

Uji Aktivitas Isoflavon Tempe terhadap Penghambatan Enzim α -Glukosidase dan Pengaruhnya pada Tikus Hiperglikemik

(The Activity of Tempe Isoflavone in Inhibiting the α -Glucosidase Enzyme and It's Effect on Hyperglycemic Rats)

I NYOMAN SUARSANA*

Laboratorium Biokimia, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana, Bali.

Diterima 14 Desember 2009, Disetujui 10 Maret 2010

Abstrak: Isoflavon adalah senyawa bioaktif pada tempe yang dilaporkan mempunyai efek positif terhadap kesehatan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase oleh isoflavon tempe secara *in vitro* dan efek antihyperglykemik *in vivo* pada tikus putih hyperglykemia. Uji aktivitas *in vitro* daya hambat isoflavon tempe terhadap enzim α -glukosidase menggunakan metode spektrofotometri, sementara evaluasi *in vivo* menggunakan tikus dalam keadaan hyperglykemik. Penelitian ini menggunakan 35 ekor tikus putih jantan galur *Sprague Dawley* berumur dua bulan. Tikus dibagi menjadi tujuh kelompok perlakuan: (1) kelompok kontrol negatif; (2) kelompok kontrol positif hyperglykemia; (3-6) kelompok hyperglykemia dan diberi isoflavon tempe masing-masing dengan dosis 100, 200, 300, dan 400 mg/kg bb per oral; dan (7) kelompok kontrol obat positif diberi obat acarbose 4,5 mg/kg bb. Kadar glukosa darah diukur setiap 0, 30, 60, 120, 180, dan 240 menit setelah perlakuan menggunakan alat *Blood Glucose Test Meter GlucoDr*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa isoflavon tempe mempunyai daya hambat *in vitro* terhadap aktivitas enzim α -glukosidase dengan inhibisi sebesar 11,89% dan nilai IC_{50} sebesar 1,4 mg, dan dapat dinyatakan bahwa mekanisme daya hambat ini disebabkan oleh daidzein dan genistein. Uji aktivitas antihyperglykemik isoflavon tempe pada berbagai dosis menunjukkan bahwa pada dosis 400 mg/kg bb mempunyai daya antihyperglykemik.

Kata kunci: enzim α -glukosidase, hyperglykemik, tempe, tikus.

Abstract: Isoflavone is a bioactive compound found in fermented soy bean or tempe, and found to have beneficial effect on human health. The objectives of this research were to assay the activity of tempe isoflavone in inhibiting the α -glucosidase enzyme *in vitro* and to determine the dosage of antihyperglycemic activity of isoflavone tempe. Inhibitory effects of tempe isoflavone on α -glucosidase enzyme was tested by spectrophotometry method while *in vivo* evaluation are conducted using rats under hyperglycemic condition. A total of thirty five male Sprague Dawley rats, which is two months old were used in this study. The rats were divided into seven groups: (1) negative control group; (2) positive hyperglycemic group; (3-6) positive hyperglycemic group and treated with tempe isoflavone with dosages of 100, 200, 300, and 400 mg/kg body weight (bw); and (7) positive hyperglycemic group treated with acarbose dosage of 4,5 mg/kg bw. Blood glucose level was evaluated every 0, 30, 60, 120, 180, and 240 minutes following treatment using Blood Glucose Test Meter GlucoDr. The result showed that the inhibitory effect of tempe isoflavone on α -glucosidase enzyme was 11.89%, with IC_{50} 1.4 mg, and this mechanisms are caused by daidzein and genistein. Isoflavone of tempe with dose of 400 mg/kg bw showed an antihyperglycemic effect.

Keywords: α -glucosidase enzyme, hyperglycemic, tempe isoflavone, rats.

* Penulis korespondensi, HP. 081338558444
e-mail: suarsana65@yahoo.com

PENDAHULUAN

DIABETES mellitus adalah suatu kelompok penyakit metabolik kompleks yang ditandai oleh suatu keadaan hiperglikemia, yaitu meningkatnya kadar glukosa darah hingga melebihi kadar normal. Hiperglikemia terjadi karena kegagalan sekresi insulin dan atau kerja insulin atau kedua-duanya⁽¹⁾. Pada tikus diabetes terjadi kegagalan metabolisme karbohidrat. Kegagalan penggunaan karbohidrat akan menyebabkan terjadinya hiperglikemia dan mempercepat lipolisis sehingga dapat menimbulkan keadaan hiperlipidemia⁽²⁾.

