

## Identifikasi Senyawa $\beta$ -Sitosterol dari Ekstrak *n*-heksan Daun Mimba (*Azadirachta indica* A. Juss) dan Uji Penghambatan Enzim $\alpha$ -Glukosidase

### Isolation of $\beta$ -sitosterol from *n*-hexane Extracts of Mimba Leaves (*Azadirachta indica* A. Juss) and $\alpha$ -Glucosidase Enzyme Treatment

IVAN SANTOSO\*, PARTOMUAN SIMANJUNTAK, RAHMANIAR

Fakultas Farmasi Universitas Pancasila, Srengseng Sawah, Jagakarsa, Jakarta Selatan  
12640

Diterima 14 Maret 2017, Disetujui 7 Juli 2017

**Abstrak:** Mimba, *Azadirachta indica* adalah salah satu tanaman dari suku Meliaceae yang dapat menurunkan gula darah dan mengandung senyawa golongan terpenoid, flavonoid, alkaloid, saponin, tanin, asam lemak, steroid dan triterpenoid. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan identifikasi senyawa kimia dari salah satu ekstrak daun Mimba, dan mengetahui hasil uji penghambatan  $\alpha$ -glukosidase. Ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi menggunakan pelarut *n*-heksan, etilasetat, etanol, dan air dan uji penghambatan  $\alpha$ -glukosidase terhadap semua ekstrak. Ekstrak *n*-heksan dengan aktivitas terbaik dilakukan pemurnian dengan kromatografi kolom ( $\text{SiO}_2$ ); (i). *n*-heksan-etil asetat = 10:1 ~ 1:1, etil asetat, (ii). *n*-heksan-etil asetat = 5 : 1 memberikan satu isolat murni yang berbentuk serbuk putih. Identifikasi dengan menginterpretasi data spektra UV, IR, dan Resonansi Magnet Inti (proton, karbon dan DEPT), struktur kimia isolat murni adalah  $\beta$ -sitosterol yang mempunyai daya penghambatan enzim  $\alpha$ -glukosidase sebesar  $\text{IC}_{50}$  208,1  $\mu\text{g/mL}$ .

**Kata kunci:** *Azadirachta indica*,  $\beta$ -Sitosterol, enzim,  $\alpha$ -glukosidase, tumbuhan obat Indonesia.

**Abstract:** Mimba, *Azadirachta indica* is one of the family Meliaceae plants, which be used to lower blood sugar and contain terpenoids, flavonoids, alkaloids, saponins, tannins, fatty acids, steroids and triterpenoids. The aim of this research is to isolate and identify one of chemical structure and to know the inhibition  $\alpha$ -glucosidase enzyme from extract of leaves Mimba, *Azadirachta indica*. Extraction is done by maceration using *n*-hexane, ethyl acetate, methanol, water and then treatment for antidiabetic activity using the inhibition of the enzyme  $\alpha$ -glucosidase. Purification of *n*-hexane extract (the higher activity) is subjected by column chromatography ( $\text{SiO}_2$ ); (i). *n*-hexane-ethyl acetate = 10 : 1 ~ 1 : 1, ethyl acetate, (ii). *n*-hexane-ethyl acetate = 5 : 1) gave one pure compound as white powder. Identification by interpretation of spectra [UV, IR and NMR ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -NMR and DEPT)] the isolate compound is  $\beta$ -sitosterol has inhibition  $\alpha$ -glucosidation enzyme as ( $\text{IC}_{50}$  208,1  $\mu\text{g/mL}$ ).

**Keywords:** *Azadirachta indica*,  $\beta$ -sitosterol,  $\alpha$ -glucosidase enzyme, Indonesian medicinal plant

---

\* Penulis korespondensi, Hp. 0811975725/ 021-8754587  
e-mail: : ivan\_apt@yahoo.co.id/ partomsimanjtk@yahoo.com

