



CURRENT BIOCHEMISTRY

ISSN: 2355-7877

e-ISSN: 2355-7931

Journal homepage: <http://journal.ipb.ac.id/index.php/cbj>

Journal E-mail: current.biochemistry@gmail.com

CB Current
Biochemistry

Antioxidant and α -glucosidase-inhibitory activities of gayo arabica coffee skin (*Coffe arabica L*)

(Aktivitas antioksidan dan penghambatan α -glukosidase kulit kopi arabika Gayo (*Coffe arabica L*))

Baharuddin Yusuf Habiby Harahap^{1*}, Hasim¹, Didah Nur Faridah²

¹Department of Biochemistry, IPB University, Bogor, 16680, Indonesia

²Department of Food Science and Technology, IPB University, Bogor, 16680, Indonesia

Received: 14 April 2021 ; Accepted: 7 June 2021

Corresponding author : Baharuddin Yusuf Habiby Harahap, Departemen Biokimia IPB: e-mail:
baharuddinyusufhabibyharahap@gmail.com

ABSTRACT

The objectives of this research were to determine antioxidant and α -glucosidase-inhibitory activities of 96 % ethanol extract, n-hexane fraction, ethyl acetate fraction, and water fraction of gayo arabica coffee skin. Gayo arabica coffee skin was extracted by ethanol using maceration technique and fractionated using n-hexane, ethyl acetate, and water. Quercetin and gallic acid were respectively used as standards to determine total flavonoid and phenolic content. Test of antioxidant activity was carried out using the DPPH method. The ethanol extract, n-hexane fraction, ethyl acetate fraction, and water fractions were then subjected to α -glucosidase IC_{50} inhibitory test. The total flavonoids of 96% ethanol extract, n-hexane fraction, ethyl acetate, and water fraction respectively were 76.74, 99.07, 73.55, 50.24 mg QE/g extract. Total phenolics of 96% ethanol extract, n-hexane fraction, ethyl acetate, and water fraction were respectively 211.85, 136.67, 145.19, 127.41 mg GAE/ g extract. Antioxidant activity of ethanol extract, n-hexane fraction, ethyl acetate fraction, and water fraction were IC_{50} 12.03 ppm, 36.08 ppm, 30.27 ppm, 11.62 ppm respectively and activity to inhibit α -glucosidase was 588.85 ppm, 341.81 ppm, 591.61 ppm, and 798.78 ppm respectively. These showed that the ethanol extract and water fraction had the best antioxidant activities and the ethanol extract and ethyl acetate fraction were the best in inhibiting the α -glucosidase activity. These results indicate that gayo arabica coffee skin extract has the potential to be developed as an antidiabetic agents.

Keywords: Antidiabetic, Antioxidant, flavonoids, phenolics, α -glucosidase

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk menentukan aktivitas antioksidan dan penghambatan α -glukosidase dari ekstrak etanol 96 %, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air kulit kopi Arabika Gayo. Kulit kopi arabika gayo diekstrak dengan etanol menggunakan metode maserasi dan difraksinasi menggunakan n-heksana, etil asetat, dan air. Kuersetin dan asam galat masing-masing digunakan sebagai standar untuk mengetahui total flavonoid dan fenolik. Uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH. Kemudian dilakukan uji daya penghambatan α -glukosidase IC_{50} dari ekstrak etanol 96 %, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air. Total flavonoid yang diperoleh dari ekstrak etanol 96 %, fraksi n-heksana, fraksi etil

asetat, dan fraksi air berturut-turut adalah 76.74, 99.07, 73.55, 50.24 mg QE/g ekstrak. Total fenolik ekstrak etanol 96 %, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air berturut-turut adalah 211.85, 136.67, 145.19, 127.41 mg GAE/ g ekstrak. Aktivitas antioksidan ekstrak etanol 96 %, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air IC_{50} 12.03 ppm, 36.08 ppm, 30.27 ppm, 11.62 ppm. Aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase ekstrak etanol 96 %, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air berturut-turut 588.85 ppm, 341.81 ppm, 591.61 ppm, and 798.78 ppm. Ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol dan fraksi air memiliki aktivitas antioksidan terbaik dan ekstrak etanol dan fraksi etil asetat paling baik dalam penghambatan enzim α -glukosidase. Hasil tersebut menunjukkan bahwa ekstrak kulit kopi arabika gayo berpotensi untuk dikembangkan sebagai bahan antidiabetes.

Kata kunci: Antidiabetes, antioksidan, fenol, flavonoid, α -glukosidase

1. PENDAHULUAN

Kulit kopi merupakan limbah dari produksi biji kopi. Limbah kopi yang dihasilkan mencapai 50-60 % dari buah kopi (Efendi and Harta 2014). Sekitar 305,200 sampai 366,240 ton. Adapun yang dinyatakan sebagai bagian dari limbah kulit kopi adalah bagian mesokarp, bagian eksokarp, dan bagian endokarp (Esquivel dan Jimenez 2012).

Limbah tersebut akan menjadi polusi jika tidak diproses dengan baik. Maka dibutuhkan pengolahan dan perlakuan terhadap kulit kopi. Beberapa diantara manfaat kulit kopi yang sudah diteliti yakni sebagai pakan ternak alternatif, pupuk kompos, dan bioetanol. Pada penelitian kulit kopi arabika (*Coffe arabica* L.) dari Situbondo dinyatakan bahwa ada kandungan senyawa fenol yang memiliki aktivitas antioksidan ditunjukkan dengan persen penghambatan melalui metode uji DPPH tanpa maserasi (51.19%) (Ariadi et al. 2015).

Diduga perbedaan wilayah mempengaruhi kandungan polifenol kulit kopi. Penelitian Dacosta (2017) menunjukkan bahwa perbedaan wilayah, iklim, ketinggian dan kesuburan tanah berpengaruh terhadap kandungan metabolit sekunder. Polifenol yang terkandung dalam kulit kopi (Esquivel and Jimenez 2012), meliputi flavan-3-ol, asam hidroksinamat, flavonol, antosianidin, katekin, epikatekin, rutin, tanin, asam ferulat. Pada berbagai penelitian dinyatakan bahwa senyawa polifenol merupakan antioksidan (Wulandari et al. 2013) dan dapat menghambat kerja

enzim α -glukosidase (Kim et al 2000; Febrinda et al. 2013). Berdasarkan hasil penelitian tersebut diduga ekstrak kulit kopi arabika gayo (*Coffe arabica* L.) dapat menurunkan hiperglikemia dengan menghambat kerja enzim α -glukosidase.

Menurut American Diabetes Association (ADA 2018), DM merupakan salah satu kelompok penyakit metabolik dengan kondisi hiperglikemia yang terjadi karena kelainan sekresi insulin, kerja insulin, atau kedua-duanya. Penderita DM memiliki gejala umum, yaitu poliuria, polifagia, polidipsia. Klasifikasi dari diabetes mellitus yaitu DM Tipe 1, DM Tipe 2, DM Tipe Gestasional, dan DM Tipe lainnya. DM tipe 2 merupakan jenis penyakit yang paling banyak diderita, yaitu sekitar 90 sampai 95%.