Defisiensi insulin menyebabkan gangguan metabolisme glukosa, yaitu penurunan pemasukan glukosa ke dalam sel dan peningkatan pelepasan glukosa dari hati ke dalam sirkulasi. Hal inilah yang menyebabkan terjadinya hiperglikemia⁽³⁾.

Hiperglikemia kronis pada diabetes berhubungan dengan disfungsi atau kerusakan pada sel-sel beta pankreas. Kerusakan pada sel-sel beta pankreas dapat disebabkan oleh infeksi virus, antara lain virus Coxsackie⁽⁴⁾, reaksi autoimun berupa serangan antibodi terhadap sel-sel beta⁽⁵⁾, toksisitas glukosa⁽⁶⁾, kegemukan, dan faktor genetik.

Akhir-akhir ini komponen bahan aktif dari beberapa tanaman obat, bahan pangan, dan produk fermentasi kedelai (tempe) telah dilaporkan mempunyai aktivitas biologis yang berguna untuk pengobatan penyakit diabetes secara empiris. Efek hipoglikemik komponen bioaktif pada tanaman tersebut berkontribusi dalam mengembalikan fungsi sel beta pankreas sehingga menyebabkan peningkatan sekresi insulin, atau komponen bioaktif tersebut menghambat absorpsi glukosa di usus, melalui penghambatan aktivitas enzim α -glukosidase. Dilaporkan pula, kebanyakan tumbuhan yang mengandung flavonoid, glikosida, alkaloid, terpenoid, dan karotenoid mempunyai efek sebagai antidiabetes⁽²⁾.

Tempe sebagai bahan pangan hasil fermentasi kedelai dilaporkan mengandung senyawa isoflavon (genistein, daidzein, glisitein, dan faktor-2) yang bermanfaat untuk kesehatan. Senyawa isoflavon ini berperan sebagai antioksidan, antikanker, antiosteoporosis, dan hipokolesterolemik⁽⁷⁾. Senyawa bioaktif kedelai juga dilaporkan dapat menghambat masuknya glukosa ke dalam *brush border* usus kelinci secara *in vitro*⁽⁸⁾, serta mampu menstimulasi pankreas untuk meningkatkan sekresi insulin⁽⁹⁾.

Enzim α -glukosidase berfungsi menghidrolisis karbohidrat menjadi gula sederhana (glukosa) pada usus. Senyawa yang dapat menghambat aktivitas enzim α -glukosidase menunjukkan indikasi bahwa senyawa tersebut berpotensi sebagai antidiabetes dengan memperlambat penyerapan karbohidrat postprandial

sehingga menurunkan kadar gula darah⁽¹⁰⁾.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase oleh isoflavon tempe secara *in vitro* dan efek antihiperglikemik *in vivo* pada tikus putih dalam keadaan hiperglikemia.

BAHAN DAN METODE

BAHAN. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tempe, α -glukosidase (Wako 125 unit/mg), p-nitrofenil- α -D-glucopiranosida (PNP) (Sigma 051K1384), dapar fosfat, DMSO (dimethyl sulfo oxide) (Sigma), Na₂CO₃, HCl, isoflavon genestein[®](G-6649, Sigma), daidzein[®](D-7802, Sigma), glisitein[®](G-2785, sigma) dan acarbose[®] (Bayer, obat positif antidiabetes), *Rhizopus oryzae* (Raprima, Bandung). Metanol *pa*, tikus jantan galur *Sprague Dawley*, pakan tikus (komersial), larutan 90% sukrosa, dan strip *Blood Glucose Test Meter*.

Alat yang digunakan adalah spektrofotometer (Shimadzu), kromatografi cair kinerja tinggi (HPLC), penangas air, *blender*, *Blood Glucose Test Meter GlucoDr[™]* model AGM-2100 (Allmedicus Co Ltd.) kandang tikus, dan canul oral.