## PENDAHULUAN

SALAH satu penyakit degeneratif yang saat ini menjadi penyakit yang banyak diderita masyarakat Indonesia adalah diabetes melitus (DM). Indonesia menempati urutan keempat dunia setelah Amerika Serikat, India dan Cina<sup>(1)</sup>. Diabetes melitus dikategorikan menjadi 3 jenis utama diabetes yaitu: Diabetes tipe 1 yang disebabkan tubuh tidak dapat memproduksi insulin, diabetes tipe 2 disebabkan resistensi insulin, dan diabetes gestasional yang terjadi pada sekitar 2–5 % dari seluruh kehamilan dan memungkinkan berkembang menjadi tipe 2 atau sembuh setelah melahirkan<sup>(2)</sup>. Penyakit DM yang bergantung pada jenisnya dapat disembuhkan dengan pemberian insulin atau dengan mengkonsumsi obat antidiabetes secara oral sehingga kadar glukosa darah tetap normal. Namun hal ini membutuhkan biaya yang tidak sedikit. Pengobatan diabetes mellitus akibat resistensi insulin antara lain dengan menggunakan obat hipoglikemik, penghambat kerja enzim  $\alpha$ -glukosidase dan diet yang membatasi konsumsi gula<sup>(3)</sup>. Meningkatnya jumlah penderita diabetes ini dipengaruhi oleh banyak faktor, antara lain pola hidup tidak sehat, kurang aktivitas fisik, pola makan tinggi lemak, gula, garam, serta kurang serat sehingga terjadi obesitas. Lembaga kesehatan dunia, WHO juga mengingatkan prevalensi penderita diabetes di Indonesia berpotensi mengalami kenaikan drastis dari 8,4 juta orang pada tahun 2000 menjadi 21,3 juta penderita di tahun 2030. Indonesia diperkirakan akan menempati peringkat keenam negara penderita diabetes di dunia pada tahun 2030, setelah tahun 2010 berada di peringkat sembilan. Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) pada tahun 2007 menunjukkan prevalensi diabetes di wilayah perkotaan mencapai 5,7 persen, dan hal yang memprihatinkan 73,7 persen pasien diabetes tersebut tidak terdiagnosa dan tidak mengonsumsi obat. Mengontrol kadar glukosa postprandial merupakan strategi penting dalam pencegahan DM tipe 2 sehingga dapat dilakukan pendekatan terapeutik dengan menunda absorpsi glukosa dengan cara menghambat enzim hidrolisis karbohidrat, seperti  $\alpha$ -glukosidase pada organ pencernaan<sup>(4)</sup>. Senyawa inhibitor  $\alpha$ -glukosidase bekerja menghambat enzim  $\alpha$ -glukosidase yang terdapat pada dinding usus halus. Enzim  $\alpha$ -glukosidase (maltase, isomaltase, glukomaltase dan sukrase) berfungsi untuk menghidrolisis oligosakarida dan disakarida pada dinding usus halus. Inhibisi kerja enzim ini secara efektif dapat mengurangi pencernaan karbohidrat kompleks dan absorpsinya, sehingga dapat mengurangi peningkatan kadar

