

UJI AKTIVITAS PENGHAMBATAN ENZIM α -GLUKOSIDASE EKSTRAK BUAH KENITU (*Chrysophyllum cainito* L.)

Indah Yulia Ningsih, Liza Fairuz, Endah Puspitasari, Siti Muslichah, Moch. Amrun
Hidayat
Fakultas Farmasi, Universitas Jember
Email: indahyulianingsih.farmasi@unej.ac.id

Abstrak

Chrysophyllum cainito L., atau kenitu mengandung beberapa senyawa polifenol yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan. Tanaman ini digunakan secara tradisional dalam pengobatan diabetes mellitus dan inflamasi yang berkaitan dengan laryngitis dan pneumonia. Tiga tipe buah kenitu diekstraksi dengan menggunakan pelarut etanol 70%. Seluruh ekstrak diuji aktivitasnya sebagai antidiabetes, serta dilakukan penentuan fenol total dan penentuan flavonoid total. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak buah kenitu hijau lonjong memiliki aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase yang tertinggi ($P < 0,05$). Ekstrak tersebut juga memiliki kandungan jumlah fenol total dan flavonoid total yang tertinggi ($P < 0,05$).

Kata Kunci: kenitu, *Chrysophyllum cainito* L., ekstrak, diabetes mellitus.

I. PENDAHULUAN

Diabetes mellitus adalah gangguan metabolisme karbohidrat, lemak dan protein yang menjangkiti sebagian besar populasi dunia. Indonesia merupakan negara yang menempati urutan keempat dengan jumlah penderita diabetes terbesar di dunia setelah India, Cina dan Amerika Serikat. Pada tahun 2000 sekitar 8,4 juta jiwa penduduk di Indonesia menderita diabetes dan jumlah tersebut diperkirakan terus meningkat hingga 21,3 juta jiwa pada tahun 2030 (Wild *et al.*, 2004).

Salah satu alternatif pengobatan diabetes adalah dengan menggunakan berbagai tumbuhan terutama yang mengandung senyawa polifenol, termasuk flavonoid. Senyawa ini bersifat antioksidan dan mampu melindungi sel β pankreas dari reaksi peroksidasi berantai yang disebabkan oleh *Reactive Oxygen Species* (ROS) (Patel *et al.*, 2012). Selain bersifat antioksidan, senyawa polifenol juga memiliki kemampuan mengikat protein sehingga dapat menghambat enzim pengurai karbohidrat seperti α -glukosidase yang berkontribusi terhadap hiperglikemia post prandial (Griffiths & Moseley, 1980). Polifenol dalam berbagai tumbuhan seperti teh hijau, buah beri dan ketela rambat

diketahui menghambat enzim pengurai karbohidrat seperti: sukrase, α -amilase dan α -glukosidase (Hara & Honda, 1992; Matsui *et al.*, 2001; McDougall & Stewart, 2005). Karenanya, pencarian senyawa yang dapat menghambat enzim α -amilase atau α -glukosidase usus menjadi salah satu pendekatan dalam pengembangan obat antidiabetes baru (Soumyanath & Srijayanta, 2006).

Buah kenitu (*Chrysophyllum cainito* L., suku Sapotaceae) atau *star apple* adalah buah yang berasal dari Amerika Tengah dan banyak tumbuh di Indonesia. Buah kenitu diketahui mengandung berbagai polifenol antioksidan seperti: katekin, epikatekin, galokatekin, epigalokatekin, kuersetin, kuersitrin, isokuersitrin, mirisitrin, dan asam galat (Luo *et al.*, 2002). Selain itu, buah kenitu mengandung senyawa antioksidan antosianin, yaitu sianidin-3-O- β -glukopiranosida (Einbond *et al.*, 2004). Pada penelitian sebelumnya telah dilakukan uji aktivitas antioksidan tiga varian buah kenitu yang tumbuh di daerah Jember, Jawa Timur. Ekstrak air, ekstrak metanol dan fraksi etil asetat buah kenitu Jember menunjukkan aktivitas antioksidan terhadap radikal bebas 1,1-difenil-2-pikril hidrazil (DPPH) (Hidayat & Umiyah, 2005; Hidayat & Ulfa, 2006; Amrun *et al.*, 2007).