Penyakit DM tipe 2 bukan penyakit yang mengakibatkan kematian secara langsung. Namun akan fatal jika tidak dikelola dengan tepat. Pengobatan yang telah dilakukan adalah terapi obat dan terapi non-obat. Terapi obat dilakukan dengan pemberian insulin atau obat-obatan sintesis yang dijual komersial, antara lain obat golongan sulfonilurea (merangsang sekresi insulin di kalenjar pankreas); golongan biguanida (menurunkan produksi glukosa di hati); golongan tioazolidindion (bekerja dengan berikatan bersama PPAR γ untuk menurunkan resistensi insulin); dan golongan inhibitor α -glukosidase (bekerja menghambat enzim pencernaan karbohidrat sehingga memperlambat absorpsi glukosa ke dalam darah). Namun, penggunaan

obat-obatan ini menimbulkan beberapa efek samping seperti perut kembung, nyeri perut, diare dan hepatotoksik (ADA 2018). Oleh sebab itu, industri obat-obatan mulai beralih untuk mengembangkan antidiabetes menggunakan bahan herbal sebagai alternatif pengobatan DM.

Analisis penghambatan α -glukosidase dari ekstrak dan fraksi ekstrak kulit kopi arabika gayo (*Coffe arabica* L.) belum pernah dilakukan. Fraksinasi dilakukan untuk memaksimalkan pemisahan senyawa bioaktif berdasarkan perbedaan tingkat kepolaran pelarut yang digunakan. Kulit kopi arabika gayo (*Coffe arabica* L.) terlebih dahulu diekstrak dengan pelarut etanol yang kemudian difraksinasi cair-cair secara bertahap dengan tiga jenis pelarut yaitu n-heksana, etil asetat dan air. Berdasarkan kandungan senyawa bioaktif yang terdapat pada kulit kopi arabika gayo (*Coffe arabica* L.) diharapkan dapat dihasilkan aktivitas antioksidan dan aktivitas penghambatan α -glukosidase yang tinggi sehingga dapat digunakan untuk pengobatan antidiabetes.

Tujuan penelitian ini untuk mengetahui potensi ekstrak dan fraksi kulit kopi arabika gayo sebagai antioksidan dan penghambat enzim α -glukosidase.

2. METODOLOGI

Bahan yang digunakan adalah kulit kopi arabika Gayo yang diperoleh dari Kabupaten Aceh Tengah, DPPH, enzim α -glukosidase, substrat 4-nitrofenil- α -D-glukopiranosida (p-NPG) dan akardose. Bahan-bahan lain yang digunakan dalam pengujian antara lain etanol 96%, etanol 30 %, n-heksana, etil asetat, akuades, metanol, enzim α -glukosidase (Sigma Aldrich, USA. N1377), Na_2CO_3 (Merck, Jerman), larutan bufer fosfat pH 7.0, reagen *Folin-Ciocalteu*, AlCl_3 , asam galat, vitamin C, dimetil sulfoksida (DMSO), bufer 2-(-N-morfolino) asam etenasulfonat (MES) dan kuersetin. Alat yang digunakan

adalah desikator, oven, corong pisah, evaporator, blender, ayakan, spektrofotometer (Hitachi tipe U-2800), pH meter (Eutech Instruments), *vortex mixer* (BI type 37600 mixer), dan *microplate reader* (Biotek Epoch)

Preparasi Sampel Kulit Kopi Arabika

Kulit kopi arabika yang diperoleh dari Kabupaten Aceh Tengah dikeringkan menggunakan oven selama 2 jam (Saisa dan Syabrina 2018) pada suhu 50°C (Zubaidah dan Sari 2015) kemudian dihaluskan menggunakan blender dan disaring dengan ayakan berukuran 100 mesh hingga berbentuk bubuk.

Penentuan Kadar Air Kulit Kopi Arabika

Penentuan kadar air sampel dilakukan dengan pengeringan didalam oven. Mula-mula cawan porselin dikeringkan pada suhu 105°C selama 30 menit kemudian didinginkan dalam desikator dan ditimbang menggunakan neraca analitik. Sebanyak 3 gram simplisia dimasukkan kedalam cawan porselin yang telah dikeringkan lalu dipanaskan pada suhu 105°C selama 2 jam lalu didinginkan dalam desikator kemudian ditimbang. Pemanasan dilakukan secara berulang sampai diperoleh bobot konstan dengan interval 2 jam (Kusuma 2015)

Kadar air dihitung dengan persamaan:

$$\text{Kadar air} = \frac{A-B}{A} \times 100\%$$

Keterangan:

A = Bobot simplisia sebelum pemanasan (g)

B = Bobot simplisia setelah pemanasan (g)

Ekstraksi Kulit Kopi Arabika

Ekstraksi simplisia menggunakan metode maserasi dilakukan dengan perendaman sampel dalam pelarut etanol 96%. Sebanyak 100 gram serbuk kulit kopi arabika dimasukkan kedalam 400 mL pelarut (1:4). Campuran kemudian di *shaker* selama 3 jam dengan kecepatan 130 rpm. Campuran dipisahkan dengan menggunakan kertas

saring. Filtrat yang diperoleh dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan dibungkus dengan alumunium foil kemudian ditempatkan dalam lemari pendingin sedangkan residunya diekstrak kembali sebanyak 2 kali (Arab *et al.* 2011). Filtrat dikumpulkan dan diuapkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40°C (Ariadi *et al.* 2015) dengan kecepatan 75 rpm (\pm 45 menit) sehingga diperoleh sampel ekstrak etanol 96% kulit kopi arabika. Rendemen ekstrak etanol kulit kopi arabika yang diperoleh dihitung menggunakan persamaan berikut:

Rendemen ekstrak (%) (Ismail 2017)

$$\frac{\text{Berat Ekstrak yang diperoleh}}{\text{Berat Sampel Uji yang di Ekstrak}} \times 100\%$$

Fraksinasi secara Ekstraksi Cair-Cair

Ekstrak etanol kulit kopi arabika yang diperoleh pada tahap sebelumnya, difraksinasi dengan corong pisah untuk mengelompokkan senyawa-senyawa bioaktif yang terdapat pada ekstrak berdasarkan tingkat kepolarannya. Fraksinasi dilakukan secara ekstraksi cair-cair dengan pelarut n-heksana dan etil asetat. Fraksinasi pertama dilakukan dengan melarutkan 0.5 gram ekstrak etanol kulit kopi arabika dalam pelarut n-heksana:air (perbandingan 1:1) dengan bantuan sonikator lalu dipisahkan dengan menggunakan corong pisah. Larutan ekstrak yang akan dipisahkan dikocok dan didiamkan selama 30 menit di dalam corong pisah hingga terbentuk dua lapisan yaitu lapisan n-heksana dan lapisan air. Lapisan n-heksana dipisahkan dari lapisan air dan disimpan sebagai fraksi n-heksana. Lapisan air difraksinasi kembali menggunakan pelarut etilasetat sehingga diperoleh lapisan etilasetat dan air. Proses fraksinasi masing-masing pelarut diulang sebanyak tiga kali. Fraksi n-heksana, etil asetat dan air dipisahkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 50 °C. Fraksi yang diperoleh disimpan pada suhu 4 °C (Ismail 2017).