glukosa postprandial pada penderita diabetes<sup>(5)</sup>. Beberapa inhibitor yang saat ini telah digunakan secara klinis adalah akarbose dan miglitol yang menghambat glikosidase seperti,  $\alpha$ -glukosidase dan  $\alpha$ -amilase. Namun, banyak agen hipoglikemik memiliki keterbatasan, yaitu menimbulkan efek samping dan meningkatkan komplikasi diabetes. Efek samping yang utama dari inhibitor  $\alpha$ -glukosidase pada gastrointestinal antara lain adalah kembung, mual, diare, dan flatulensi. Inhibitor  $\alpha$ -glukosidase alami yang berasal dari bahan alam dapat dimanfaatkan menjadi pendekatan terapi untuk mengobati hiperglikemia postprandial karena memiliki efek samping yang rendah dan harganya lebih terjangkau daripada obat anti-hiperglikemik sintetik<sup>(6)</sup>. Beberapa tanaman asli Indonesia yang memiliki aktivitas sebagai antidiabetes adalah daun binahong yang telah diteliti oleh Nirmala<sup>(7,8)</sup>. dan daun insulin yang telah diteliti oleh Genta<sup>(9)</sup>. Potensi alam Indonesia sangat mendukung pengembangan obat dari bahan tanaman (produk herbal). Tanaman mimba (*Azadirachta indica*) termasuk familia Meliaceae. Mimba, terutama dalam biji dan daunnya mengandung beberapa komponen dari produksi metabolit sekunder yang diduga sangat bermanfaat, baik dalam bidang pertanian (pestisida dan pupuk), maupun farmasi (kosmetik dan obat-obatan)<sup>(10)</sup>. Mimba (*Azadirachta indica A. Juss*) merupakan tanaman yang banyak ditemukan di Negara Tropis, salah satunya adalah Indonesia. Tanaman ini memiliki manfaat yang sangat banyak bagi kehidupan manusia. Daun mimba dimanfaatkan untuk penambah nafsu makan, disentri, borok, malaria dan antibakteri<sup>(11)</sup>. Selain itu daun mimba juga dapat digunakan untuk menurunkan gula darah, menurunkan total kolesterol dalam darah, LDL- dan VLDL-kolesterol, trigliserid dan total lipid dalam serum<sup>(12)</sup>. Daun mimba diketahui mengandung senyawa golongan terpenoid, flavonoid, alkaloid, saponin, tanin<sup>(13)</sup>, asam lemak<sup>(14)</sup>, steroid dan triterpenoid<sup>(15)</sup>. Ekstrak etanol dari biji mimba dilaporkan mengandung asam palmitat, asam stearat, asam oleat, etil oleat, asam oktadekanoat, etil ester oktadekanoat dan ester dioktil heksadioat<sup>(16)</sup>. Azadirachtin sendiri terdiri dari sekitar 17 komponen dan komponen yang mana yang paling bertanggung jawab sebagai pestisida atau obat, belum jelas diketahui<sup>(17)</sup>. Flavonoid dapat bersifat antidiabetes karena flavonoid mampu berperan sebagai senyawa yang dapat menetralkan radikal bebas, sehingga dapat mencegah kerusakan sel beta pankreas yang memproduksi insulin. Berdasarkan kenyataan tersebut di atas, maka kajian fitokimia terhadap tumbuhan *A indica A. Juss* layak untuk dilakukan, bukan saja ditujukan untuk mengungkapkan keragaman

lebih lanjut struktur kimiawi metabolit sekunder yang dikandungnya, melainkan juga dalam rangka mengungkapkan senyawa-senyawa bioaktif baru khususnya menentukan senyawa aktif antidiates yang berasal dari daun Mimba. Tujuan penelitian ini adalah untuk melihat potensi ekstrak kasar di dalam daun Mimba (*A. indica A. Juss*) dan mengetahui aktivitasnya sebagai penghambat enzim  $\alpha$ -glukosidase.

## BAHAN DAN ALAT

**Bahan dan Alat.** Daun *Azadirachta Indica A. Juss* yang diperoleh dari Balitro Bogor, etanol 95%, n-heksan, etil asetat, kloroform, asetonitril, aseton, diklorometan, dimetilsulfoksida (DMSO), kalium fosfat monobasa, natrium karbonat ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ), asam klorida (HCl),  $\text{FeCl}_3$ , pereaksi Meyer, pereaksi Dragendorf, pereaksi Bouchardat, serbuk Mg, lempeng KLT silika gel GF<sub>254</sub>, silika gel 60 mesh, 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH), acarbose, p-nitrofenil- $\alpha$ -D-glukopiranosida (PNP),  $\alpha$ -glukosidase. Seperangkat alat gelas laboratorium, *waterbath*, timbangan analitik (Metler Toledo), *rotary evaporator* (BUCHI Water Bath B-480), spektrofotometer UV-Vis (Hitachi U-1600), spektrofotometer Fourier-transform Infrared (FTIR, Shimadzu IR Prestige 21), spektrometri resonansi magnetik inti (RMI, JEOL JNM ECA-500 MHz)

## METODOLOGI

**Ekstraksi dan Pemurnian.** Simplisia daun Mimba diekstraksi dengan metode maserasi bertingkat dengan pelarut n-heksan, etil asetat, etanol, dan air. Maserasi tahap pertama simplisia daun Mimba yang di maserasi dengan pelarut n-heksan selama 24 jam kemudian disaring untuk memisahkan antara filtrat dengan residu dan diulangi sebanyak tiga kali maserasi tersebut menggunakan pelarut yang sama. Maserasi tahap kedua menggunakan pelarut etil asetat dilanjutkan tahap ke tiga (pelarut etanol) dan tahap ke empat (pelarut air). Maserat dari masing-masing pelarut kemudian dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* dan *water bath* sehingga diperoleh ekstrak pekat (ekstrak n-heksan, etil asetat, etanol dan air). Ekstrak pekat tersebut diuji hambatannya menggunakan  $\alpha$ -glukosidase. Ekstrak yang paling aktif (ekstrak n-heksan). Ekstrak n-heksan difraksinasi menggunakan kromatografi kolom ( $\text{SiO}_2$ ; (i). n-heksan-etil asetat = 10 : 1 ~ : 1, etilasetat; (ii). n-heksan-etil asetat = 5 : 1) hingga diperoleh isolat murni.