Di berbagai daerah di Amerika (Hawai, Miami, Kuba) dan Afrika (Abidjan-Pantai Gading), buah dan daun kenitu dimanfaatkan dalam pengobatan tradisional diabetes (Morton, 1987; Koffi *et al.*, 2009). Namun, sejauh ini belum terdapat publikasi tentang aktivitas antidiabetes kenitudengan mekanisme hambatan enzim pengurai karbohidrat, seperti α -glukosidase. Penelitian ini bertujuan untuk menguji aktivitas hambatan α -glukosidase, menentukan jumlah fenol total dan flavonoid total dari ekstrak etanol 70% berbagai tipe buah kenitu, yaitu bulat besar (BB), bulat kecil (BK), dan hijau lonjong (HL).

II. METODE PENELITIAN

A. Bahan Penelitian

Buah kenitu diperoleh dari Jember, Jawa Timur pada bulan Maret-April 2014. Seluruh sampel telah dideterminasi di Kebun Raya Purwodadi, Jawa Timur (LIPI). Buah matang yang telah dicuci bersih dan dikukus selama 10 menit, dibelah, daging buahnya dikerok dan dihaluskan. α -glukosidase, *p*-Nitrophenyl- α -D-glukopirano,

kuersetin dan asam galat diperoleh dari Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA), etanol, reagen Folin-Ciocalteu, Na₂CO₃, dan AlCl₃.5H₂O diperoleh dari Merck (Darmstadt, Germany).

B. Preparasi Ekstrak

Ekstrak etanol 70% dibuat dengan metode ultrasonifikasi selama 2 jam dan pemekatan menggunakan *rotavapor*. Selanjutnya ekstrak dibuat larutan uji dengan rentang kadar 10-100 ppm.

C. Uji Aktivitas Penghambatan α -glukosidase

Uji aktivitas antidiabetes dilakukan menurut metode Moradi-Afrapoli *et al.* (2012). Pada penelitian ini digunakan 20 μ L α -glukosidase (0,5 unit/mL) dan 120 μ L 0,1 M dapar fosfat pH 6,9. Sebagai substrat digunakan *p*-nitrophenyl- α -D-glukopiranosida 5 mM dalam dapar yang sama. Sebanyak 10 μ L ekstrak uji dalam berbagai konsentrasi dilarutkan dalam DMSO, dicampur dengan larutan enzim dalam sumuran dan diinkubasi pada 37 °C selama 15 menit. Kemudian ditambahkan 20 μ L larutan substrat dan diinkubasi lagi pada 37 °C selama 15 menit. Reaksi enzimatis dihentikan dengan penambahan 80 μ L larutan natrium karbonat 0,2 M. Absorban larutan uji dalam sumuran dibaca pada 405 nm di *microplate reader*. Sebagai blanko digunakan campuran dalam sumuran tanpa enzim α -glukosidase. Pengujian dilakukan sebanyak tiga kali replikasi. Besarnya hambatan enzim oleh sampel uji dinyatakan dengan rumus berikut:

$$\% \text{ hambatan} = [(Abs_{\text{kontrol}} - Abs_{\text{sampel}}) / Abs_{\text{kontrol}}] \times 100\%$$

Selanjutnya dihitung nilai IC₅₀ sampel, yakni konsentrasi sampel yang menghambat 50% enzim.

D. Penentuan Fenol Total

Penentuan kandungan fenol total dilakukan dengan menggunakan metode Folin-Ciocalteu dengan sedikit modifikasi (Wolfe *et al.*, 2003). Sebanyak 0,5 mL ekstrak uji (1:10 g/L) dicampur dengan 5 mL reagen Folin-Ciocalteu (1:10 v/v air) dan 4 mL natrium karbonat (75 g/L air). Kemudian campuran dikocok selama 15 detik dan didiamkan pada 40°C selama 30 menit hingga warnanya berubah. Selanjutnya, absorban

campuran dibaca pada spektrofotometer pada 765 nm. Kandungan fenol total dinyatakan dalam mg/g ekivalen asam galat.

E. Penentuan Flavonoid Total

Penentuan kandungan flavonoid total di dalam ekstrak uji menggunakan metode Ordonez *et al.* (2006). Sebanyak 0,5 mL ekstrak uji (1:10 g/L) dicampur dengan 0,5 mL reagen AlCl_3 (2% v/v etanol) dan didiamkan selama 60 menit. Perubahan warna campuran menjadi kuning menunjukkan adanya flavonoid. Selanjutnya absorban campuran dibaca di spektrofotometer pada 420 nm. Kandungan flavonoid total dinyatakan dalam mg/g ekivalen kuersetin.