Analisis Total Fenolik (Vongsak *et al.* 2013)

Metode yang digunakan untuk analisis total fenolik adalah *Folin-Ciocalteu* dengan prinsip kemampuan senyawa fenolik untuk mereduksi fosfomolibdat dalam *Folin-Ciocalteu* membentuk molibdenum berwarna biru (Dai dan Mumper 2010). Sebanyak 0.1 mL ekstrak kulit kopi konsentrasi 200 μ g/mL ditambahkan dengan 1 mL Na_2CO_3 7.5%. Sebanyak 1.25 mL *Folin-Ciocalteu* ditambahkan kedalam larutan dan dihomogenkan. Dilakukan inkubasi dalam penangas air pada suhu 45 °C selama 15 menit. Absorbansi diukur menggunakan spektrofotometer sinar tampak pada panjang gelombang 765 nm (triplo) dengan asam galat digunakan sebagai standar.

Analisis Total Flavonoid

Metode yang digunakan adalah kolorimetri aluminium klorida (AlCl_3). Metode ini memiliki prinsip berdasarkan reaksi antara AlCl_3 dengan gugus hidroksil pada senyawa flavonoid yang membentuk senyawa kompleks berwarna kuning. Sebanyak 0.5 mL ekstrak kulit kopi (dalam metanol) konsentrasi 500 μ g/mL ditambahkan dengan 0.5 mL AlCl_3 2%. Larutan dihomogenkan dan diinkubasi selama 10 menit. Absorbansi diukur menggunakan spektrofotometer sinar tampak pada panjang gelombang 415 nm (triplo) dengan kuersetin digunakan sebagai standar (Vongsak *et al.* 2013).

Uji Aktivitas Antioksidan Metode DPPH

Ke dalam 10 mL metanol (0.4 mM) dilarutkan 1.6 mg DPPH dan selama 30 menit dihomogenkan dengan stirer. Larutan DPPH yang homogen ditambahkan 10 mL 0.1 M bufer MES pH 7 dan 10 mL metanol 20% (Modifikasi Andrianto *et al.* 2015).

Stok ekstrak kulit kopi (dalam metanol) ditambahkan metanol 80% untuk membuat larutan dengan konsentrasi akhir 0,

1.25, 2.50, 3.75, 5, 6.25 µg/mL. Setiap 1 mL larutan ditambahkan dengan 1 mL campuran DPPH, dihomogenkan dan diinkubasi selama 30 menit lalu absorbansi diukur pada panjang gelombang 520 nm. Senyawa standar digunakan dalam pengujian aktivitas antioksidan dengan metode DPPH adalah asam askorbat.

Persentase inhibisi terhadap DPPH (persentase “scavenging effect”) dihitung dengan menggunakan rumus:

$$\text{Inhibisi (\%)} = \frac{\text{Ab-As}}{\text{Ab}} \times 100 \%$$

Keterangan:

Ab : absorbansi blanko

As : absorbansi senyawa uji

Uji Aktivitas Inhibisi α-Glukosidase

Uji aktivitas inhibisi enzim α-Glukosidase dilakukan dengan menggunakan *microplate reader* dengan substrat berupa p-nitrofenil-α-D-glukopiranosida (p-NPG) dan enzim α-glukosidase larut dalam 50 µL buffer

fosfat 0.1 M. Campuran reaksi terdiri dari blanko, kontrol blanko, sampel dan kontrol sampel sebanyak 10 µL. Sebanyak 25 µL substrat p-nitrofenil-α-D-glukopiranosida (p-NPG) 10 mM ditambahkan lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit. Reaksi dihentikan dengan penambahan 100 µL Na₂CO₃ 2 M kemudian diukur pada panjang gelombang 410 nm. Larutan akarbose digunakan sebagai kontrol positif dengan sistem reaksi sama seperti sampel (Sancheti et al. 2009). Percobaan dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan. Selanjutnya dilakukan perhitungan persentase inhibisi untuk menentukan nilai IC₅₀. Sistem reaksi dapat diketahui pada Tabel 1.

Perhitungan persentase inhibisi terhadap α-glukosidase yaitu:

$$\% \text{ Inhibisi} = \left(1 - \frac{\text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \right) \times 100\%$$

Tabel 1 Sistem Reaksi Inhibisi α-Glukosidase

Reagen	Volume (µl)			
	Blanko	Kontrol Blanko	Kontrol Sampel	Sampel
Pelarut	10	10	-	-
Sampel	-	-	10	10
Buffer	50	50	50	50
Substrat	25	25	25	25
Enzim	25	-	-	25
Buffer	-	25	25	-
Inkubasi 37°C 30 menit				
Na ₂ CO ₃	100	100	100	100

Analisis LCMS (Blazics et al. 2011)

Sampel teraktif pada uji aktivitas inhibisi α-glukosidase dianalisis menggunakan LC-MS/MS dengan *Liquid Chromatography-Mass Spectrometry* (LC-MS) tipe *Qmicro* QAA 842 dan detektor MS-MS *Waters Quatro* Micro. Jenis kolom C18, diameter 4.6 panjang 150 mm, ukuran partikel 5 µm, ukuran pori 130 Å, fase gerak campuran air dan metanol (10:90), tekanan maksimal 300 Bar. Sampel berupa cairan dimasukkan ke fase gerak pada kolom LC dengan lajur alir 0.800 mL/menit.

Suhu yang digunakan pada kolom adalah 40°C, suhu sampel 20°C dan waktu akhir 35 menit. Jenis analisis massa pada penelitian ini adalah quadrupole dengan modus scan selama 5 detik. Spektrum yang diperoleh menunjukkan rasio massa dengan muatan (m/z).

Analisis Data

Data dianalisis dengan menggunakan Ms. Excell (Mattjik dan Sumertajaya 2002), *Analyses of Variance* (ANOVA) dan diuji lanjut dengan *Duncan's Multiple Range Test*

(DMRT) menggunakan SPSS *Statistics* 16.0. (trial).

3. HASIL

Kadar Air dan Ekstrak Kulit Kopi

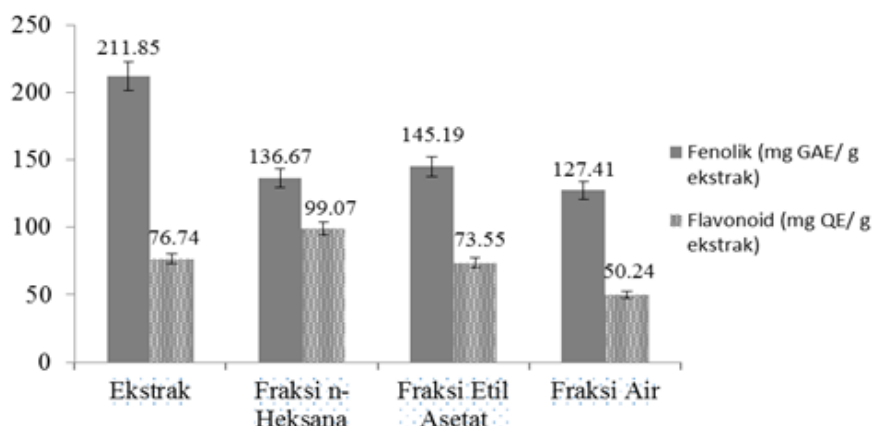
Kadar air diukur menggunakan metode BSN (1992) yaitu tiga kali ulangan. Dalam penelitian ini diperoleh kadar air 2.89 % yang menunjukkan bahwa terdapat 2.89 gram air dalam setiap 100 gram kulit kopi. Hasil rendemen ekstrak kulit kopi dan fraksi dengan berbagai pelarut dapat dilihat pada Tabel 2.