**Uji Penghambatan Aktivitas Enzim  $\alpha$ -glukosidase.** Sebanyak 1,0 mg  $\alpha$ -glukosidase ditimbang dan dilarutkan dalam 1 mL 0,01M buffer posfat (pH 7,0), kemudian dipipet 120  $\mu\text{L}$  dan ditambahkan 29,988 mL 0,01M buffer posfat (pH 7,0). Sebanyak 1 mg kuersetin ditimbang, lalu dilarutkan dengan DMSO 2 mL. Kemudian dibuat seri konsentrasi larutan uji 3,75  $\mu\text{L}$ , 7,5 $\mu\text{L}$ , 11,25  $\mu\text{L}$ , 15  $\mu\text{L}$  dan 18,75  $\mu\text{L}$ . Sehingga masing-masing memiliki nilai konsentrasi 3,75 ppm, 7,5 ppm, 11,25 ppm, 15 ppm dan 18,75 ppm. Sebanyak 475  $\mu\text{L}$  0,1 M buffer posfat (pH 7,0) ditambahkan pada 250  $\mu\text{L}$  0,5mM p- nitrofenil- $\beta$ -D-glukopiranosida, dan 25  $\mu\text{L}$  larutan sampel ke dalam tabung reaksi. Sebanyak 475 $\mu\text{L}$  0,1M buffer posfat (pH 7,0) ditambahkan pada 250  $\mu\text{L}$  0,5mM p-nitrofenil- $\beta$ -D- glukopiranosida, 250  $\mu\text{L}$  0,01M buffer posfat (pH 7,0), dan 25  $\mu\text{L}$  DMSO ke dalam tabung reaksi. Sebanyak 475  $\mu\text{L}$  0,1M buffer posfat (pH 7,0) ditambahkan pada 250  $\mu\text{L}$  0,5mM p-nitrofenil- $\beta$ - D-glukopiranosida, 250  $\mu\text{L}$  enzim  $\alpha$ -glukosidase dan 25  $\mu\text{L}$  kuersetin ke dalam tabung reaksi. Larutan blangko, larutan uji, dan larutan kontrol positif segera diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37 °C, keluarkan pada menit ke 15 kemudian tambahkan 250  $\mu\text{L}$  enzim  $\alpha$ - glukosidase pada larutan uji dan larutan kontrol positif. Masukkan kembali kedalaminkubator, 15 menit kemudian dikeluarkan dan hentikan reaksi dengan penambahan 1 mL 0,2M  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ . Jumlah p-nitrofenol yang dilepaskan diukur pada panjang gelombang 400 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Kuersetin digunakan sebagai baku pembandingan.

Persen penghambatan dapat dihitung dari persamaan :  $[(C-S) / C] \times 100$  ; dengan S = absorbansi sampel (yang diperoleh dari  $S_1-S_0$ , dimana  $S_1$  = absorbansi sampel dengan penambahan enzim dan  $S_0$  = absorbansi sampel tanpa penambahan enzim) dan C = absorbansi control (DMSO), tanpa sampel (control-blanko). Nilai  $\text{IC}_{50}$  diperoleh dari persamaan regresi linier  $Y = a + bx$ , kemudian disubstitusikan ke persamaan regresi linier menjadi :  $\text{IC}_{50} = (50 - a)/b$ .

**Identifikasi Isolat Murni.** Isolat murni yang diperoleh diambil data spektra seperti ultra violet (UV) untuk mengetahui gugus kromofor, infra merah (IR) untuk mengetahui adanya gugus fungsional dan Resonansi Magnet Inti (proton, karbon dan DEPT) untuk mengetahui karakteristik, jumlah proton dan karbon.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

**Ekstraksi.** Hasil ekstraksi simplisia Mimba (*A. indica*) menghasilkan persentase rendeman yang

paling tinggi pada ekstrak etanol sebesar 20,35% diikuti ekstrak air. Hasil ini menunjukkan bahwa senyawa polar merupakan senyawa utama (major) di dalam daun Mimba (Tabel 1).