METODE. **Pembuatan tempe.** Pembuatan tempe menggunakan metode Hermans dan Karmini⁽¹¹⁾. Sebanyak 1.000 g kedelai lokal varietas Burangrang direndam air selama 24 jam. Kedelai hasil rendaman selanjutnya direbus selama 45 menit, kemudian dihilangkan kulitnya. Kedelai tanpa kulit dicuci sampai bersih dan dikukus selama 30 menit. Setelah dingin, kedelai dicampur dengan 2% (w/w) inokulum *Rhizopus oryzae* dan diaduk sampai rata. Campuran ini dibungkus dalam kantong plastik dan diperam selama 48 jam pada suhu kamar.

Penyiapan ekstrak isoflavon tempe. Ekstraksi isoflavon tempe menggunakan metode Pawiroharsono⁽¹²⁾. Sebanyak 20 g tempe dihancurkan dengan *blender*, kemudian diekstraksi 3 kali dengan metanol 50 mL. Hasil ekstraksi diinkubasi 0°C selama 24 jam untuk menggumpalkan lemaknya. Lemak ini kemudian dapat dipisahkan dengan mudah melalui penyaringan dengan kertas filter. Filtrat yang diperoleh selanjutnya diuapkan dengan rotavapor pada temperatur 40°C hingga mendapatkan ekstrak metanol kental. Ekstrak kental tersebut dilarutkan kembali dalam 10 mL metanol (p.a) 25%, kemudian disentrifugasi pada 4.000 rpm selama 15 menit untuk mendapatkan filtrat. Sebanyak 1,5 mL filtrat dimurnikan dengan kolom kromatografi volume 12 mL yang berisi poliamid dalam metanol 25%. Elusi kolom kromatografi dilakukan secara bertahap dengan metanol 25%, 50%, dan 70%. Eluen hasil elusi dengan 70% metanol dikumpulkan, selanjutnya dikeringkan dengan rotavapor. Endapan kering yang diperoleh dilarutkan kembali dalam 1 mL metanol

absolut. Filtrat disaring dengan kertas saring *Millipore* dan filtrat bening siap dianalisis dengan HPLC. Identifikasi senyawa isoflavon menggunakan standar daidzein[®], glisitein[®], dan genistein[®]. Sebanyak 10 µL filtrat diinjeksikan dengan mikroinjektor, berikutnya dipisahkan di kolom berdasarkan perbedaan polaritas. Komponennya dideteksi dengan detektor pada λ 240 nm dan ditampilkan dalam bentuk puncak berdasarkan waktu retensi. Untuk keperluan penelitian, jumlah tempe yang diekstrak 500 g dan mendapatkan ekstrak kental sebanyak 12,45 g.

Uji hambatan terhadap enzim α-glukosidase in vitro. Uji hambatan terhadap enzim α-glukosidase secara *in vitro* menggunakan metode Suteja⁽¹³⁾. Uji aktivitas penghambatan enzim α-glukosidase secara *in vitro* menggunakan model penghambatan pemecahan substrat p-nitrofenil-α-D-glukosidase menjadi p-nitrofenol berwarna kuning dan glukosa oleh enzim α-glukosidase. Aktivitas penghambatan enzim diukur berdasarkan jumlah p-nitrofenol yang dihasilkan dengan mengukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer pada λ 400 nm. Larutan enzim dibuat dengan melarutkan 1,0 mg α-glukosidase dalam 100 mL dapar fosfat (pH 7,0). Sebelum digunakan, sebanyak 1 ml larutan enzim tersebut diencerkan 25 kali dengan dapar fosfat (pH 7,0). Campuran reaksi terdiri dari 250 µL 20 mM p-nitrofenil α-D-glukopiranosida sebagai substrat, 490 µL mM dapar fosfat (pH 7,0), 10 µL larutan sampel dalam DMSO dan 10 µL DMSO. Setelah campuran reaksi diinkubasi dalam penangas air pada suhu 37°C selama 5 menit, 250 µL larutan enzim ditambahkan dan selanjutnya diinkubasi lagi dalam penangas air pada suhu 37°C selama 15 menit. Reaksi enzim dihentikan dengan penambahan 1000 µL 200 mM natrium karbonat. Hasil reaksi kemudian dibaca absorbansinya pada λ 400 nm. Konsentrasi sampel yang digunakan dengan variasi konsentrasi 3,125; 6,25; 12,5; 25; dan 50 ppm dengan pelarut DMSO. Uji dilakukan terhadap isoflavon tempe, isoflavon genistein[®], daidzein[®], glisitein[®] (isoflavon murni, Sigma) dan acarbose[®] (obat positif antidiabet, generik). Persen inhibisi dapat dihitung dengan persamaan:

$$[(C-S)/C] \times 100$$

S = absorbansi sampel (S1-S0); S1 = absorbansi sampel dengan penambahan enzim; S0 = absorbansi sampel tanpa penambahan enzim; dan C = absorbansi kontrol (DMSO) tanpa sampel (kontrol-blanko).

Penghitungan IC₅₀ diperoleh dari persamaan regresi:

$$Y = a + b \ln(X)$$

Y = persentase inhibisi; a = konstanta; b = kecepatan

peningkatan persentase inhibisi; dan X = konsentrasi (mg).

Uji aktivitas antihiperqlikemik isoflavon tempe pada tikus dalam kondisi hiperqlikemik. Sebanyak 35 ekor tikus putih jantan galur *Sprague Dawley* umur dua bulan berat badan ± 200 g telah digunakan dalam penelitian ini. Tikus percobaan dibagi menjadi tujuh kelompok perlakuan, yaitu (1) kelompok kontrol negatif dimana tikus tidak diberi isoflavon tempe dan tidak hiperqlikemik; (2) kelompok kontrol positif hiperqlikemik dimana tikus hiperqlikemik dan tidak diberi isoflavon tempe; (3-6) kelompok hiperqlikemik dan diberi isoflavon (ISF) tempe masing-masing dosis 100, 200, 300, dan 400 mg/kg bb per oral; dan (7) kelompok kontrol obat positif antihiperqlikemik, dimana tikus hiperqlikemik dan diberi obat acarbose 4,5 mg/kg bb. Pakan yang diberikan adalah ransum standar dan air minum *ad libitum*. Sebelum diberi perlakuan, tikus diadaptasikan selama dua minggu. Untuk membuat tikus hiperqlikemik tikus diinduksi dengan larutan 90% sukrosa sebanyak 1 cc/ekor tikus per oral yang diberikan 10 menit setelah pemberian isoflavon tempe maupun obat acarbose. Kadar glukosa darah diukur pada menit ke-0, 30, 60, 120 dan 180 menit setelah perlakuan. Pengelompokan perlakuan tikus untuk uji aktivitas antihiperqlikemik isoflavon tempe disajikan pada Tabel 1.

Pengukuran Kadar Glukosa Darah pada Tikus Percobaan. Kadar glukosa darah tikus percobaan ditentukan dengan metode biosensor glukosa oksidase, menggunakan alat *Blood Glucose Test Meter GlucoDr™*. Darah diambil melalui ujung ekor tikus yang sebelumnya dibersihkan dengan alkohol 70%, kemudian diurut perlahan-lahan dan ujung ekor ditusuk dengan jarum kecil (*syringe* 1 cc). 14 Darah yang keluar disentuhkan pada strip glukometer. Kadar glukosa darah akan terbaca di layar *GlucoDr™* setelah 11 detik dan dinyatakan dalam mg/dl.