Total Fenolik dan Flavonoid

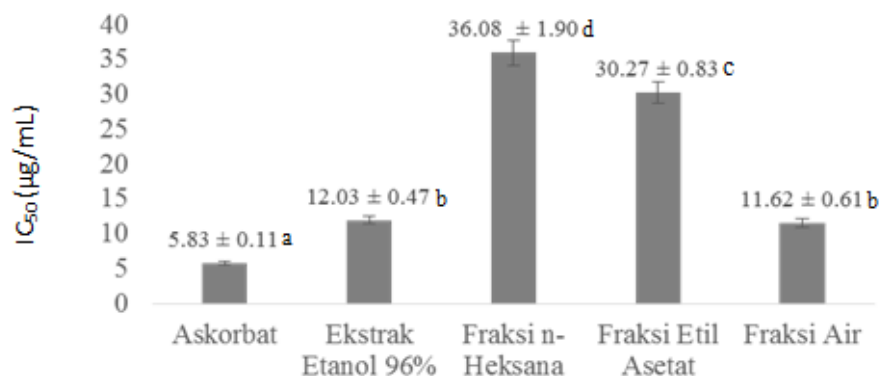
Dengan menggunakan metode Folin-Ciocalteu dilakukan penentuan total fenolik, asam galat sebagai standar (fenolat alam yang stabil). Asam galat bereaksi dengan pereaksi Folin-Ciocalteu menghasilkan warna kuning,

hal ini menunjukkan bahwa ekstrak/ fraksi mengandung fenolik. Kemudian ditambahkan Na_2CO_3 sebagai pemberi suasana basa. Pengukuran absorbansi dilakukan dengan panjang gelombang 765 nm. Hasil pengukuran standar asam galat diperoleh persamaan regresi linier $y = 0.0045x + 0.003$ dengan koefisien regresi (R) sebesar 0.975.

Dengan menggunakan metode kolorimetri aluminium klorida (AlCl_3) dilakukan penentuan total flavonoid, dengan kuarsetin sebagai standar. Pengukuran absorbansi dilakukan dengan panjang gelombang 415 nm. Hasil pengukuran standar kuarsetin diperoleh persamaan regresi linier $y = 0.0094x + 0.049$ dengan koefisien regresi (R) 0.993. Penentuan total fenolik dan flavonoid dari ekstrak dan fraksi-fraksi dilakukan triplo (Gambar 1).



Gambar 1 Total Fenolik dan Flavonoid



Gambar 2 Konsentrasi penghambatan ekstrak etanol 96% dan fraksi kulit kopi ditunjukkan dengan nilai IC_{50} . Huruf yang berbeda menunjukkan bahwa konsentrasi penghambatan antioksidan berbeda nyata secara signifikan dari uji Duncan pada alfa = 0.05

Aktivitas Antioksidan Dengan Metode DPPH

Hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai IC_{50} dari askorbat (kontrol positif) adalah $5.83 \mu\text{g/mL}$. Semua ekstrak dan fraksi yang diuji tergolong aktif dan sangat kuat dengan nilai $IC_{50} < 50 \mu\text{g/mL}$ dapat dilihat pada Gambar 2. Sementara nilai IC_{50} yang bervariasi mengilustrasikan distribusi kandungan senyawa kimia pada tiap fraksi yang diuji.

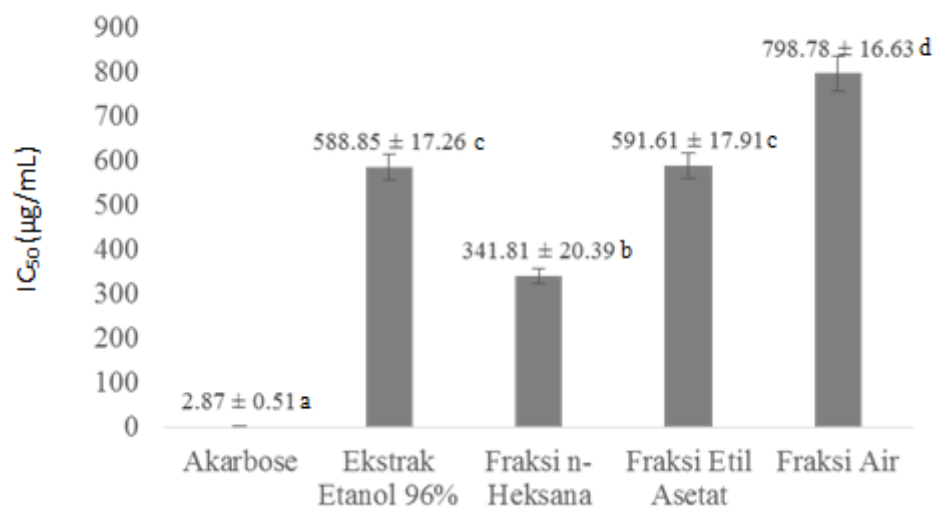
Aktivitas Inhibisi Enzim α -Glukosidase

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa nilai IC_{50} pada akarbose (kontrol

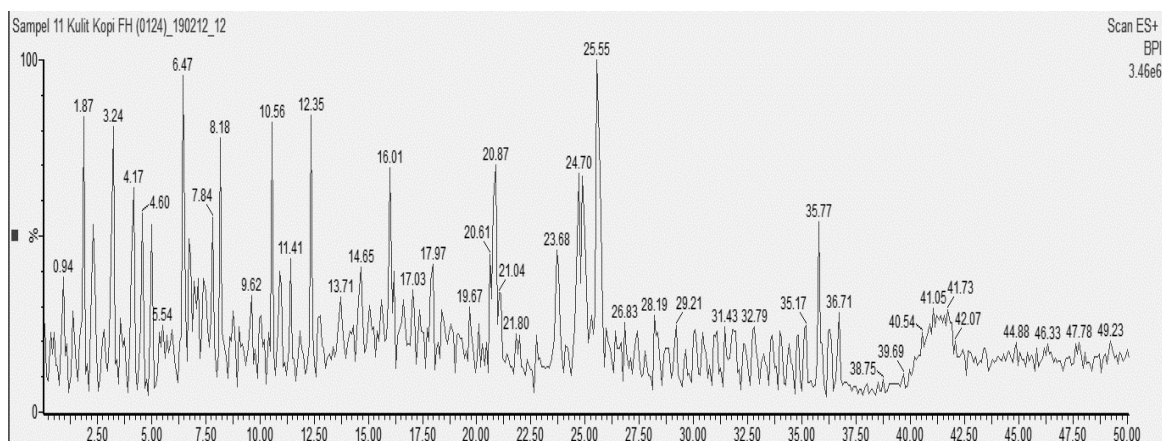
positif) adalah $2.87 \mu\text{g/mL}$. Aktivitas inhibisi α -glukosidase akarbose, ekstrak etanol 96% kulit kopi dan fraksinya ditunjukkan dalam Gambar 3.

Kandungan Senyawa Aktif Kulit Kopi

Ekstrak etanol dan fraksi kulit kopi memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi dan fraksi n-heksana yang memiliki aktivitas inhibisi enzim α -glukosidase terbaik dianalisis menggunakan LC-MS/MS untuk mengetahui kandungan senyawa aktif yang terkandung dalam fraksi n-heksana kulit kopi (Gambar 4).