**Tabel 1. Hasil Ekstraksi Daun Mimba (*Azadirachta indica*).**

No	Ekstrak	Bobot (g)	Rendemen (%)*
1	n-heksan	12,06	1,21
2	Etilasetat	69,64	6,69
3	Etanol	200,49	20,35
4	Air	11,07	11,31

\*) dihitung dari berat kering simplisia 1 kg.

**Uji Aktivitas Penghambatan Enzim  $\alpha$ -glukosidase Ekstrak.** Hasil uji aktivitas penghambatan enzim  $\alpha$ -glukosidase terhadap semua ekstrak (n-heksan, etilasetat, etanol dan air) menunjukkan bahwa ekstrak n-heksan memberikan aktivitas yang paling tinggi dibandingkan ekstrak lainnya. Sehingga ekstrak n-heksan dilanjutkan untuk dilakukan, isolasi, pemurnian dan identifikasi senyawa kimia.

**Pemisahan Senyawa Fraksi n-heksan dengan Kromatografi Kolom.** Pemurnian ekstrak n-heksan dilakukan pada kromatografi kolom ( $\text{SiO}_2$ ; n-heksan-etilasetat = 10 : 1 ~ 1:1 dan etilasetat) menghasilkan 6 fraksi (F-1 ~ F6). Kemudian terhadap keenam fraksi dilakukan uji aktivitas penghambatan enzim  $\alpha$ -glukosidase (Lihat Tabel 2). Pemurnian fraksi Fr-3 dilakukan dengan kromatografi kolom ( $\text{SiO}_2$ ; n-heksan-etilasetat = 5 : 1) menghasilkan dua fraksi (Fr 3-1 dan Fr 3-2) yang memberikan  $\text{IC}_{50}$  penghambatan  $\alpha$ -glukosidase masing-masing sebesar 2018,1 dan 223,1  $\mu\text{g/mL}$  (Lihat Tabel 2).

**Tabel 2. Hasil Uji Aktivitas Hambatan  $\alpha$ -glukosidase untuk Ekstrak dan Hasil Kromatografi Kolom.**

No	Sampel	$\text{IC}_{50}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )
1	Ekst. n-heksan	119,13
2	Ekst. etilasetat	144,34
3	Ekst. etanol	762,64
4	Ekst. air	142,09
5	Fr-1	TD
6	Fr-2	TD
7	Fr-3	56,66
8	Fr-4	33,57
9	Fr-5	7,07
10	Fr-6	22,18

TD : Tidak dilakukan (sampel terlalu sedikit).

**Identifikasi Isolat Murni Fraksi Fr 3-1. Spektra Ultra Violet (UV).** Hasil analisis spektra ultra UV memberikan serapan panjang gelombang maksimum pada  $\lambda$  230 nm yang karakteristik untuk gugus kromofor dari suatu alkena (ikatan rangkap dua)

**Spektra Infra Merah (IR).** Hasil analisis spektra infra merah (IR) memberikan bilangan gelombang 3320  $\text{cm}^{-1}$  (gugus hidroksil), 2920  $\text{cm}^{-1}$  (alkena)

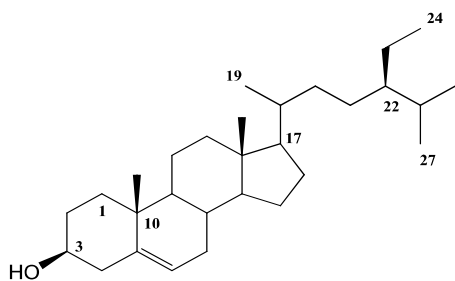
**Spektra Resonansi Magnet Inti (RMI). Spektra RMI Proton.** Spektra RMI proton menunjukkan bahwa pergeseran kimia proton ( $\delta\text{H}$ ) pada daerah medan tinggi terdapat proton yang menunjukkan adanya hidrogen berikatan tunggal ( $\text{CH}$ ,  $\text{CH}_2$ ,  $\text{CH}_3$ ). Pergeseran kimia pada  $\delta\text{H}$  0,67 (s) ; 0,81 (d,  $J = 7,1$  Hz) ; 0,83 (d,  $J = 7,15$  Hz) ; 0,86 (t,  $J = 7,15$  Hz) ; 0,92 (d,  $J = 6,5$  Hz) ; dan 1,01 (s) adalah proton dari gugus metil ( $\text{CH}_3$ ). Pergeseran kimia pada  $\delta\text{H}$  3,5 (d,  $J = 5,2$  ; 4,53 Hz) menunjukkan adanya hidrogen yang berdekatan pada gugus hidroksil dan  $\delta\text{H}$  5,35 (d,  $J = 5,2$  Hz) adalah proton yang berikatan rangkap dua ( $-\text{CH}=\text{}$ ). Pergeseran kimia proton untuk senyawa isolat Fr 3-1 dapat dilihat pada Tabel 3.