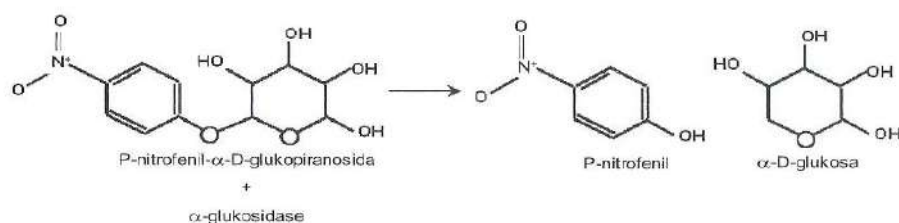
Rancangan Percobaan dan Analisis Data. Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). Data yang diperoleh dianalisis dengan analisis sidik ragam (ANOVA). Jika perlakuan memberikan pengaruh yang nyata, maka pengujian dilanjutkan dengan uji beda Duncan pada taraf 5% untuk mengetahui perbedaan antarperlakuan⁽¹⁵⁾.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Aktivitas daya hambat isoflavon tempe terhadap enzim α-glukosidase. Enzim α-glukosidase berfungsi memecah karbohidrat menjadi glukosa. Karena itu, senyawa yang dapat menghambat aktivitas enzim tersebut menunjukkan indikasi sebagai antidiabetes. Pada penelitian ini, uji daya hambat aktivitas α-glukosidase

Tabel 1. Pengelompokan perlakuan tikus untuk uji antihiperlikemik.

Kelompok	Keterangan	Perlakuan	
		Normal (Air suling 1 ml/ekor)	Hiperlikemik (90% sukrosa dosis 1 cc/ekor)
1	Kontrol negatif (normal)	+	-
2	Kontrol positif hiperlikemik	-	+
3	ISF-100 mg/kg bb	-	+
4	ISF-200 mg/kg bb	-	+
5	ISF-300 mg/kg bb	-	+
6	ISF-400 mg/kg bb	-	+
7	Acarbose 4,5 mg/kg bb	-	+

Gambar 1. Hidrolisis p-nitrofenil- α -D-glukopiranosida oleh enzim α -glukosidase.

secara *in vitro* dilakukan menggunakan p-nitrofenil- α -D-glukopiranosida sebagai substrat. Enzim α -glukosidase akan menghidrolisis p-nitrofenil- α -D-glukopiranosida menjadi p-nitrofenol (berwarna kuning) dan glukosa dengan reaksi yang disajikan pada Gambar 1.

Aktivitas enzim diukur berdasarkan hasil absorbansi p-nitrofenol, apabila ekstrak metanol tempe memiliki kemampuan menghambat aktivitas enzim α -glukosidase maka p-nitrofenil yang dihasilkan akan berkurang. Hasil penelitian uji daya hambat aktivitas enzim α -glukosidase isoflavon tempe, genistein[®], dan daidzein[®] menunjukkan adanya daya hambat terhadap aktivitas enzim α -glukosidase sedangkan glisitein[®] tidak memiliki daya hambat terhadap enzim tersebut (Tabel 2).

Isoflavon tempe mempunyai aktivitas daya hambat terhadap enzim α -glukosidase sebesar 11,89%, daidzein[®] sebesar 13,28%, dan genistein[®] sebesar

Tabel 2. Persentase inhibisi dan nilai IC_{50} isoflavon tempe terhadap aktivitas enzim α -glukosidase.

Sampel	% Inhibisi	Nilai IC_{50} (mg)
Isoflavon tempe (ekstrak)	11,89	1,4
Daidzein [®] (murni)	13,18	0,6
Genistein [®] (murni)	14,19	0,6
Glisitein [®] (murni)	tt	-