Gambar 3 Aktivitas inhibisi Akarbose, ekstrak etanol 96% kulit kopi dan fraksinya dinyatakan dengan nilai IC_{50} . Huruf yang berbeda menunjukkan bahwa aktivitas inhibisi α -glukosidase berbeda nyata secara signifikan dari uji Duncan pada alfa = 0.05



Gambar 4 Kromatografi LC-MS/MS Fraksi n-Heksana Kulit Kopi

4. PEMBAHASAN

Kadar Air dan Rendemen Ekstrak Kulit Kopi

Kulit kopi memiliki kadar air rendah yaitu 2.89%. Kadar air yang baik untuk suatu penelitian adalah dibawah 10%. Kadar air rendah menunjukkan bahwa simplisia dapat disimpan dalam waktu yang lama. Proses pengeringan dilakukan untuk menghambat pertumbuhan mikroorganisme sehingga dapat menjaga kualitas simplisia (BPOM 2014).

Rendemen ekstrak kulit kopi yang diperoleh adalah 7.85% artinya ada 7.85 gram untuk setiap 100 gram simplisia. Rendemen ekstrak yang diperoleh lebih rendah daripada rendemen ekstrak kulit kopi Marcelinda et al. (2016) yaitu 8.66%. Rendemen yang lebih

rendah diduga karena waktu maserasi yang terlalu singkat. Pada penelitian Marcelinda et al. (2016) dengan waktu maserasi 3 x 24 jam menghasilkan rendemen ekstrak yang lebih tinggi, namun antioksidan yang dihasilkan pada penelitian tersebut tergolong lemah, dengan nilai IC_{50} diatas 100. Proses ekstraksi dengan cara maserasi dipilih karena mudah dan biasa dilakukan. Jumlah pelarut dalam proses ekstraksi merupakan salah satu faktor yang menentukan persentasi hasil, karena semakin besar jumlah pelarut yang digunakan dalam ekstraksi, maka semakin besar kontak antara bahan dan pelarut sehingga ini memiliki potensi untuk meningkatkan persentase hasil (Teh et al. 2014).

Tabel 2 Ekstrak dan Fraksi Kulit Kopi

Sampel	Rendemen (%)
Ekstrak etanol 96%	7.85
Fraksi n-Heksana	2.51
Fraksi Etil Asetat	2.67
Fraksi Air	2.04

Fraksinasi Kulit Kopi.

Fraksinasi dilakukan menggunakan pelarut dengan polaritas yang berbeda, yaitu n-heksana, etil asetat dan air. Tingkat kepolaran menentukan jenis dan jumlah senyawa yang dapat diekstrak dari sampel. Pelarut akan mengekstrak senyawa yang mempunyai kepolaran yang sama atau mirip dengan kepolaran pelarut yang digunakan (Arifianti et al. 2014). Pemilihan jenis pelarut ini didasarkan pada kemampuannya dalam melarutkan senyawa-senyawa metabolit sekunder dengan optimal.

Hasil fraksinasi yang masih mengandung pelarut selanjutnya dievaporasi sehingga diperoleh fraksi murni yang dinyatakan dalam % rendemen. Persentasi rendemen fraksi kulit kopi berturut-turut dari fraksi n-heksana, etil asetat, dan fraksi air

adalah 2.51%, 2.67%, dan 2.04% yang mana fraksi etil asetat semi polar dan fraksi air merupakan polar (Tabel 2), hal tersebut menunjukkan bahwa sebagian besar senyawa kandungan fitokimia dalam ekstrak etanol 96% adalah polar.

Total Fenolik dan Flavonoid.

Metode Folin-Ciocalteu digunakan dalam penentuan total fenolik. Asam galat digunakan sebagai standar, karena asam galat adalah fenolik alami yang stabil. Asam galat direaksikan dengan reagen Folin-Ciocalteu untuk menghasilkan warna kuning, hal ini menandakan bahwa ekstrak kulit kopi mengandung fenolik setelah itu ditambahkan larutan Na_2CO_3 sebagai pemberi suasana basa. Gugus hidroksil pada senyawa fenolik bereaksi dengan reagen Folin-Ciocalteu

membentuk kompleks molibdenumtungsten berwarna biru dengan struktur yang belum diketahui dan dapat dideteksi dengan spektrofotometer yang diukur absorbansinya panjang gelombang 765 nm. Semakin pekat warna yang dihasilkan maka semakin banyak pula senyawa fenolik yang ada di dalam sampel. Pengukuran absorbansi dilakukan dengan panjang gelombang 765 nm. Hasil pengukuran standar asam galat diperoleh persamaan regresi linier $y = 0.0045x + 0.003$ dengan koefisien Regresi (R) sebesar 0.975.

Metode yang digunakan dalam penentuan kadar total flavonoid adalah metode kolorimetri aluminium klorida ($AlCl_3$). Kuersetin digunakan sebagai standar, karena kuersetin merupakan senyawa flavonoid golongan flavonol yang memiliki gugus keton pada atom C-4 dan juga gugus hidroksil pada atom C-3 dan C-5 yang berdekatan. Penambahan pereaksi $AlCl_3$ digunakan untuk membentuk reaksi antara $AlCl_3$ dengan golongan flavonoid menghasilkan senyawa kompleks antara gugus hidroksil dan keton yang berdekatan. Senyawa $AlCl_3$ akan bereaksi dengan gugus keton pada C4 dan gugus OH pada C3 atau C5 pada senyawa flavon atau flavonol membentuk senyawa kompleks yang stabil berwarna kuning. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 415 nm. Hasil pengukuran standar kuarsetin diperoleh persamaan regresi linier $y = 0.0094x + 0.049$ dengan koefisien Regresi (R) 0.993.

Secara kuantitatif, ekstrak etanol 96% dari kulit kopi memiliki kandungan total fenolik tertinggi yaitu 211.85 mgGAE/g ekstrak. Diduga senyawa fenolik yang ada di dalam kulit kopi merupakan senyawa yang bersifat polar (Romadanu et al. 2014). Sementara itu fraksi n-heksana kulit kopi memiliki kandungan total flavonoid tertinggi yaitu 99.07 mgQE/g ekstrak dibandingkan dengan ekstrak/fraksi lainnya. Hal ini disebabkan diduga senyawa-senyawa flavonoid yang ada di dalam kulit kopi lebih

larut di dalam pelarut yang bersifat non polar (Pratiwi et al. 2016). Penggunaan pelarut dalam proses ekstraksi sangat mempengaruhi total kandungan fenol pada sampel (Teh et al. 2014).

Aktivitas Antioksidan Dengan Metode DPPH. Metode yang digunakan dalam uji aktivitas antioksidan ekstrak adalah metode DPPH. Dalam metode DPPH digunakan 2,2 difenil-1-pikrilhidrazil sebagai sumber radikal bebas. Aktivitas antioksidan dinyatakan dengan IC_{50} (*inhibitory concentration*). IC_{50} adalah bilangan konsentrasi ekstrak yang mampu menghambat aktivitas DPPH sebesar 50%. Semua ekstrak dan fraksi yang diuji tergolong aktif dan sangat kuat dengan nilai $IC_{50} < 50 \mu\text{g/mL}$ sementara nilai IC_{50} yang bervariasi mengilustrasikan distribusi kandungan senyawa kimia pada tiap fraksi yang diuji. Semakin kecil nilai IC_{50} , semakin tinggi aktivitas antioksidan. Suatu senyawa dinyatakan sebagai antioksidan yang sangat kuat jika IC_{50} lebih kecil dari 50, kuat (50-100), sedang (100-150) dan lemah (151-200) (Badarinath et al. 2010).