**Tabel 3. Tabulasi pergeseran kimia  $^1\text{H}$  dan  $^{13}\text{C}$ -NMR  $\beta$ -Sitosterol dengan isolat Fr 3-1.**

No	$\beta$ -Sitosterol	isolat F2.(15-17)	
	$^1\text{H}$	$^{13}\text{C}$	$^{13}\text{C}$
	$\delta\text{H}$ (ppm) (mult., $\Sigma\text{H}$ , $J$ Hz)	$\delta\text{C}$ (ppm)	$\delta\text{H}$ (ppm) (mult., $\Sigma\text{H}$ , $J$ Hz)
1		37,5	37,43
2		31,9	31,81
3	3,53 (tt, 1H, $J = 4,5$ ; 4,2 ; 3,8 Hz)	72,0	3,52 (t, 1H, $J = 5,2$ ; 4,55 Hz)
4		42,5	42,49
5	5,36 (t, 1H, $J = 6,4$ Hz)	140,9	5,35 (d, 1H, $J = 5,2$ Hz)
6		121,9	121,92
7		32,1	32,11
8		32,1	32,08
9		50,3	50,32
10		36,7	36,69
11		21,3	21,27
12		39,9	39,96
13		42,6	42,50
14		56,9	56,94
15		26,3	26,25
16		28,5	28,43
17		56,3	56,24
18		36,3	36,33
19	0,93 (d, 3H, $J = 6,5$ Hz)	19,2	0,92 (d, 3H, $J = 6,5$ Hz)
20		34,2	33,98
21		26,3	26,25
22		46,1	46,01
23		23,3	23,25
24	0,84 (t, 3H, $J = 7,2$ Hz)	12,2	0,86 (t, 3H, $J = 7,15$ Hz)
25		29,4	29,43
26	0,83 (d, 3H, $J = 6,4$ Hz)	20,1	0,83 (d, 3H, $J = 7,15$ Hz)
27	0,81 (d, 3H, $J = 6,4$ Hz)	19,6	0,81 (d, 3H, $J = 7,1$ Hz)
28	0,68 (s, 3H)	19,0	0,67 (s, 3H)
29	1,01 (s, 3H)	12,0	1,01 (s, 3H)

**Spektra RMI Karbon dan DEPT.** Spektra RMI karbon menunjukkan terdapat 29 atom karbon. Hasil analisis DEPT (*Distirionless Enhancemant by Polaritation Transfer*) memberikan 6 karbon untuk  $\text{CH}_3$ ; 11 karbon untuk  $\text{CH}_2$ ; 9 karbon untuk  $\text{CH}$ ; dan 3 karbon untuk karbon kuartener (C). Dengan

mempbandingkan data pergeseran kimia ( $\delta H$  dan  $\delta C$ ) dengan senyawa pada Literatur<sup>(18)</sup>, maka senyawa isolat Fr.3-1 ditetapkan sebagai  $\beta$ -sitosterol (Gambar 1).



Gambar 1. Struktur Senyawa Kimia  $\beta$ -Sitosterol.

### KESIMPULAN

Hasil isolasi salah satu senyawa kimia dari ekstrak *n*-heksan daun Mimba, *Azadirachta indica* adalah  $\beta$ -sitosterol yang mempunyai daya inhibisi terhadap enzim  $\alpha$ -glukosidase sebesar 2018,1  $\mu\text{g/mL}$ .