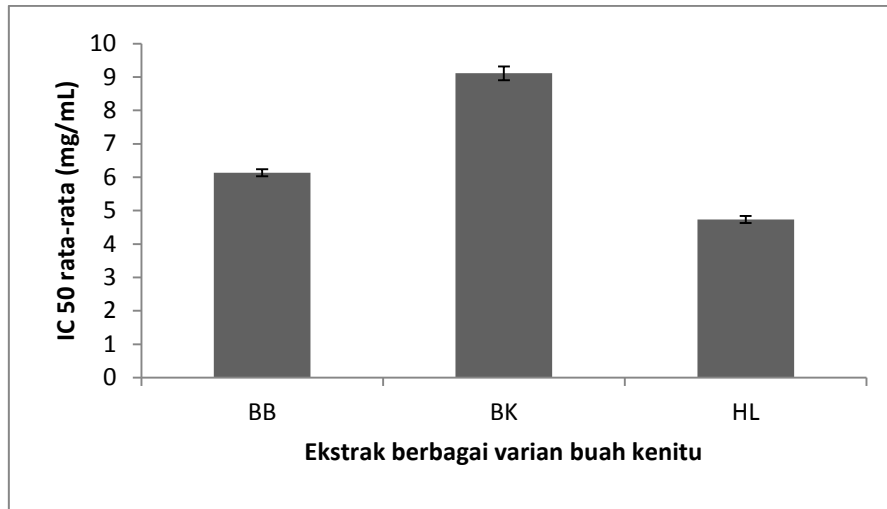
F. Analisis Statistik

Data yang diperoleh pada penelitian ini dinyatakan dengan rata-rata \pm standar deviasi dari tiga kali replikasi pengujian. Uji analisis keragaman satu arah (*One Way ANOVA*) dengan metode *Least Significance Different* (LSD) dilakukan untuk mengetahui adanya perbedaan yang signifikan diantara sampel. Harga $P < 0,05$ menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan ($\alpha = 0,05$). Analisis ini dilakukan dengan menggunakan *software SPSS 10 for Windows*.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji Aktivitas Penghambatan α -glukosidase

Aktivitas penghambatan α -glukosidase bermanfaat dalam mengatasi hiperglikemia pada pasien diabetes mellitus dengan cara mengurangi jumlah monosakarida yang dapat diserap oleh usus (Febrinda *et al.*, 2013). Uji hambatan α -glukosidase pada penelitian ini dilakukan menurut metode Moradi-Afrapoli *et al.* (2012). Penentuan harga IC_{50} dilakukan berdasarkan kurva dosis-respon (tidak dicantumkan). Dari analisis statistik yang telah dilakukan, diketahui bahwa seluruh ekstrak yang diuji menghambat α -glukosidase secara signifikan ($P < 0,05$). Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak buah kenitu hijau lonjong merupakan inhibitor α -glukosidase paling poten dibandingkan ekstrak dari varian lainnya berdasarkan harga IC_{50} yang paling rendah, yaitu sebesar $4,7346 \pm 0,1073$ mg/mL. Sedangkan harga IC_{50} ekstrak buah kenitu bulat besar sebesar $6,1328 \pm 0,1031$ mg/mL dan buah kenitu bulat kecil sebesar $9,110 \pm 0,2029$ mg/mL. Perbandingan harga IC_{50} dari ketiga ekstrak tersebut tercantum pada Gambar 1.



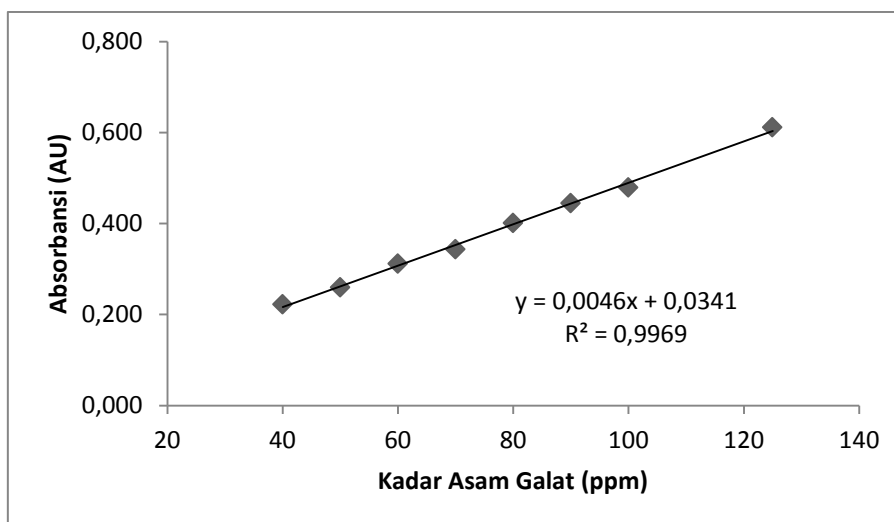
Gambar 1. Perbandingan harga IC₅₀ ekstrak etanol 70% dari berbagai varian buah kenitu.