Gambar 2 menunjukkan bahwa nilai IC_{50} pada semua ekstrak dan fraksi kulit kopi dibawah 50 yang menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan kulit kopi termasuk antioksidan sangat kuat. Kemampuan pelarut dalam mengekstrak metabolit sekunder pada setiap sampel mendasari aktivitas masing-masing ekstrak (Teh et al. 2014). Senyawa antioksidan baik sintetis maupun alami (dari berbagai jenis tumbuhan) dapat mengontrol tingkat glukosa darah dan mencegah komplikasi diabetes dengan cara mengurangi kerusakan oksidatif pada diabetes (Widowati 2008).

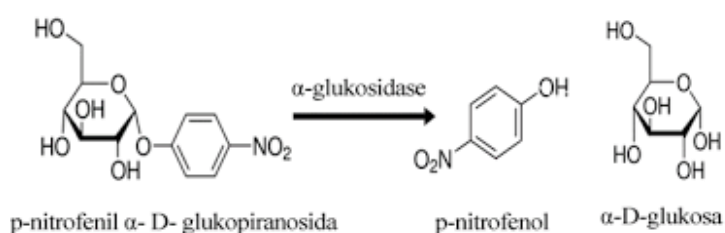
Hasil penelitian menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan ekstrak dan fraksi kulit kopi sangat kuat dan berbeda secara signifikan pada uji $\alpha = 0,05$. Nilai IC_{50} ekstrak etanol 96%, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air adalah 12.03 $\mu\text{g/mL}$, 36.08 $\mu\text{g/mL}$,

30.27 $\mu\text{g/mL}$, dan 11.62 $\mu\text{g/mL}$. Antioksidan terbaik diperoleh dari fraksi air, hal ini menunjukkan bahwa kulit kopi dapat dikonsumsi sebagai seduhan dengan pelarut air.

Widyawati et al. (2010) menyatakan bahwa adanya perbedaan nilai IC_{50} pada setiap sampel tanaman disebabkan beberapa faktor, yaitu kemampuan dalam mentransfer atom hidrogen ke radikal bebas DPPH, struktur senyawa kimia antioksidan pada sampel, dan jumlah gugus hidroksil. Jumlah kandungan

total fenol dan flavonoid juga berpengaruh terhadap aktivitas antioksidan. Aktivitas antioksidan pada penelitian ini lebih baik dibandingkan dengan penelitian yang dilakukan oleh Budiana et al. (2018), yang menunjukkan aktivitas antioksidan ekstrak etanol kulit buah kacang gude dan kulit kacang kratok adalah 22.07 $\mu\text{g/mL}$ dan 358.66 $\mu\text{g/mL}$.

Aktivitas Inhibisi Enzim α -Glukosidase. Aktivitas anti diabetes dalam penelitian ini dilakukan dengan penghambatan enzim α -glukosidase.



Gambar 5 Reaksi Hidrolisis Substrat oleh Enzim α -Glukosidase (Pratama et al. 2015)

Enzim α -glukosidase adalah yang mengkatalisis reaksi akhir dari karbohidrat di dalam usus. Digunakan larutan enzim dengan konsentrasi 0.04 U / mL dalam uji penghambatan aktivitas α -glukosidase, larutan substrat dengan konsentrasi 10 mM. Uji ini dilakukan untuk menentukan daya hambat ekstrak etanol 96% dan fraksi kulit kopi terhadap α -glukosidase dengan melihat nilai IC_{50} . IC_{50} adalah konsentrasi yang dibutuhkan untuk menghambat 50% aktivitas enzim. Prinsip kerja dari uji ini adalah reaksi hidrolisis substrat p-nitrofenil- α -D-glukopiranosida menghasilkan α -D-glucose and p-nitrophenol berwarna kuning, dapat dilihat pada Gambar 5. Warna kuning yang dihasilkan oleh p-nitrofenol menjadi indikator aktivitas inhibisi α -glukosidase, warna kuning yang memudar, menunjukkan aktivitas inhibisi yang tinggi (Sugiwati et al. 2009).

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa aktivitas inhibisi α -glukosidase akarbose, ekstrak etanol 96% kulit kopi dan fraksinya ditunjukkan dalam Gambar 3. Gambar 3 menunjukkan bahwa konsentrasi

inhibisi aktivitas α -glukosidase pada akarbose sebagai pembanding sangat tinggi dengan nilai IC_{50} 2.87 $\mu\text{g/mL}$. Ekstrak etanol 96%, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air memiliki konsentrasi inhibisi aktivitas α -glukosidase yang lemah diatas 100 berturut-turut adalah 588.85 $\mu\text{g/mL}$, 341.81 $\mu\text{g/mL}$, 591.61 $\mu\text{g/mL}$, dan 798.78 $\mu\text{g/mL}$.

Perbedaan aktivitas inhibisi pada sampel disebabkan oleh fraksinasi dengan pelarut yang berbeda. Jika dibandingkan dengan IC_{50} dari ekstrak etanol dan ekstrak air umbi bawang dayak (Early et al. 2013) berturut-turut sebesar 241 $\mu\text{g/mL}$ dan 505 $\mu\text{g/mL}$, $\text{IC}_{50} > 100$ menunjukkan masih lemahnya aktivitas inhibisi dari suatu ekstrak. Namun kulit kopi masih mempunyai potensi dalam inhibisi aktivitas α -glukosidase. Kemampuan ekstrak menghambat enzim hidrolisis karbohidrat yang disebabkan oleh keberadaan senyawa fenolik yang dapat mengikat protein enzim (Zhang et al. 2015). Jika dibandingkan dengan total flavonoid pada Gambar 1, terlihat ada hubungan antara inhibisi α -glukosidase dan total flavonoid

untuk ekstrak dan semua fraksi. Semakin tinggi total flavonoid, semakin rendah IC₅₀ dari inhibisi α -glukosidase. Berdasarkan penelitian Zhu et al. (2019) menyatakan bahwa senyawa flavonoid mempunyai potensi sebagai inhibitor enzim α -glukosidase. Flavonoid merupakan bagian dari senyawa fenolik (Redha 2010) yang diduga berperan dalam aktivitas inhibisi enzim α -glukosidase.

Kandungan Senyawa Aktif Fraksi n-Heksana Kulit Kopi.

Identifikasi senyawa aktif berdasarkan hasil terbaik dari aktivitas inhibisi α -glukosidase menggunakan LC-MS/MS. Hal ini

dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa kimia yang berperan sebagai inhibitor α -glukosidase. Hasil identifikasi fraksi n-heksana menggunakan LC-MS/MS pada Gambar 4 memperlihatkan sejumlah kromatogram dengan waktu retensi yang berbeda-beda sebagai penciri dari suatu senyawa. Berdasarkan penelusuran senyawa dari kromatogram fraksi n-heksana menggunakan bank data senyawa kimia "Pubchem" dan "Chempider", diperoleh data bahwa ada 6 senyawa aktif yang kemungkinan berperan sebagai inhibitor α -glukosidase (Tabel 3).