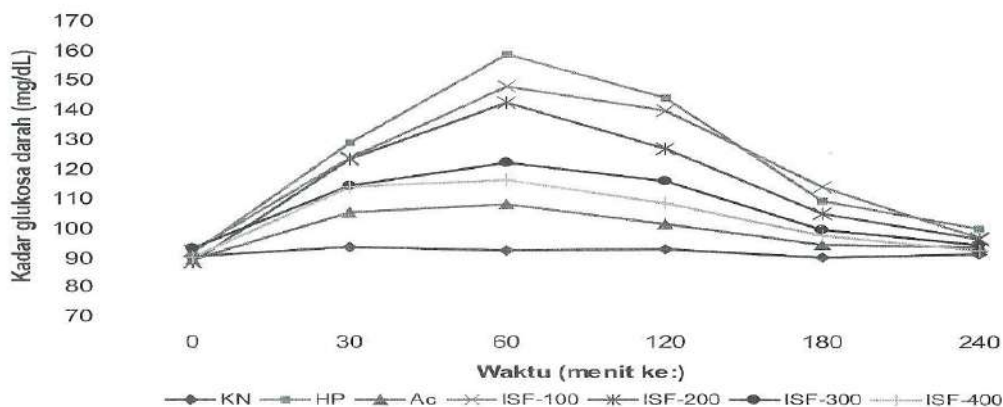
keterangan: tt = tidak terukur

14,19%, sedangkan glisitein[®] tidak menunjukkan daya hambat. Konsentrasi isoflavon tempe yang diperlukan untuk menghambat 50% (IC_{50}) aktivitas enzim α -glukosidase adalah 1,4 mg, sedangkan nilai IC_{50} untuk daidzein, dan genistein[®] masing-masing adalah 0,6 mg; dan 0,6 mg. Data tersebut menunjukkan bahwa ekstrak isoflavon tempe memiliki potensi sebagai antidiabetes dengan menghambat kerja enzim α -glukosidase dan dapat dinyatakan bahwa kemampuan penghambatan terhadap aktivitas enzim α -glukosidase disebabkan oleh genistein dan daidzein.

Menurut Lee dan Lee⁽¹⁶⁾, aktivitas hambatan genistein terhadap enzim α -glukosidase bersifat inhibitor nonkompetitif, dan bersifat reversibel. Genistein diduga berkompetisi dengan substrat normal (karbohidrat) untuk berikatan pada bagian sisi aktif enzim α -glukosidase yang mengakibatkan enzim tidak mampu mencerna substrat sehingga tidak dihasilkan produk yang diharapkan.

Aktivitas antihiperlikemik isoflavon tempe. Data respons kadar glukosa darah yang diamati selama 4 jam (0, 30, 60, 120, 180, dan 240 menit) disajikan pada Gambar 2.

Respons kadar glukosa darah yang diamati selama 4 jam setelah pemberian larutan sukrosa pada tikus menunjukkan terjadi keadaan hiperlikemik, yang mana kadar glukosa darah naik setelah 30 menit dan mencapai puncaknya pada menit ke-60 (158,42



Gambar 2. Respons kadar glukosa darah tikus normal, serta tikus hiperglikemia yang mendapat isoflavon tempe dan acarbose. KN (kontrol normal); HP (hiperglikemia); Ac (acarbose); ISF 100-400 (isoflavon tempe 100, 200, 300, 400 mg/kg bb).

mg/dL) dan berbeda nyata ($P < 0,05$) bila dibandingkan dengan kontrol negatif. Selanjutnya, pada menit ke-120, kadar glukosa mulai menurun hingga mendekati kadar normal pada menit ke-240. Peningkatan kadar glukosa darah setelah pemberian larutan sukrosa 90% (b/v) disebabkan karena terjadi peningkatan absorpsi glukosa pada usus yang berasal dari hasil hidrolisis sukrosa oleh enzim sukrase menjadi glukosa dan fruktosa.

Data kadar glukosa darah normal pada tikus menurut Gulfranz⁽¹⁷⁾ antara 99-127 mg/dL. Pada penelitian ini diperoleh kadar normal glukosa darah tikus 79-102 mg/dL. Karena itu, kadar glukosa darah pada tikus percobaan yang diinduksi sukrosa pada menit ke-60 (158,42 mg/dL) berada di atas batas nilai normal yang menandakan bahwa tikus dalam keadaan hiperglikemia. Pemberian isoflavon tempe dosis 300 dan 400 mg/kg bb sudah memperlihatkan daya hipoglikemik, di mana kadar glukosa darah pada menit ke-60 sudah mendekati kadar normal dan tidak berbeda nyata ($P > 0,05$) bila dibandingkan dengan kelompok acarbose.

Penurunan kadar glukosa darah pada tikus yang diberi obat acarbose disebabkan karena acarbose merupakan obat oral antihyperglykemik yang termasuk ke dalam golongan inhibitor enzim α -glukosidase yang bekerja dengan cara menghambat secara kompetitif enzim tersebut di dalam saluran usus sehingga menurunkan penyerapan glukosa setelah penyerapan⁽¹⁰⁾.