Salehi *et al.* (2013) melaporkan bahwa ekstrak metanol *Portulaca oleracea* menunjukkan aktivitas penghambatan α -glukosidase yang rendah dengan harga IC₅₀ sebesar 93,2±0,8 μ g/mL. Gao *et al.* (2013) menyatakan bahwa ekstrak teh hijau, senyawa polifenol teh hijau, dan *epigallocatechin gallate* (EGCG) memiliki aktivitas inhibisi terhadap α -amilase yang rendah dibandingkan dengan inhibisinya terhadap α -glukosidase. Hal tersebut ditunjukkan dengan harga IC₅₀ ekstrak teh hijau sebesar 4020,157 ± 172,363 μ g/mL, senyawa polifenol teh hijau sebesar 1370,812 ± 59,081 μ g/mL dan EGCG sebesar 1849,612 ± 73,475 μ g/mL. Karenanya, dapat diketahui bahwa ekstrak etanol 70% buah kenitu memiliki aktivitas inhibisi α -glukosidase yang relatif rendah. Berdasarkan hasil tersebut, maka disarankan dilakukan fraksinasi lebih lanjut untuk memperoleh fraksi dengan kandungan polifenol dan flavonoid lebih tinggi.

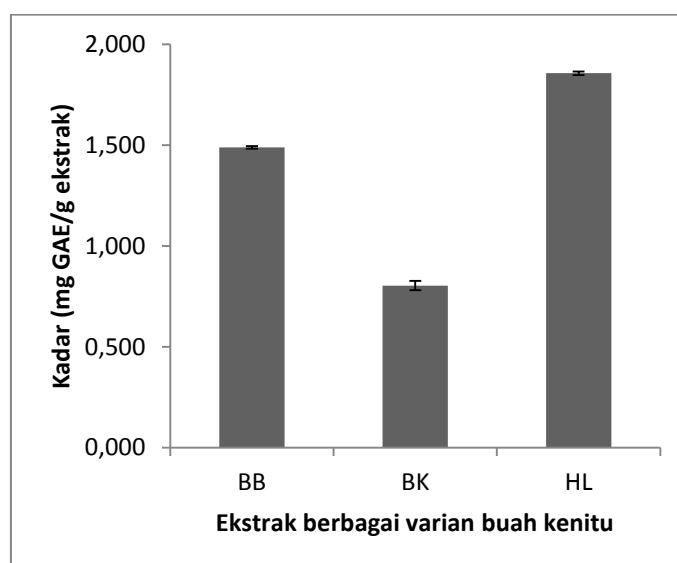
Penentuan Fenol Total

Penentuan kandungan fenol total di dalam ekstrak uji menggunakan metode Folin-Ciocalteu dengan sedikit modifikasi (Wolfe *et al.*, 2003). Metode tersebut berdasarkan kekuatan gugus hidroksi fenolik dalam melakukan reduksi. Adanya inti aromatis pada senyawa fenolik, termasuk fenol sederhana dapat mereduksi fosfomolibdat fosfotungstat menjadi molibdenum yang berwarna biru (Febrinda *et al.*, 2013). Kurva baku standar asam galat dengan pereaksi Folin-Ciocalteu dapat dilihat pada Gambar 2. Ekstrak buah kenitu hijau lonjong mengandung fenol total dalam jumlah yang tertinggi, yaitu

1,8556±0,0087 mg GAE/g ekstrak. Sedangkan kandungan fenol total dari ekstrak buah kenitu bulat besar sebesar 1,4875±0,0232 mg GAE/g ekstrak, dan ekstrak buah kenitu bulat kecil sebesar 0,8028±0,0064 mg GAE/g ekstrak (Gambar 3). Dari analisis statistik diketahui bahwa kandungan fenol total dari seluruh ekstrak yang diuji adalah berbeda secara signifikan ($P<0,05$).