Tabel 3 Senyawa Aktif Fraksi n-Heksana Kulit Kopi

Peak	Formula	Kemungkinan Senyawa	Senyawa dengan formula yang sama	
			Pubchem	Chempider
0.937	C ₃ H ₆ O	Propionaldehyde	106	12
5.536	C ₁₂ H ₈ O ₇	Ancistroquinone E	44	16
6.470	C ₁₉ H ₁₂ O ₈	Diacerein	37	11
11.410	C ₁₉ H ₂₄ O ₇	Cedronin	776	3
13.712	C ₂₈ H ₃₂ O ₁₆	Rhamnetin-3-O-neohesperidoside	281	148
17.033	C ₁₅ H ₂₀ O	Ar-Turmeron	4 266	2 110
17.970	C ₁₅ H ₁₆ O ₄	Hemigossipol	3 303	23
19.670	C ₂₆ H ₁₈ O ₁₀	Madurahydroxylactone	38	2
20.610	C ₆ H ₁₆ O ₈	Myo-inositol dihidrat	5	-
20.870	C ₁₄ H ₁₀ O	9-Phenanthro	293	1
21.800	C ₂₈ H ₄₀ O ₁₁	Picrasinode B	67	37
23.680	C ₂₉ H ₄₆ O ₅	18-acetoxy-1 α ,25-dihydroxyvitamin D3	410	110
23.680	C ₃₁ H ₂₂ O ₅	Nordracorubin	39	17
24.700	C ₃₈ H ₄₆ O ₁₁	Tetronolida	31	17
25.550	C ₂₁ H ₄₀ O ₁₀	Octyl 2-O-(2-O-methyl-alpha-L-fucopyranosyl)-beta-D-galactopyranoside	26	8
26.400	C ₃₇ H ₄₀ O ₆	1-O,2-O,4-O,6-O-Tetrabenzyl-3-O-[(Z)-1-propenyl]-D-myo-inositol	162	51
26.830	C ₃₃ H ₃₆ O ₂₃	Luteolin 7,4'-diglukuronida-3'-glukosida	-	1
26.910	C ₃₃ H ₂₄ O ₈	1,5-Bis(4,5-dihydroxy-10-oxo-9H-anthracen-9-yl)pentane-1,5 dione	34	3
27.340	C ₁₈ H ₂₈ O ₁₆	Ascorbyl Lactoside	10	3
27.850	C ₂₆ H ₃₂ O ₁₁	Brusatol	168	79
28.190	C ₃₁ H ₃₄ O ₁₇	Kaempferol 3-(4'',6''-diasetilglukosida)-7-rhamnosida	9	4
28.360	C ₁₈ H ₈ O ₂	1,5-dietinilanthraquinone	18	3
31.430	C ₃₄ H ₃₆ O ₈	Phorbol-12,13-dibenzoate	106	32
38.750	C ₁₇ H ₂₄ O ₃	Terallethrin	4977	3319
40.540	C ₁₇ H ₂₆ O ₁₁	Ipolamiide	201	1
44.880	C ₃₈ H ₂₂ O ₆	Anigorootin	11	3
46.330	C ₁₇ H ₂₀ O ₅	Balduilin	1757	31

Senyawa-senyawa hasil identifikasi LC-MS/MS yang kemungkinan berkontribusi sebagai inhibitor α -glukosidase dari data kromatogram adalah senyawa Diacerein ($C_{19}H_{12}O_8$) yang muncul pada waktu retensi 6.47 menit yang merupakan golongan antrakuinon, Rhamnetin-3-O-neohesperidoside ($C_{28}H_{32}O_{16}$) waktu retensi 13.712 menit merupakan golongan flavonoid, Ar-Tumeron ($C_{15}H_{20}O$) waktu retensi 17.033 menit merupakan golongan seskuiterpen, Luteolin 7,4'-diglucuronide-3'-glucoside ($C_{33}H_{36}O_{23}$) waktu retensi 26.830 menit flavonoid, Kaempferol 3-(4",6"-diacetylglucoside)-7-rhamnoside ($C_{31}H_{34}O_{17}$) waktu retensi 28.190 menit merupakan golongan flavonoid, dan 1,5-diethynylanthraquinone ($C_{18}H_8O_2$) waktu retensi 28.360 menit merupakan golongan antrakuinon. Dari hasil penelitian ini dapat dilihat bahwa ada tiga golongan senyawa yaitu Antrakuinon, Flavonoid, dan Seskuiterpen. Berdasarkan penelitian sebelumnya dinyatakan bahwa Flavonoid (Zhu et al. 2019; Ghani et al. 2019), Antrakuinon (Alam et al. 2019), dan Seskuiterpen (Ying et al. 2014) bertindak sebagai inhibitor α -glukosidase.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan syukur kepada Allah yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk menyelesaikan karya tulis ini. Terima kasih penulis ucapkan kepada Departemen Biokimia dan pranata laboratorium Penelitian Departemen Biokimia FMIPA IPB dan laboratorium Pusat Studi Biofarmaka IPB. Penulis menyampaikan terima kasih kepada Ariza Saputra yang telah membantu dalam pengadaan dan pengiriman sampel kulit kopi dari Kabupaten Aceh Tengah. Semoga karya ilmiah ini bermanfaat.

DAFTAR PUSTAKA

- [ADA] American Diabetes Association. 2018. Standards of medical care in diabetes. *Diabetes Care*. 41(1): 13.
- [BSN] Badan Standarisasi Nasional. 1992. SNI 01-2891-1992 *Cara Uji Makanan dan Minuman*. Jakarta (ID) : Badan Standardisasi Nasional.
- Alam MB, Bajpai VK, Ra JS, Lim JY, An H, Shukla S, Kuan KT, Khan I, Han YK, Na M, Lee SH.2019. Anthraquinone-type inhibitor of α -glukosidase enhances glucose uptake by activating an insulin-like signaling pathway in C2C12 myotubes. *Food Chem. Toxicol.*129: 337-343
- Andrianto D, Katayama T, Suzuki T. 2015. Screening of antioxidant and antihyperlipidemic potencies of Indonesian underutilized fruits. *J. Forest Biomass Utilization Soc.* 10(1):19-25.
- Arab F, Alemzadeh I, Maghsoudi V. 2011. Determination of antioxidant component and activity of rice bran extract. *Scientia Iranica*. 18(6): 1402-1406.
- Ariadi HP, Sukatiningsih, Windrati WS.2015. Ekstraksi senyawa antioksidan kulit buah kopi : kajian jenis kopi dan lama maserasi. *Berk. ilm. pertan.* 1(1) : 1-5.
- Arifianti L, Oktarina RD, Kusumawati I. 2014. Pengaruh jenis pelarut pengekstraksi terhadap kadar sinensetin dalam ekstrak daun *Orthosiphon stamineus*. *EJPH.* 2(1): 1-4.
- Badarinath A, Rao K, Chetty CS, Ramkanth S, Rajan T, & Gnanaprakash K. 2010. A review on *in-vitro* antioxidant methods : comparisons, correlations, and considerations. *Int. J. Pharmtech Res.* 2 (2) : 1276-1285.
- Blazics B, Alberti A, Beni S, Kursinszki L, Tölgyesi L, Kery A. 2011. Identification and LC-MS-MS determination of acteoside, the main antioxidant compound of *Euphrasia rostkoviana*, using the isolated target analyte as