Pemberian isoflavon dosis 300 atau 400 mg/kg bb telah mampu mencegah terjadinya peningkatan kadar glukosa darah setelah pemberian larutan sukrosa. Daya hipoglikemik ini disebabkan karena isoflavon tempe mampu menghambat enzim α -glukosidase

di usus dan hal ini telah dibuktikan pada uji *in vitro*, yang menunjukkan isoflavon tempe, genistein[®], dan daidzein[®] mempunyai daya hambat terhadap aktivitas enzim α -glukosidase. Mekanisme kerja diperkirakan menyerupai obat acarbose, yaitu ekstrak metanol tempe mampu berperan sebagai inhibitor enzim α -glukosidase di dalam usus, di mana isoflavon tempe akan memperlambat penguraian sukrosa menjadi glukosa dan fruktosa, sehingga glukosa akan dilepas dan diserap lebih lambat di membran usus. Akibat dari mekanisme ini, kenaikan kadar glukosa darah setelah penyerapan dapat ditekan dan tidak terjadi kenaikan kadar glukosa darah (hiperglikemik) secara tiba-tiba.

Menurut Inzucchi⁽¹⁰⁾, enzim α -glukosidase terletak di dalam membran usus kecil pada bagian proksimal. Enzim ini berfungsi memecah ikatan disakarida atau karbohidrat kompleks menjadi gula sederhana. Karena itu, hambatan yang bersifat kompetitif terhadap enzim ini menyebabkan absorpsi karbohidrat diperlambat dan mengurangi pemanfaatan glukosa setelah penyerapan.

Penggunaan 0,1 mg/mL acarbose pada tikus dapat menurunkan absorpsi glukosa sebesar 20%. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa acarbose sebagai inhibitor α -glukosidase bekerja secara khusus terhadap pemasukan glukosa ke dalam lumen jejunum dan ini berarti acarbose dapat menurunkan kadar glukosa darah setelah penyerapan⁽¹⁸⁾.

Beberapa penelitian pada hewan percobaan menunjukkan bahwa diet yang mengandung kedelai berpengaruh pada metabolisme karbohidrat. Menurut Tsai⁽¹⁹⁾, konsumsi diet kedelai ternyata mampu menekan kadar glukosa dan trigliserida setelah penyerapan. Sementara, Vedavanam⁽⁸⁾ melaporkan bahwa penelitian *in vitro* pemberian ekstrak kedelai

dapat menghambat masuknya glukosa ke membran usus kelinci dan diduga senyawa fitokimia kedelai mampu menghambat enzim α -glukosidase. Hasil kedua penelitian ini menunjukkan bahwa pengaruh pemberian ekstrak kedelai mampu menurunkan kadar glukosa darah setelah penyerapan.

SIMPULAN

Isoflavon tempe mempunyai daya penghambatan terhadap enzim α -glukosidase *in vitro* sebesar 11,89% dengan nilai IC_{50} sebesar 1,4 mg dan dapat dinyatakan bahwa daya penghambatan terhadap enzim α -glukosidase disebabkan oleh kerja genistein dan daidzein.

Tingkat pemberian isoflavon tempe dosis 400 mg/kg bb mempunyai aktivitas antihiperqlikemik, yaitu dapat menekan kenaikan kadar glukosa darah pada tikus dalam keadaan hiperglikemia.