### DAFTAR PUSTAKA

- Soerianegara, I. dan R. H. M. J. Lemmens. Plant Resources of South East Asia. Timber Trees: Major Commercial Timbers. Bogor. 1986; 5 (1).
- American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. Diabetes Care; 2012, 35 (1): h 64-71
- Redaksi Agromedia. Ramuan Tradisional untuk Mengatasi Aneka pada Penyakit. Jakarta: Agromedia Pustaka; 2006, h 153-4.
- Kim YM, Jeong YK, Wang MH, Lee WY, and Rhee HI. inhibitory effect of pine extract on alpha- glucosidase activity and postprandial hyperglycemia. Nutrition. 2005; 21:756-61.
- Lee Dong-sun and Lee Sang-Han. Genistein, a Soy Isoflavon, is a Potent  $\alpha$ -Glucosidase Inhibitor. FEBS Letters. 2001; 501, 84-6.
- Li Yuhao, Wen Suping, Prasad, B.K., Peng Gang, Qian G.L., Yamahara Johji and Roufogalis B.D., Punica granatum Flower Extract, a potent  $\alpha$ -Glucosidase Inhibitor, Improves Postprandial Hyperglykemia in Zucker Diabetic Fatty Rats. Etnopharm. 2005; 99: 239-44.
- Ramachandran A, Snehalatha, and Ma RC (2013) Diabetes in South-East Asia: an update for 2013 for the IDF diabetes atlas. Diabetes Res Clin Pract. <http://dx.doi.org/10.1016/j.diabres.2013.11.011> ofiernvjevnejn
- Nirmala A, Saroja S, Vasanthi HR, Lalitha G. Hypoglycemic effect of Basella rubra in streptozotocin induced diabetic albino rats. Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy, 2009; 1: 25-30.
- Susana B. Genta, Wilfredo M. Cabrera, María I. Mercadob, Alfredo Grauc, César A. Catalánb, Sara S. Sáncheza, Hypoglycemic activity of leaf organic extracts from Smallanthus sonchifolius: Constituents of the most active fractions, Chemico-Biological Interactions 185 (2010) 143– 52.
- Kardiman A dan Dhalimi A. "MIMBA (*Azadirachta indica* A.Juss) TANAMAN MULTI MANFAAT". Perkembangan Teknologi TRO Vol. XV, No. 1, 2003
- Sudarsono, Gunawan, D., Wahyuono, S., Donatus, A.I., dan Purnomo, 2002, Tumbuhan Obat II, Hasil Penelitian, Sifat-Sifat, dan Penggunaan, Pusat Studi Obat Tradisional UGM, Yogyakarta.
- Chattopadhyay, R.R. and Bandyopadhyay, M., 2005, Effect of *Azadirachta indica* Leaf Extract on Serum Lipid Profile Changes in Normal and Streptozotocin Induced Diabetic Rats, African Journal of Biomedical Research, vol.8, pp.101-4.
- Biu, A.A., Yusufu, S.D., and Rabo, J.S., 2009, Phytochemical screening of *Azadirachta Indica* (Meliaceae) in Maiduguri, Nigeria, Bioscience Research Communications, vol. 21, pp. 6-10.
- Khan, I., Srikakolupu, S.R., Darsipudi, S., Gotteti, S.D., and Amaranadh, C., 2010, Phytochemical Studies and Screening of Leaves Extracts of *Azadirachta indica* for its anti-microbial Activity Against Dental Pathogens, Science Research, vol. 2, pp.246-50.
- Aslam, F., Khalil-ur-Rehman, Asghar, M., and Sarwar. M., 2009, Antibacterial Activity of Various Phytoconstituents of Neem, Pakistan Journal Agricultural Science, vol 46, pp. 3-6.
- Suirta, I.W, Puspawati, N. M., dan Gumiati, N. K., 2007, Isolasi dan Identifikasi Senyawa Aktif Larvasida dari Biji Mimba *Azadirachta indica* A. Juss terhadap Larva nyamuk Demam Berdarah (*Aedes aegypti*), Jurnal Kimia, vol.1, hal. 47-54.
- Rembold H., 1989. The *Azadirachtins*-their potential for insect control.
- Prakash VS and Prakash I. Isolation of Stigmasterol and  $\beta$ -sitosterol from the dichloromethane extract of *Rubus suavissimus*. Intern. Current Pharm. Journal 2012., 1 (9), p. 29-242.