- external standard. *J. Chromatogr. Sci.* 49(3) : 203-208.
- Budiana W, Suhardiman A, Kirana O.2018. Aktivitas antioksidan ekstrak kulit buah kacang kratok (*Phaseolus lunatus*) dan kulit buah kacang gude (*Cajanus cajan*) dengan metode dpph serta penetapan kadar total flavonoid dan fenol. *J. Pharmacopolium.* 1 (3) : 162-169.
- Dacosta M, Sudirga SK, Muksin IK (2017) Perbandingan kandungan minyak atsiri tanaman serih wangi (*Cymbopogon nardus* L. Rendle) yang ditanam di lokasi berbeda. *Simbiosis.* 5(1) : 25-31.
- Dai J, Mumper RJ. 2010. Plant phenolics: Extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules.* 15: 7313-7352.
- Early AF, Astawan M, Wresdiyati T, Dewi NY. 2013. Kapasitas antioksidan dan inhibitor alfa glukosidase ekstrak umbi bawang dayak. *JTIP.* 24 (2) : 161-167.
- Efendi Z, Harta L. 2014. *Kandungan Nutrisi Hasil Fermentasi Kulit Kopi (Studi Kasus Desa Air Meles Bawah Kecamatan Curup Timur).* Bengkulu (ID) : BTBP Bengkulu.
- Esquivel P, Jimenez VM.2012. Functional properties of coffee and coffee by-products. *Food Res. Int.* 46 (2012) : 488-495.
- Febrinda AE, Astawan M, Wresdiyati T, Yuliana ND. 2013. Kapasitas antioksidan dan inhibitor alfa glukosidase ekstrak umbi bawang dayak. *JTIP.* 24 (2) : 161-167
- Ghani U, Alam MN, Yousaf M, Ul-Haq Z, Al-Rehaily AJ.2019. Natural flavonoid α -glucosidase inhibitors from *Retama raetam*: enzyme inhibition and molecular docking reveal important interactions with the enzyme active site.*Bioorg. Chem.*doi:<https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2019.03.079>.
- Ismail AI. 2017. *Aktivitas Antioksidan dan Inhibisi α -Glukosidase Formulasi Ekstrak Angkak (Red Yeast Rice) dan Bekatul (Rice Bran) Sebagai Antidiabetes Secara In Vitro.* Bogor (ID) : IPB.
- Kim JS, Kwon CS, Son KH.2000. Inhibition of alpha glucosidase and amylase by luteolin, a flavonoid. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 64 (11): 2458-2461.
- Kusuma A.2015. Penelitian pengukuran kadar air buah. *Seminar Nasional Cendekiawan.* (2015) : 12-27.
- Marcelinda A, Ridhay A, Prismawiryanti. 2016. Aktivitas antioksidan ekstrak limbah kulit ari biji kopi (*Coffea sp*) berdasarkan tingkat kepolaran pelarut. *J. Nat. Sci.* 5(1) : 21- 30.
- Mattjik AA, Sumertajaya IM. 2002. *Perancangan Percobaan dengan Aplikasi SAS dan Minitab.* Bogor (ID) : IPB Press.
- Pratama Y, Sarjono PR, Mulyani NS. 2015. Skrining Metabolit Sekunder Bakteri Endofit yang Berfungsi sebagai Antidiabetes dari Daun Mimba (*Azadirachta Indica*). *J. Kim. Sains Apl.* 18 (2): 73 – 78.
- Pratiwi L, Fudholi A, Martien R, Pramono S. 2016. Ekstrak etanol, ekstrak etil asetat, fraksi etil asetat, dan fraksi n-heksan kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.) sebagai sumber zat bioaktif penangkal radikal bebas.*JPSCR.* 1 : 71-82.
- Redha A. 2010. Flavonoid: struktur, sifat antioksidatif dan peranannya dalam sistem biologis. *Jurnal Belian.* 9 (2) : 196-202.
- Romadanu, Rachmawati SH, Lestari SD. 2014. Pengujian aktivitas antioksidan ekstrak bunga lotus (*Nelumbo nucifera*). *Fishtech.*3 (1) :1-7.
- Saisa dan Syabriana M. 2018. Produksi bioetanol dari limbah kulit kopi menggunakan enzim *Zymomonas Mobilis* dan *Saccharomyces cerevisiae*.*Serambi Engineering.*3 (1) : 271-278.

- Sancheti S, Sancheti S, Sung YS. 2009. Chaenomeles sinensis : A potent α - and β -glucosidase inhibitor. *American Journal of Pharmacology and Toxicology*. 4 (1): 8-11.
- Sugiwati S, Setiasih S, Afifah E. 2009. Antihyperglycemic activity of the mahkota dewa [*Phaleria macrocarpa (scheff.) Boerl.*] leaf extracts as an alpha glucosidase inhibitor. *Makara Kesehatan*. 13: 74-78.
- Teh SS, Bekhit AED, Birch J. 2014. Antioxidative polyphenols from defatted oilseed cakes: effect of solvent. *Antioxidants*. 3 (2014) : 67-80. doi:10.3390/antiox3010067.
- Vongsak B, Sithisarn P, Mangmool S, Thongpradichote S, Wongkrajang Y, Gritsanapan W. 2013. Maximizing total phenolons, total flavonoids content and antioxidant activity of Moriga oleifera leaf extract by the appropriate extraction method. *Ind. Crops Prod*. 44: 566-571.
- Widowati W. 2008. Potensi antioksidan sebagai antidiabetes. *Jurnal Kesehatan Masyarakat*. 7 (2) : 1-10.
- Widyawati PS, Wijaya CH, Harjosworo PS, Sajuthi D. 2010. Pengaruh ekstraksi dan fraksinasi terhadap kemampuan menangkap radikal bebas DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*) ekstrak dan fraksi daun beluntas (*Pluchea indica Less*). Seminar Rekayasa Kimia dan Proses. ISSN: 1411-4216.
- Wulandari ET, Elya B, Hanani E, Pawitan JA. 2013. In vitro antioxidant and cytotoxicity activity of extract and fraction *Pyrrosia piloselloides* (L) m.g price. *Int. J. Pharmtech Res*. 5 (1): 119-125.
- Ying YM, Zhang LY, Zhang X, Bai HB, Liang DE, Ma LF, Shan WG, Zhan ZJ. 2014. Terpenoids with alpha-glucosidase inhibitory activity from the submerged culture of *Inonotus obliquus*. *Phytochemistry*. 108:171-176.
- Zhang H, Wang G, Beta T, Dong J. 2015. Inhibitory properties of aqueous ethanol extracts of propolis on alpha-glucosidase. *J. Evid. Based Complementary Altern. Med.* DOI:10.1144/2015/587383.
- Zhu J, Zhang B, Wanga B, Lia C, Fua X, Huang Q. 2019. In-vitro inhibitory effects of flavonoids in *Rosa roxburghii* and *R. sterilis* fruits on α -glucosidase: effect of stomach digestion on flavonoids alone and in combination with acarbose. *J. Funct. Foods*. 54 :13–21
- Zubaidah E dan Sari DP. 2015. Pengaruh penambahan kacang hijau pada media beras IR36 terhadap pigmen dan lovastatin angkak. *JPA*. 3(3): 962-971.