DAFTAR PUSTAKA

1. Auroma OI, Neergheen VS, Bahorun T, Jen LS. Free radicals, antioxidants and diabetes: embryopathy, retinopathy, neuropathy, nephropathy and cardiovascular complications. *Neuroembryol Aging*. 2006. 4:117-37.
2. Kim JS, Ju JB, Choi CW, Kim SC. Hypoglycemic and antihyperlipidemic effect of four korean medicinal plants in alloxan induced diabetic rats. *Am J Biochem Biotech*. 2006. 2: 154-160.
3. Dominiczak MH. Glucose homeostasis, fuel metabolism and insulin. In Baynes JW and Dominiczak MH Editors. *Medical biochemistry*. Second edition. Elsevier Mosby; 2005. 273-97.
4. Roivainen M, Rasilainen S, Ylipaasto S, Nissinen R, Ustinov J, Bouwens L, *et al*. Mechanisms of coxsackievirus-induced damage to human pancreatic b-cells. *The J Clin Endoc Metab*. 2000. 85:432-40.
5. Koczwara K, Bonifacio E, Ziegler AG. Transmission of maternal islet antibodies and risk of autoimmune diabetes in offspring of mothers with type 1 diabetes. *Diabetes*. 2004. 53:1-4.
6. Robertson RP, Harmon J, Tran PO, Poitout V. β -cell glucose toxicity, lipotoxicity, and chronic oxidative stress in type 2 diabetes. *Diabetes*. 2004. 53:S119-24.
7. Cooke GM. A review of the animal models used to investigate the health benefits of soy isoflavones. *J AOAC Int*. 2006. 89:1215-27.
8. Vedavanam K, Srijayanta S, O'Reilly J. Antioxidant action and potential antidiabetic properties of an isoflavonoid-containing soybean phytochemical extract (SPE). *Phytother Res*. 1999. 13:601-68.
9. Liu D, Zhen W, Yang Z, Carter JD, Si H, Reynolds KA. Genistein acutely stimulates insulin secretion in pancreatic-cells through a cAMP-dependent protein kinase pathway. *Diabetes*. 2006. 55:1043-50.
10. Inzucchi SE. Oral antihyperglycemic for type 2 diabetes: scientific review. *JAMA*. 2002. 287:360-72.
11. Hermana, Karmini M. Pengembangan teknologi pembuatan tempe. Di dalam Sapuan, Soetrisno N, Editor. *Bunga Rampai Tempe Indonesia*. Jakarta: Yayasan Tempe Indonesia; 1996.151-68.
12. Pawiroharsono S. 1995. Metabolisme isoflavon dan faktor II (6,74' trihidroksi isoflavon) pada proses pembuatan tempe. *Prosiding Simposium Nasional Pengembangan Tempe Dalam Industri Pangan Modern*. Yogyakarta 15-16 April, 1995:165-74.
13. Sutedja L. Bioprospecting Tumbuhan Obat Indonesia Sebagai Sediaan Fitofarmaka Antidiabetes. Laporan kemajuan Tahap II Riset Unggulan Terpadu. Pusat Penelitian Kimia-LIPI. 2003. 11-2.
14. Kerato M, Yamaguchi K, Takei S, Kino T, Yazawa K. Inhibitory effects of Pasuchaca (*Geranium dielsianum*) extract on α -glukosidase in mouse. *Biosci Biotechnol Biochem*. 2006. 70:1482-4.
15. Steel RGD, Torrie JH. *Prinsip dan Prosedur Statistika, suatu pendekatan biometrik*. Jakarta: PT. Gramedia Pustaka utama; 1993.168-205.
16. Lee DS, Lee SH. Genistein, a soy isoflavone, is a potent α -glukosidase inhibitor. *FEBS Letters*. 2001. 501:84-6.
17. Gulfraz M, Qadir G, Noshhen F, Parveen Z. Antihyperglycemic effects of *Berberis lyceum royle* in alloxan induced diabetic rats. *Diabetologia Croatica*. 2007. 36 (3):49-54.
18. Hirsh AJ, Yao SY, Young DJ, Cheeseman CI. Inhibition of glucose absorption in the rat jejunum: a novel action of alpha-D-glukosidase inhibitors. *Gastroenterology* 1997. 113:205-11.
19. Tsai AC, Mott EL, Owen GM. Effects of soy polysaccharide on gastrointestinal functions, nutrient balance, steroid excretions, glucose tolerance, serum lipids and other parameter in humans. *Am J Clin Nutr*. 1983. 38:504-11.
20. Gonzalez AG, Bazzochi, Gupta MP. Xanthine oxidase inhibitory activity of some Panamanian plants from Celastraceae and Laminaceae. *J Ethnopharmacology*. 1995.46:25-9.
21. Tsutomi N, Masatoshi N, Akira I. Two new potent inhibitors of xanthine oxidase from leaves of *Perilla frustencens* Britten, var. *Acuta* Kudo. *Chem Pharm Bull*. 1990. 38(6):1772-74.