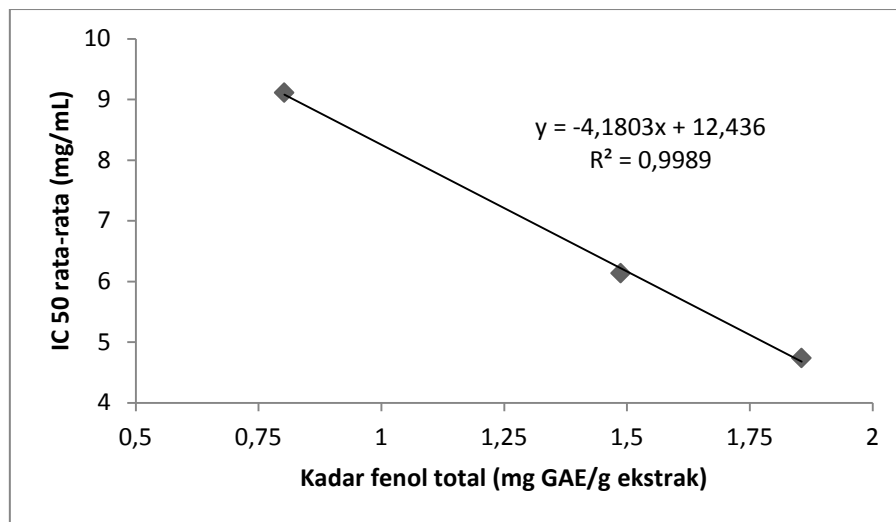
Gambar 2. Kurva baku asam galat untuk penetapan kadar polifenol total.



Gambar 3. Kadar polifenol total ekstrak etanol 70% berbagai varian buah kenitu.

Uji korelasi antara kadar fenol total dan IC_{50} dari ekstrak berbagai varian buah kenitu menunjukkan harga koefisien korelasi (R^2) sebesar 0,998 (Gambar 4). Hasil tersebut menunjukkan bahwa aktivitas penghambatan α -glukosidase dari ekstrak yang diuji dipengaruhi oleh kadar fenol totalnya (Javanmardi *et al.*, 2003). Karenanya, kadar fenol

total dari ekstrak buah kenitu hijau lonjong yang tinggi kemungkinan berpengaruh pada tingginya aktivitas inhibisi α -glukosidase yang menggambarkan aktivitas antidiabetes dari ekstrak tersebut. Hal tersebut didukung oleh penelitian sebelumnya, misalnya pada penelitian yang dilakukan oleh Bello *et al.* (2011) diketahui bahwa ekstrak metanol *Leptadenia hastata* memiliki kandungan polifenol lebih tinggi dibandingkan ekstrak air, sehingga aktivitas inhibisi α -glukosidase dari ekstrak metanol lebih besar dibandingkan ekstrak air, yaitu sebesar 69,81%. Matsui *et al.* (2001) dan McDougall & Steward (2005) melaporkan bahwa senyawa polifenol pada *sweet potato* dan beri merupakan inhibitor α -glukosidase dengan efektivitas yang tinggi, sehingga dapat digunakan untuk mengontrol diabetes mellitus tipe 2.

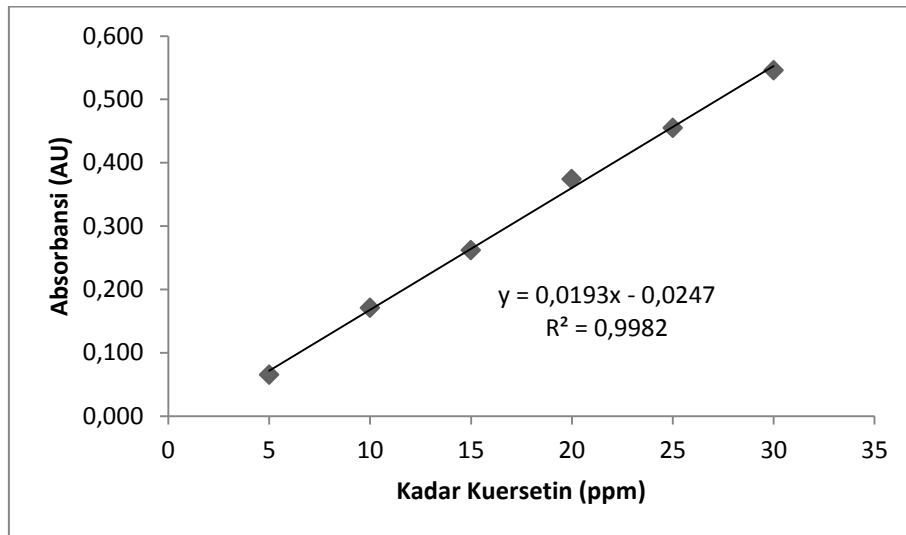


Gambar 4. Korelasi linier antara kadar fenol total (x) dan IC₅₀ rata-rata (y) dari berbagai varian buah kenitu.

