562 Nanatsuka, Shobara 727-0023, Japan.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 2009. Penderita diabetes di Indonesia lebih besar dari penduduk Australia. 2009. http://rumahdiabetes.com/2009/12/ [30 Desember 2009]
- Arabshahi-Delouee S, Urooj A. 2007. Antioxidant properties of various solvent extracts of mulberry (Morus indica L.) leaves. Food Chem 102; 1233-1240.
- ArslanO, Erzengin M, Sinan S, Ozensoy O. 2004. Purifikasi of mulberry (Morus alba L) polyphenol oxidase by affinity chromatography and investigation of its kinetic and elektrophoretic properties. Food Chem 88:479-484.
- Asano N, Tomiyoko E, Kizu H, Matsui K. 1994. Sugars with nitrogen in ring isolated from leaves of mulberry bombycis. Carbohydr Res 253:235-245.
- Chooi Y L, Simb SM, Cheng HM. 2008. Phenylacetic acids were

- detected in the plasma and urine of rats administered with low-dose mulberry leaf extract. Nutr Res 28; 555-563.
- Ercisli S, Orhan E. 2007 Chemical composition of white (Mors alba), red (Morus rubra) and black (Morus nigra) mulberry fruits. Food Chem 103: 1380–1384.
- Dharmananda S. 2003. Fruit as medicine: Morus Fruit. http://www.itmonline.org/arts/morus.htm [30 December 2009]
- Katsube T, Imawaka N, Kawano Y, Yamazaki Y, Shiwaku K, Yamane Y. 2006. Antioxidant flavonol glycosides in mulberry (Morus Alba L.) leaves isolated based on LDL antioxidant activity. Food Chem 97; 25-31.
- Kimura T, Nakagawa, Kubota H, Kojima Y, Goto Y, Yamagishi K, Oita S, Oikawa S, Miyazawa T. 2007. Food-Grade Mulberry Powder Enriched with 1-Deoxynojirimyn Suppresses the Elevation of Postprandial Blood Glucose in Humans. J. Agric. Food Chem 55; 5869-5874.
- Kuei-huan Chan, Hsieh-Hsun Ho, Chen-Ning Huang, Ming-Cheng Lin, Hsiang-Mei Chen, and Chau-Jong Wang. 2009.
 Mulberry leaf extract inhibits vascular smooth muscle cellmigration involving a block of small GTPase and akt/NF-kB signal. J. Agric. Food Chem 57; 9147–9153
- Kumalaningsih, S. 2004. Membuat Makanan Siap Saji. Surabaya. Trubus Agrisarana.
- Miyahara C, Miyazawa M, Satoh S, Sakai A, Mizusaki S. 2004. Inhibitory effects of mulberry leaf extract on postprandial hyperglycemia in normal rats. J Nutr Sci Vitaminol 50; 161-164.
- Mudra M, Ercan-Fang N, Zhong L, Furne J, Levitt M. 2007. Influence of mulberry leaf extract on the blood glucose and breath hydrogen response to ingestion of 75 g Sucrose by Type 2 Diabetic and Control Subjects. Diabetes Care. Volume 30, number 5.
- Naowaboot J, Pannangpetcha P, Kukongviriyapana V, Nakmareong S, Itharat A. 2009. Mulberry leaf extract restores arterial pressure in streptozotocin-induced chronic diabetic rats. Nutrition Research 29; 602-608.
- Samad MA, Salam KA, Tang MD. Abul Kashem Absar N, 2005. Nutritional Change of Four Varieties of Mulberry Leaves Infected with Fungus (cercospora moricola) Dammam Community College. Ministry of Higher Education King Fadh University of Petrolium and Minerals
- Srivastava S, Kapoor R, Thathola A, Srivastava RP. 2006. Nutritional quality of leaves of some genotypes of mulberry (Morus alba).International Journal of food Science and Nutrition. Vol. 57, No. 5-6: 305-313
- Yatsunami K, Ichida M, Onodera S. 2008. The relationship between 1-deokxynojirimycin content and α-glucosidase inhibitory activity in leaves of 276 mulberry cultivars (Morus spp) in Kyoto, Japan. J Nat Med 62:63-66