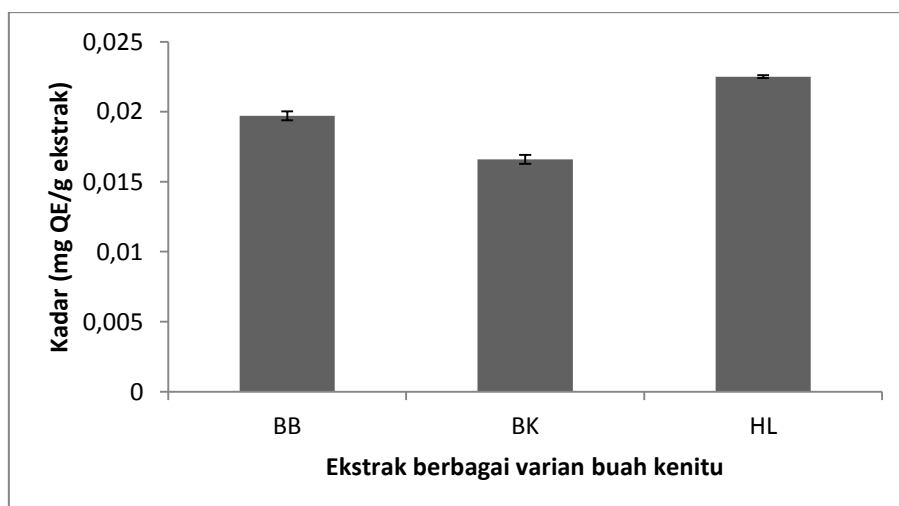
Penentuan Flavonoid Total

Penentuan kandungan flavonoid total pada ekstrak uji menggunakan metode Ordonez *et al.* (2006). Kurva baku standar kuersetin dengan reagen AlCl₃ dapat dilihat pada Gambar 5. Dari penelitian yang telah dilakukan diketahui bahwa ekstrak buah kenitu hijau lonjong memiliki jumlah flavonoid total paling tinggi, yaitu 0,0225±0,0001 mg QE/g ekstrak. Sedangkan kandungan flavonoid total dari ekstrak buah kenitu bulat besar sebesar 0,0197±0,0003 mg QE/g ekstrak dan ekstrak buah kenitu bulat kecil sebesar 0,0166±0,0003 mg QE/g ekstrak. Berdasarkan analisis statistik diketahui bahwa

kandungan flavonoid total dari seluruh ekstrak yang diuji adalah berbeda secara signifikan ($P < 0,05$). Perbandingan kandungan flavonoid total pada buah kenitu dapat dilihat pada Gambar 6.



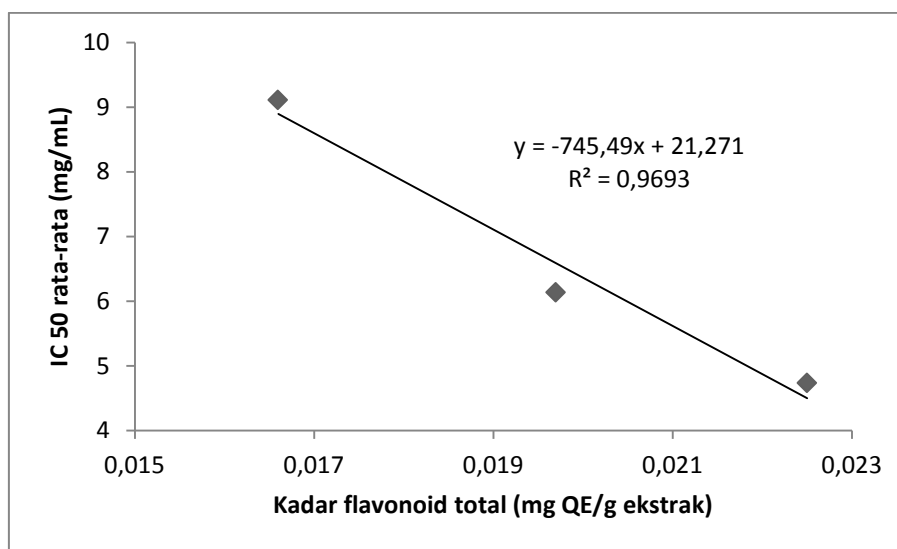
Gambar 5. Kurva baku kuersetin untuk penetapan kadar flavonoid total.



Gambar 6. Kadar flavonoid total ekstrak etanol 70% berbagai varian buah kenitu.

Berdasarkan hasil uji korelasi antara kadar flavonoid total dan IC_{50} dari ekstrak berbagai varian buah kenitu diperoleh harga koefisien korelasi sebesar 0,969 yang mengindikasikan adanya pengaruh kadar flavonoid total terhadap aktivitas inhibisi α -glukosidase (Gambar 7) (Javanmardi *et al.*, 2003). Oleh karena itu, aktivitas inhibisi α -glukosidase ekstrak buah kenitu hijau lonjong yang tinggi kemungkinan dipengaruhi

oleh tingginya kadar flavonoid total dari ekstrak tersebut. Hasil tersebut sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Chai *et al.* (2014) terhadap ekstrak buah, bunga jantan dan bunga betina dari *Typha domingensis* dimana ekstrak buah memiliki kandungan polifenol dan flavonoid tertinggi yang berpengaruh pada tingginya aktivitas penghambatan α -glukosidase (harga EC_{50} sebesar 0,75 mg DM/mL). Gulati *et al.* (2012) melaporkan bahwa ekstrak *Pterocarpus marsupium* memiliki aktivitas penghambatan α -glukosidase tertinggi (harga IC_{50} sebesar 1,06 μ g/mL) yang berkaitan dengan tingginya jumlah fenolik total dan flavonoid total dari ekstrak tanaman tersebut dibandingkan dengan tanaman lain.



Gambar 7. Korelasi linier antara kadar flavonoid total (x) dan IC_{50} rata-rata (y) dari berbagai varian buah kenitu.

IV. KESIMPULAN

Dari penelitian ini dapat diketahui bahwa ekstrak etanol 70% buah kenitu hijau lonjong memiliki aktivitas antidiabetes melalui inhibisi α -glukosidase yang paling tinggi dibandingkan ekstrak dari varian buah kenitu lainnya. Hasil penelitian ini juga menunjukkan bahwa kemungkinan tingginya aktivitas inhibisi α -glukosidase tersebut dikarenakan ekstrak buah kenitu hijau lonjong mengandung jumlah fenol total dan flavonoid total paling tinggi.

DAFTAR PUSTAKA

- Amrun, H.M., Umiyah, Umayah U.E., 2007, Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Air dan Ekstrak Metanol Beberapa Varian Buah Kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.) dari Daerah Jember, Berkala Penelitian Hayati, 13: 45-50.
- Bello, A., Aliero, A.A., Saidu, Y., Muhammad, S., 2011, Phytochemical Screening, Polyphenolic Content and Alpha-Glucosidase Inhibitory Potential of *Leptadenia hastate* (Pers.) Decne, Nigerian Journal of Basic and Applied Science, 19 (2): 181-186.
- Chai, T., Mohan, M., Ong, H., Wong, F., 2014, Antioxidant, Iron-chelating and Anti-glucosidase Activities of *Typha domingensis* Pers (Typhaceae), Tropical Journal of Pharmaceutical Research, 13 (1): 67-72.
- Chithrani, B., Chan, W., 2007, Elucidating the Mechanism of Cellular Uptake and Removal of Protein-coated Gold Nanoparticles of Different Size and Shapes, Nano Lett., 7:1542-50.
- De Leo, F., De Bosco, S., F., 2005, Citrus Flavonoids as Bioactive Compounds: Role, Bioavailability, Socio-economic Impact and Biotechnological Approach For Their Modification, 9th ICABR International Conference on Agricultural Biotechnology: Ten Years Later, Rovello, Italy.
- Einbond, L.S., Reynertson, K.A., Luo, X-D., Basile, M.J., Kennelly, E.J., 2004, Anthocyanin Antioxidants from Edible Fruits, Food Chemistry, 84: 23-28.
- Febrinda, A.E., Astawan, M., Wresdiyati, T., Yuliana, N.D., 2013, Kapasitas Antioksidan dan Inhibitor Alfa Glukosidase Ekstrak Umbi Bawang Dayak, J. Teknol. dan Industri Pangan, 24 (2): 161-167.
- Gao, J., Xu, Ping, Wang, Y., Wang, Y, Hochstetter, D., 2013, Combined Effects of Green Tea Extracts, Green Tea Polyphenols or Epigallocatechin Gallate with Acarbose on Inhibition against α -Amylase and α -Glucosidase In Vitro, Molecules, 18: 11614-11623.
- Gopalakrishnan, A., Xu, C., J., Nair, S., S., Chen, C., Hebbar, V., Kong, A., N., 2006, Modulation of Activator Protein-1 (AP-1) and MAPK Pathway by Flavonoids in Human Prostate Cancer PC3 Cells, Arch. Pharmacol. Res., 29, 633-644.
- Griffiths, D.W., Moseley, G., 1980, The Effect of Diets Containing Field Beans of High or Low Polyphenolic Content on the Activity of Digestive Enzymes in the Intestines of Rats, J. Sci. Food Agric., 31: 255-259.

- Gulati, V., Harding, I.H., Palombo, E.A., 2012, Enzyme Inhibitory and Antioxidant Activities of Traditional Medicinal Plants: Potential Application in the Management of Hyperglycemia, *BMC Complementary & Alternative Medicine*, 12: 1-9.
- Hara, Y., Honda, M., 1992, Inhibition of Rat Small Intestinal Sucrose and Alpha-glucosidase Activities by Tea Polyphenols, *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 57: 123-124.
- Hidayat, M.A., Ulfa, E.U., 2006, Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat Buah Kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.) dari Daerah Jember, *Spirulina*, 1 (1): 79-88.
- Hidayat, M.A., Umiyah, 2005, Pengujian Antiradikal Bebas Difenilpikril Hidrazil (DPPH) Ekstrak Buah Kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.) dari Daerah Sekitar Jember, *Jurnal Ilmu Dasar*, 1411-5735.
- Javanmardi, J., Stushnoff, C., Locke E., Vivanco, J.M., 2003, Antioxidant Activity and Total Phenolic Content of Iranian *Ocimum* Accessions, *J.Food Chemistry*, 83: 574-550.
- Koffi, N., Ernest, A.K., Marie-Solange, T., Beugré, K., Noël, Z.G., 2009, Effect of Aqueous Extract of *Chrysophyllum cainito* Leaves on the Glycaemia of Diabetic Rabbits. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 3 (10): 501-506.
- Luo, X.D., Basile, M.J., Kennely, E.J., 2002, Polyphenolic Antioxidants from *Chrysophyllum cainito* L. (Star Apple), *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50 (6): 1379-1382.
- Matsui, T., Ueda, T., Oki, T., Sugita, K., Terahara, N. Matsumoto, K., 2001, Alpha-glucosidase Inhibitory Action of Natural Acylated Anthosyanins. Survey of Natural Pigments with Potent Inhibitory Activity, *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 49: 1948-1951.
- McDougall, G.J., Stewart, D., 2005, The Inhibitory Effect of Berry Polyphenols on Digestive Enzymes, *Biofactors*, 23: 189-195.
- Moradi-Afrapoli, F., Asghari, B., Saeidnia, S., 2012, In Vitro α -glucosidase Inhibitory Activity of Phenolic Constituents from Aerial Parts of *Polygonum hyrcanicum*, *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences*, 20: 37.
- Morton, J., 1987, Star Apple, in : Morton, J., *Fruits of Warm Climates*, Miami Florida, 408-410.
- Ordonez, A.A., Gomez, J.G., Vattuone, M.A. Isla, M.I., 2006, Antioxidant Activities of *Sechium edule* Swart Extracts, *Food Chemistry*, 97: 452-458.

- Patel, D.K., Kumar, R., Laloo, D., Hemalatha, S., 2012, Diabetes mellitus: An Overview on Its Pharmacological Aspects and Reported Medicinal Plants Having Antidiabetic Activity, *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 411-420.
- Salehi, P., Asghari, B., Esmali, M.A., Dehghan, H., Ghazi, I., 2013, α -Glucosidase and α -amylase Inhibitory Effect and Antioxidant Activity of Ten Plant Extracts Traditionally Used in Iran for Diabetes, *Journal of Medicinal Plants Research*. 7 (6): 257-266.
- Soumyanath, A., Sriyayanta, S., 2006, In Vitro Models for Assessing Antidiabetic Activity, in: Soumyanath, A.(Ed.), *Traditional Medicines for Modern Times: Antidiabetic Plants*, USA: CRC Press, Taylor & Francis Group, 99-116.
- Wild, S., Roglic, G., Green, A., Sicree, R., King, H., 2004, Global Prevalence of Diabetes-Estimates for the Year 2000 and Projections for 2030, *Diabetes Care*, 27: 1047–1053.
- Wolfe, K., Wu, X., Liu, R.H., 2003, Antioxidant Activity of Apple Peels, *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 51:609-614.